

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTÉ DE MÉDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMSEN



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

Salvia Chudaei Batt. & Trab. du Hoggar :
Étude phytochimique préliminaire.

Présenté par :

M^{elle} BOUZAR Rabia
M^{me} NEHARI Wafaa

Soutenu le 11 / 07 / 2019

Le Jury

Président :

Pr HAREK Y.

Professeur à la faculté des sciences

Membres :

Dr KAZI TANI C.

Maître de conférences à la faculté de médecine

Dr TABTI M.

Maître assistant à la faculté de médecine

Encadrant :

Dr DALI-YAHIA M. K.

Maître de conférences à la faculté de médecine

Co-encadrant :

Dr HELALIA.

Maître assistante à la faculté de médecine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, qui m'ont soutenu et encouragé durant ce parcours

À mes très chers sœurs et frères

À tous mes amis

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Rabia.

Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes :

À mon père Abdallah,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour ses sacrifices et ses précieux conseils.

J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

À ma mère Nadjat,

Pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

À mon cher mari Ahmed, qui m'a toujours encouragé et qui a été compréhensif et patient.

À ma seule sœur Imane, pour leur soutien moral et ses encouragements.

À mes chers frères Amine et Abdelkarim.

Et

À toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont apporté leur aide.

Wafaa.

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Docteur DALI-YAHIA Mustapha Kamel maître de conférences à la faculté de médecine Tlemcen, Pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche et pour la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à remercier vivement notre co-encadrant Docteur Amal HELALI maître assistante en Pharmacognosie pour son soutien, son encouragement, son orientation, ces précieux conseils, et son aide durant la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier sincèrement les membres de jury : Pr Y. HAREK, Dr C. KAZI TANI, et Dr M. TABTI pour leurs temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail et d'avoir aimablement accepté de présider ce jury.

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	V
Glossaire des termes scientifiques.....	VI
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VII
Introduction.....	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Étude botanique de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	2
I. 1. Famille des Lamiaceae.....	2
I. 1. 1. Répartition géographique.....	4
I. 1. 2. Caractères botaniques généraux.....	5
I. 1. 2. 1. Caractères macroscopiques.....	5
I. 1. 2. 2. Caractères microscopiques généraux.....	7
I. 2. Le genre <i>Salvia</i>	8
I. 2. 1. Répartition géographique.....	9
I. 2. 2. Caractères botaniques généraux.....	10
I. 1. 2. 1. Caractères macroscopiques.....	10
I. 1. 2. 2. Caractères microscopiques généraux.....	11
I. 3. L'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	13
I. 3. 1. Classification phylogénétique selon APG III	13
I. 3. 2. Répartition géographique.....	13
I. 3. 3. Caractères botaniques généraux.....	14
I. 3. 3. 1. Caractères macroscopiques.....	14
I. 3. 3. 2. Caractères microscopiques généraux.....	16
Chapitre II : Étude phytochimie de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	17
II. 1. Phytochimie des Lamiaceae.....	17
II.1. 1. Composés phénoliques et polyphénols.....	17

II.1. 2. Terpénoïdes.....	20
II. 2. Phytochimie de genre <i>Salvia</i>	28
II. 2. 1. Composés phénoliques et polyphénols.....	28
II. 2. 2. Terpénoïdes non volatils.....	32
II. 3. Phytochimie de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	41
Chapitre III : Données sur l'usage thérapeutique de <i>Salvia Chudaei</i>	42
III.1. Plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae.....	42
III.2. Pharmacologie du genre <i>Salvia</i>	43
III.3. Usages traditionnels de <i>Salvia Chudaei</i>	45
Chapitre IV : Rappels sur la technique de UPLC-MS	46
IV. 1. La chromatographie liquide LC.....	46
IV. 2. La spectrométrie de masse.....	47
IV. 3. Technique de couplage avec la chromatographie en phase liquide.....	47
Deuxième partie : Étude pratique (expérimentale)	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	49
I. 1. Matériel végétal.....	49
I. 1. 1. Critères de choix de la plante collectée.....	49
I. 1. 2. Conditions d'échantillonnage de la plante collectée.....	49
I. 1. 2. 1. Identification botanique de l'espèce étudiée.....	49
I. 1. 2. 2. Protocole de collecte.....	50
I. 1. 2. 3. Zone de collecte.....	50
I. 1. 2. 4. Période de collecte.....	51
I. 1. 3. Séchage de l'échantillon végétal.....	52
I. 2. Préparation des échantillons pour les coupes histologiques.....	52
I. 2. 1. Coloration.....	52

I.2. 2. Technique d'observation des caractères microscopiques des coupes histologiques.....	52
I. 3. Préparation des poudres végétales.....	52
I. 3. 1. Broyage.....	52
I.3. 2. Technique d'observation des caractères microscopiques des poudres végétales.....	52
I. 4. Analyse physicochimique.....	53
I. 4. 1. Screening phytochimique.....	53
I. 4. 1. 1. Préparation des extraits.....	53
I. 4. 1. 2. Protocole	53
I.4. 2. Analyse par chromatographie sur couche mince.....	56
I. 4. 2. 1. Préparation des extraits.....	56
I. 4. 2. 2. Principe.....	56
I. 4. 2. 3. Protocole.....	56
I. 4. 2. 4. Principaux réactifs utilisés pour la révélation des chromatogrammes.....	58
I. 5. Analyse par UPLC-MS.....	60
I. 5. 1. Préparation des extraits	60
I. 5. 2. Principe.....	60
I. 5. 3. Protocole.....	60
Chapitre II : Résultats et Interprétations.....	62
II. 1. Résultats de l'analyse microscopique.....	62
II. 2. Résultats du screening phytochimique préliminaire.....	68
II. 3. Résultats de la chromatographie sur couche mince.....	69
II. 4. Résultats d'UPLC-MS.....	72
Chapitre III : Discussion.....	76
III. 1. Discussions des résultats de l'analyse microscopique.....	76
III. 2. Discussion des résultats de l'étude phytochimique préliminaire.....	77

Conclusion	81
Références Bibliographiques	82
Annexes	
Annexe 1 : Diagnose de l'espèce collectée selon les flores d'Ozenda et de Quezel & Santa.....	89
A. 1. 1. Détermination de la famille Lamiaceae (Martinov, 1820).....	89
A. 1. 2. Détermination du genre <i>Salvia</i> L.....	89
A. 1. 3. Détermination de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i> Batt & Trab.....	89
Annexe 2 : Monographie simplifiée la plante étudiée <i>Salvia Chudaei</i>	90
Annexe 3 : Dessins des coupes transversales et des poudres de différentes parties aériennes de <i>Salvia Chudaei</i>	91
Annexe 4 : Les Résultats de Chromatographie sur couche mince.....	96
Annexe 5 : Chromatogrammes UPLC-MS.....	99
Annexe 6 : Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masses ESI.....	101
Annexe 7 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics observés sur les chromatogrammes UPLC-MS.....	102
Annexe 8 : Autorisation de l'ONPCA (ex. OPNA) pour le prélèvement d'échantillons de plantes.....	104
Annexe 9 : Répartition géographique de <i>Salvia Chudaei</i> , espèce caractéristique de la souche endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes.....	105
Résumé	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ac	: Acide
AcOEt	: Acétate d'éthyle
APCI	: Atmospheric pressure chemical ionisation
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
cm	: Centimètre
g	: Gramme
HSV	: virus herpès simplex
HIV	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
m/z	: Rapport masse sur charge
MeOH	: Méthanol
min	: Minute
ml	: Millilitre
P/V	: poids sur volume
PCA	: Parc Culturel de l'Ahaggar
ppm	: Partie par million
R_f	: Rapport frontal = Distance parcourue par la substance/Distance parcourue par le front de l'éluant.
spp	: Espèce
UPLC-MS	: Ultra Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry
VSV	: Virus de la stomatite vésiculaire

GLOSSAIRE DES TERMES SCIENTIFIQUES

Adduit	: En spectrométrie de masse, l'ionisation d'une molécule.
Aérophagie	: Trouble caractérisé par la pénétration d'air dans l'œsophage et l'estomac.
Androcée	: Ensemble des étamines d'une fleur.
Capité	: Le stigmate est souvent divisé en lobes ; il peut ressembler à une tête d'épingle.
Carminatif	: Favorise l'expulsion des gaz intestinaux, tout en réduisant leur production.
Clade	:(Du grec clados, qui signifie « branche ») est un groupe.
Crénelé	: Un bord avec de petites dents arrondies.
Cuticule	: La cuticule (du latin cuticula « petite peau ») est la couche externe qui recouvre et protège les organes aériens des végétaux
Décussées	: Disposées par paires opposées dont les axes centraux se croisent à angle droit d'un nœud tout le long de la tige.
Diacytique	: Stomate accompagné par deux cellules annexes dont les parois communes font un angle droit avec les cellules de garde des stomates.
Diaphorétique	: Qui favorise la diaphorèse par augmentation de la transpiration.
Didyname	: Pour les fleurs, un androcée à quatre étamines dont deux étamines sont plus longues que les deux autres.
Fascicule	: Groupe d'organes (feuilles, racines...) attaché par la base et par groupe de trois unités au minimum, sur un même support.
Flabelliforme	: Du latin flabellum « éventail » et de forma « forme ».
Glomérule	: Inflorescence d'aspect globuleux et dense formée par la juxtaposition de nombreuses fleurs sessiles ou à axes très courts, fixées au même niveau comme pour la cyme.
Gynobasique	: Un style qui s'insère à la base des carpelles au lieu de les surmonter. C'est le cas chez la plupart des Lamiacées.
Mésophylle	: La partie interne d'une feuille. Constitué de parenchyme chlorophyllien (chlorenchyme).
Octocellulaire	: Du latin octo « huit » c'est-à-dire avec huit cellules.
Pennée	: Feuille dont les nervures ou les folioles sont disposées comme les barbes d'une plume.
Port	: L'aspect général et le mode de croissance d'une plante.
Stomate	: Orifice de petite taille présent dans l'épiderme des organes.
Tétrakène	: Mot dérivé d'akène avec le préfixe tétra signifié quatre.
Vermifuge	: Ou anthelminthique, est un traitement qui a la propriété de détruire ou d'expulser les vers intestinaux.
Zygomorphe	: Se dit des fleurs qui ont un seul plan de symétrie.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Les sous-familles des Lamiaceae.....	4
Tableau 2	La position du genre <i>Salvia</i> selon la classification de Cronquist 1981.....	8
Tableau 3	La position du genre <i>Salvia</i> selon APG III 2009.....	8
Tableau 4	Quelques acides phénoliques présents chez les Lamiacées.....	18
Tableau 5	Quelques flavonoïdes présents chez les Lamiacées.....	19
Tableau 6	Les principaux monoterpènes présents dans les huiles essentielles des Lamiacées.....	21
Tableau 7	Les principaux iridoïdes présents chez les Lamiacées.....	23
Tableau 8	Les principaux sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles des Lamiacées.....	24
Tableau 9	Quelques diterpènes non volatils présents chez les Lamiacées	25
Tableau 10	Quelques triterpènes pentacycliques présents chez les Lamiacées	26
Tableau 11	Acides phénols présents chez les Lamiacées.....	28
Tableau 12	Quelques flavonoïdes présents chez les Lamiacées.....	30
Tableau 13	Les sesquiterpénoides présents chez les Lamiacées.....	32
Tableau 14	Diterpénoïdes d'abiétane présents chez les Lamiacées.....	34
Tableau 15	Quelques diterpénoïdes de clérodane présents chez les Lamiacées.....	37
Tableau 16	Des diterpénoïdes de pimarane et de présents chez les Lamiacées.....	38
Tableau 17	Quelques triterpénoïdes présents chez les Lamiacées.....	40
Tableau 18	Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des Lamiaceae.....	42
Tableau 19	Activités pharmacologiques des principaux groupes de métabolites isolés des plantes du genre <i>Salvia</i>	44
Tableau 20	Cordonnés GPS du site de collecte de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	51
Tableau 21	Moyens de révélation en CCM.....	59
Tableau 22	Résultats des tests chimiques de <i>Salvia. Chudaei</i>	68
Tableau 23	Résultats de CCM de l'éluant 2 (cyclohexane/acétate d'éthyle)	70
Tableau 24	Résultats de CCM de l'éluant 1 (MeOH/AcOEt).....	71
Tableau 25	Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait de Méthanol des parties aériennes de <i>S. Chudaei</i>	73
Tableau 26	Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait d'AcOEt des parties aériennes de <i>S. Chudaei</i>	74
Tableau 27	Activités pharmacologiques de quelques diterpenoides isolés de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	79
Tableau 28	Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de la masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masse ESI positif et ESI négatif.....	101
Tableau29	Spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC- MS de l'extrait Méthanol de <i>Salvia Chudaei</i>	102
Tableau 30	Spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC- MS de l'extrait AcOEt de <i>Salvia Chudaei</i>	103

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Position des Lamiacées par rapport à la classe des Angiospermes.....	3
Figure 2	Répartition géographique de la famille des Lamiaceae.....	5
Figure 3	Poil sécréteur à tête octocellulaire des Lamiacées.....	7
Figure 4	Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde.....	9
Figure 5	Distribution de genre <i>Salvia</i> en Afrique.....	10
Figure 6	Les poils glandulaires du genre <i>Salvia</i> : A- Trichome glandulaire pelté de la feuille, B- trichome glandulaires capités.....	12
Figure 7	Répartition géographique de <i>Salvia Chudaei</i>	13
Figure 8	Photos des parties aériennes de la plante <i>Salvia Chudaei</i>	14
Figure 9	Inflorescence et fleur de <i>Salvia Chudaei</i>	15
Figure 10	Diagramme floral de <i>Salvia Chudaei</i>	15
Figure 11	Akène de <i>Salvia Chudaei</i>	15
Figure 12	Structures des acides phénols présents chez les Lamiacées.....	18
Figure 13	Structures des tannins présents chez les Lamiacées.....	19
Figure 14	Structures des quelques flavonoïdes présents chez les Lamiacées	20
Figure 15	Structures des quelques monoterpènes présents dans les huiles essentielles des Lamiacées.....	22
Figure 16	Structures des principaux iridoïdes présents chez les Lamiacées	23
Figure 17	Structures des principaux sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles chez les Lamiacées	24
Figure 18	Structures des quelques diterpènes présents chez les Lamiacées	26
Figure 19	Structures des triterpènes pentacycliques présents chez les Lamiacées..	27
Figure 20	Structures des lignanes présents chez les Lamiacées	27
Figure 21	Structures des acides phénols présents chez le genre <i>Salvia</i>	29
Figure 22	Structures des flavonoïdes présents chez le genre <i>Salvia</i>	31
Figure 23	Structure chimique de quelques coumarines présentes chez le genre <i>Salvia</i>	31
Figure 24	Structures des sesquiterpénoïdes présents chez le genre <i>Salvia</i>	33
Figure 25	Structures des diterpénoïdes d'abiétane présents chez le genre <i>Salvia</i> ...	35
Figure 26	Structures des diterpénoïdes d'abiétaneisolés chez le genre <i>Salvia</i> (La suite)	36
Figure 27	Structures de quelques diterpénoïdes de clérodane présents chez le genre <i>Salvia</i>	37
Figure 28	Structures des diterpénoïdes de pimarane et de labdane présents chez le genre <i>Salvia</i>	38
Figure 29	Structures d'autres diterpénoïdes présents chez le genre <i>Salvia</i>	39
Figure 30	Structure chimique de la Salvileucolide méthyl ester	39
Figure 31	Structures de quelques triterpénoïdes présents chez le genre <i>Salvia</i>	40
Figure 32	Principales étapes de fonctionnement d'un spectromètre de masse.....	46
Figure 33	Les composants de la technique LC-SM.	48
Figure 34	Situation géographique de la zone de collecte.	50
Figure 35	Situation géographique de l'espèce <i>Salvia Chudaei</i>	51

Figure 36	Matériels nécessaires pour une CCM.	57
Figure 37	Coupe transversale de la tige de <i>Salvia Chudaei</i>	62
Figure 38	Les éléments d'une coupe transversale de la tige de <i>Salvia Chudaei</i> ...	63
Figure 39	Les éléments de la poudre de tiges de <i>Salvia Chudaei</i>	64
Figure 40	Coupe transversale de feuille de <i>Salvia Chudaei</i>	65
Figure 41	Les éléments d'une coupe transversale de la feuille de <i>Salvia Chudaei</i> ..	65
Figure 42	Les éléments de la poudre de feuilles de <i>Salvia Chudaei</i>	66
Figure 43	Les éléments de la poudre de fleurs de <i>Salvia Chudaei</i>	67
Figure 44	Structures chimiques des composés non cités dans la partie bibliographique	75
Figure 45	Aspect général de <i>Salvia Chudaei</i> Batt & Trab.	90
Figure 46	Dessin d'une coupe transversale de la tige de <i>Salvia Chudaei</i> x10.....	91
Figure 47	Dessin d'une observation de la poudre de la tige de <i>Salvia Chudaei</i> (10x40)	92
Figure 48	Dessin d'une coupe transversale de la feuille de <i>Salvia Chudaei</i> x10....	93
Figure 49	Dessin d'une observation de la poudre de la feuille <i>Salvia Chudaei</i> (10x40)	94
Figure 50	Dessin d'une observation de la poudre du calice de <i>Salvia Chudaei</i> (10x40)	95
Figure 51	Chromatogrammes d'extrait eau-méthanol.	96
Figure 52	Chromatogrammes d'extrait méthanol-dichlorométhane.	97
Figure 53	Chromatogrammes d'extrait dichlorométhane.....	98
Figure 54	Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait Méthanolique de <i>Salvia Chudaei</i>	99
Figure 55	Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait AcOEt de <i>Salvia Chudaei</i>	100

INTRODUCTION

En pharmacie, les produits naturels ont toujours pris une part importante dans la découverte de médicaments majeurs[1]. En effet, de nombreuses plantes sont à l'origine de nouveaux principes actifs : on estime que parmi les 303000 espèces de plantes terrestres connues [2], à peine 1% d'entre elles ont fait l'objet d'études pharmacologiques. Il reste donc potentiellement de nombreux principes actifs à découvrir.

La flore algérienne se caractérise par plus de 5000 taxons [3] entre espèces, sous-espèces, variétés et hybrides ; sur les 3139 espèces de trachéophytes déjà décrites [4], plus de 900 d'entre elles sont rares, très rares ou endémiques, dont certaines n'ont pratiquement jamais fait l'objet d'études phytochimiques poussées et encore moins d'études pharmacologiques, c'est comme le cas de *Salvia Chudaei* que nous avons abordé dans cette étude. Cette espèce aromatique de la famille des Lamiacées (endémique des massifs montagneux du Sahara central) est utilisée dans la médecine traditionnelle Touareg [5].

Notre étude vise la valorisation de l'espèce *Salvia Chudaei* en mettant en évidence la qualité thérapeutique de ses métabolites tout en confirmant son statut de plante médicinale à usage traditionnel.

Dans un premier temps, il s'agirait d'établir un profil phytochimique de cette espèce, en partant de divers extraits analysés par des méthodes physicochimiques tel que :

- Les réactions colorées, les réactions de fluorescence, et les réactions de précipitation, généralement utilisées en screening phytochimique ;
- La chromatographie sur couche mince (de gel de silice) ;
- La chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse (UPLC-MS).

Ensuite, nous essayerons de corréliser nos résultats avec les données de la littérature scientifique afin de confirmer l'intérêt thérapeutique de cette espèce originale ;

Notre travail est présenté en deux parties :

Premièrement, une synthèse bibliographique est scindée en quatre chapitres abordant successivement la botanique, la phytochimie, l'usage thérapeutique de l'espèce *Salvia Chudaei* et enfin un rappel sur l'UPLC-MS.

Deuxièmement, une partie pratique est scindée en quatre chapitres abordant successivement :

- "Matériel et Méthodes " mentionnant les détails de chacune des expériences menées ;
- "Résultats et Interprétations " présentant toutes nos données expérimentales ainsi que leurs interprétations ;
- "Discussion" traitant tous les résultats obtenus par rapport aux données de la littérature scientifique.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Étude botanique de l'espèce *Salvia Chudaei*

I. 1. Famille des Lamiaceae (Martinov, 1820)

Appelée autrefois Labiatae (Jussieu, 1789) [6], est une des familles les plus importantes du clade des Angiospermes (**Fig.1**). La famille des Lamiaceae est subdivisée en 12 sous-familles (**Tab.1**), 236 genres regroupant plus de 7 000 espèces. Parmi les genres les plus communs nous citerons [6, 7] :

Salvia (le plus important avec environ 900 espèces) [8]

Thymus (environ 215 espèces) [9]

Mentha (environ 30 espèces) [10]

Lavandula (39 espèces) [11]

Rosmarinus (seulement 2 espèces : *Rosmarinus officinalis*, *Rosmarinus eriocalix*) [12, 13]

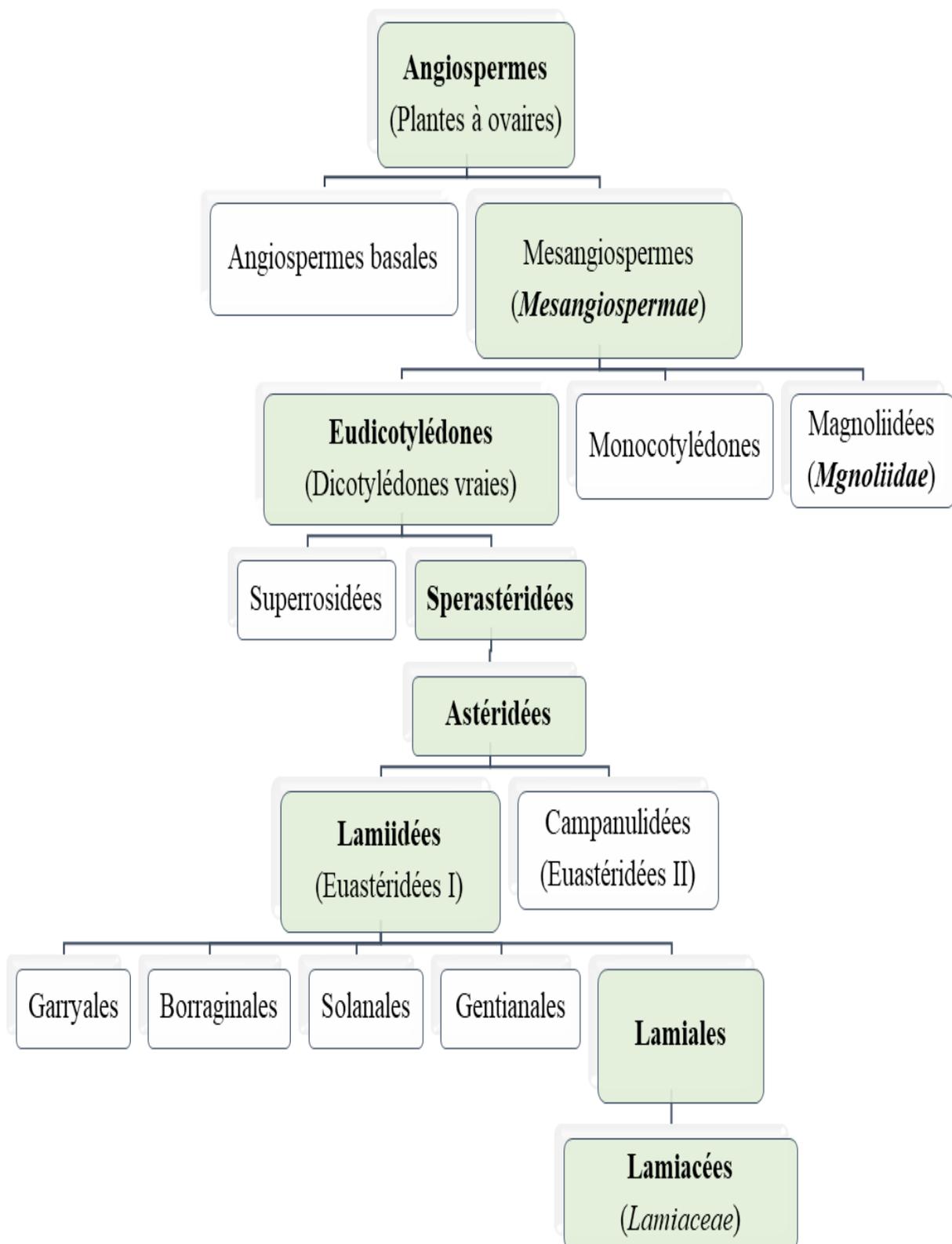


Figure 1 : Position des Lamiacées par rapport à la classe des Angiospermes [14].

Tableau 1 : Les sous-familles des Lamiaceae. [7, 15, 16]

Les sous-familles	Nombres des espèces	Exemples de genres
Ajugoideae	1000 espèces	<i>Ajuga, Teucrium</i>
Callicarpoideae	170 espèces	<i>Callicarpa</i>
Cymarioideae	/	<i>Acrymia, Cymaria</i>
Lamioideae	1260 espèces	<i>Lamium, Marrubium</i>
Nepetoideae	3685 espèces	<i>Salvia, Mentha, Thymus, Rosmarinus, Lavandula</i>
Péronématoïdeae	/	<i>Hymenopyramis, Peronema</i>
Premnoïdeae	/	<i>Premma, Gmelina</i>
Prostantheroïdeae	313 espèces	<i>Cyanostegia, Hemiandra</i>
Scutellarioïdeae	380 espèces	<i>Scutellaria, Holmskioldia</i>
Symphorematoïdeae	/	<i>Congea, Sphenodesme, Symphorema</i>
Tectonoïdeae	3 espèces	<i>Tectona</i>
Viticoïdeae	376 à 526 espèces	<i>Vitex</i>

I. 1. 1. Répartition géographique

Les plantes appartenant à la famille des Lamiaceae sont plus ou moins cosmopolites, préférant les climats tempérés (**Fig. 2**). Elles sont particulièrement concentrées autour du bassin Méditerranéen jusqu'en Asie centrale [17].

En Algérie, cette famille botanique est bien représentée par 140 espèces réparties en 29 genres, essentiellement localisées dans la région méditerranéenne (le Tell) [18] ; alors qu'une douzaine espèces sont rencontrées dans le Sahara (*Rosmarinus deserti*, *Saccocalyx satureioides*, *Salvia Chudaei*) [19, 20].

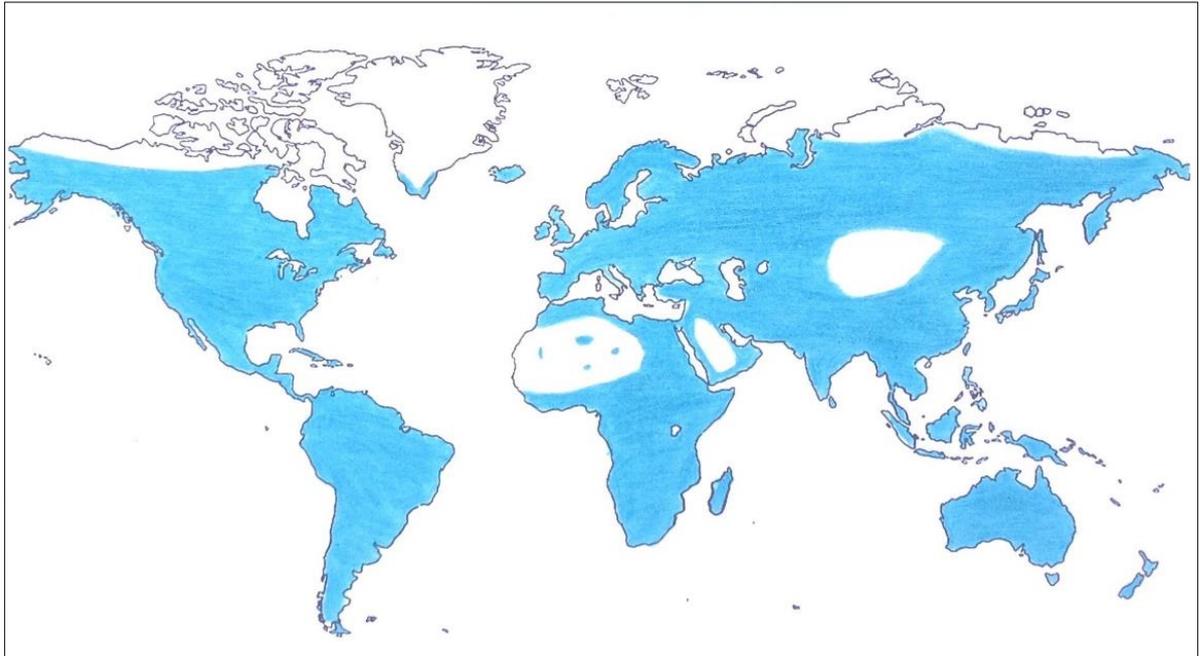


Figure 2 : Répartition géographique de la famille des Lamiaceae. [7]

I. 2. Caractères botaniques généraux

I. 2. 1. Caractères macroscopiques

C'est une famille botanique très homogène dont beaucoup d'espèces sont aromatiques.

Appareil végétatif

Port :

- Herbes vivaces (*Mentha*, *Origanum*, *Melissa*), rarement annuelles (*Ocimum*),
- Sous-arbrisseaux (*Salvia*, *Teucrium*),
- Arbrisseaux (*Romarinus*, *Lavandula*),
- Arbres (*Hiptis*). [6, 21]

Anatomie :

- Jeunes tiges quadrangulaires (souvent renflées aux nœuds),
- Tiges âgées de section arrondie,
- Feuilles sont simples, opposées, coriaces chez les espèces vivant dans les endroits secs où, elles présentent souvent un limbe enroulé par-dessous avec stomates enfoncés,

- Au niveau des épidermes, présence de poils sécréteurs plus ou moins nombreux synthétisant une huile essentielle à l'origine de l'odeur aromatique qui se dégage par attouchement de la plante.

Appareil reproducteur

L'appareil reproducteur est porté par des inflorescences de type cyme (souvent condensées en glomérules) situées à l'aisselle des feuilles supérieures.

Fleur :

Type 5, corolle zygomorphe avec perte de l'étamine supérieure en général (sauf chez les Lamiacées tropicales) :

- La corolle est bilabiée avec une lèvre supérieure à deux pétales, et une lèvre inférieure à trois pétales,
- L'androcée est généralement formé de quatre étamines didynames (sauf chez les Lamiacées tropicales), alors que chez les genres *Salvia* et *Rosmarinus* il est réduit à deux étamines,
- Le gynécée à deux carpelles soudés est disposé sur un disque nectarifère toujours présent. Chaque carpelle se subdivise par une fausse cloison en deux demi-loges, chacune contenant un ovule. Le style est unique et gynobasique (sauf chez les Lamiacées tropicales où le style est encore terminal),
- La formule florale générale : $5S + (2+3) P + (2+2) E + 2 C$.

Fruit :

- Tétrakène logé au fond du calice persistant (chaque demi-carpelle donnant naissance à un akène élémentaire) [2, 6].

I. 2. 2. Caractères microscopiques généraux

- Poils glanduleux caractéristiques sont capités (généralement à tête octocellulaire), sessiles, enfoncés dans l'épiderme (**Fig. 3**). La cuticule est distendue par l'essence sécrétée, renfermant parfois des cristaux.
- Présence de poils tecteurs de forme variable : coniques (*Mentha*), unicellulaire à tête élargie, cylindriques, flabelliformes (*Salvia*), verticillés (*Lavandula*, *Rosmarinus*, *Mentha*), pluricellulaires unisériés.
- Stomates de type diacytique sont localisés à la face inférieure de la feuille.
- Absence d'oxalate de calcium [21].

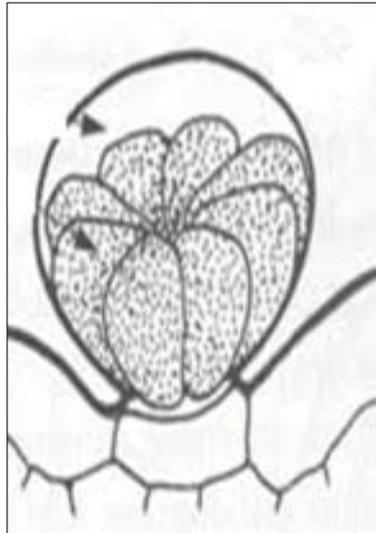


Figure 3 : Poil sécréteur à tête octocellulaire des Lamiacées. [22]

I. 2. Le genre *Salvia* (L., 1753)

L'origine du nom *Salvia* provient du latin « Salvare », qui veut dire sauver et guérir, Ce nom a été transcrit en Sauge en français et en « Sawge » en ancien anglais puis en sage aujourd'hui [23, 24].

Le genre *Salvia* (le plus important des Lamiacées) est représenté par environ 900 espèces. La position du genre *Salvia* dans la systématique des Angiospermes est mentionnée dans les tableaux 2 et 3[25].

Tableau 2 : La position du genre *Salvia* selon la classification de Cronquist 1981

Classification de Cronquist	
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Salvia</i>

Tableau 3 : La position du genre *Salvia* selon APG III 2009.

Classification phylogénétique APG III	
Règne	Archéplastides
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Astéridées
Clade	Lamiidées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Salvia</i>

I. 2. 1. Répartition géographique

Dans le monde

Le genre *Salvia* semble être originaire du nouveau monde puisqu'environ 530 espèces y sont répertoriées alors que dans l'ancien monde seulement 370 espèces sont connues notamment autour du bassin méditerranéen et de l'Asie centrale (**Fig.4**). Le Mexique étant le pays qui renferme le plus d'espèces de sauges [25, 26, 27, 28].

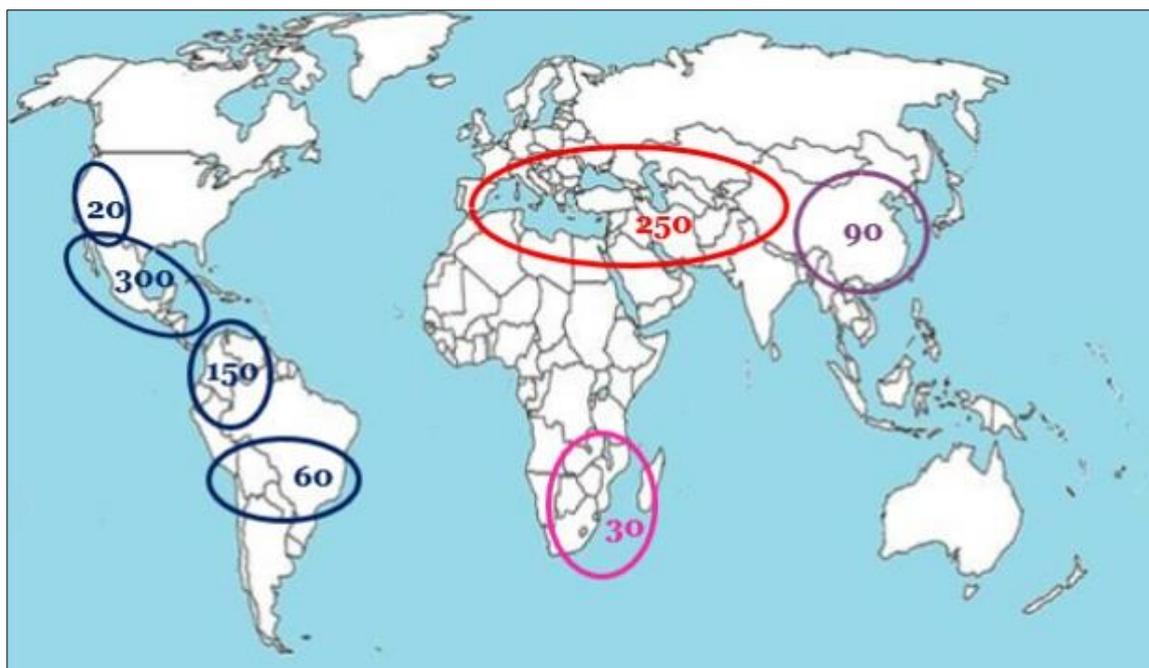


Figure 4 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde selon WALKER et al.[26]

En Afrique

Il existe 62 espèces du genre *Salvia* en Afrique dont 25 sont répartis en Afrique du nord, 23 en Afrique australe, 8 espèces en Afrique de l'Est et 6 espèces au Madagascar (**Fig. 5**).



Figure 5 : Distribution de genre *Salvia* en Afrique.[28]

En Algérie

18 espèces du genre *Salvia* sont mentionnées dans la flore de Quezel & Santa [29] :

<i>S. aegyptiaca</i> L.	<i>S. barrelieri</i> Ettl.	<i>S. phlomoides</i> Asso.
<i>S. aethiopsis</i> L.	<i>S. Chudaei</i> Batt. & Trab.	<i>S. Sclarea</i> L.
<i>S. algeriensis</i> Desf.	<i>S. jaminiana</i> De Noé.	<i>S. silvestris</i> L.
<i>S. argentea</i> L.	<i>S. horminum</i> L.	<i>S. tingitana</i> Ette.
<i>S. aucheri</i> Benth.	<i>S. lavandulaefolia</i> Vahl.	<i>S. triloba</i> L. Fils.
<i>Salvia balansae</i> De Noé.	<i>S. officinalis</i> L.	<i>S. verbenaca</i> (L.) Briq.

I. 2. 3. Caractères botaniques généraux

I. 2. 3. 1. Caractères macroscopiques

Appareil végétatif

Port :

- Plantes herbacées annuelles (*S. algeriensis*), bisannuelles (*S. sclarea*) ou vivaces (*S. argentea*, *S. Chudaei*).

Anatomie :

- Tiges strictement quadrangulaires,
- Feuilles opposées et décussées, a limbe entier parfois denté (*S. glutinosa*) ou penné (*S. jurisicii*),
- Les hampes florales portent de petites bractées inégales. [25, 30]

Appareil reproducteur

- Inflorescences de type grappes ou panicules,
- Calice tubulaire ou en forme de cloche, bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée,
- Corolle formée de deux lèvres, La lèvre supérieure est généralement entière ou à trois dents, La lèvre inférieure a généralement deux lobes,
- 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe,
- Fruits ovoïdes lisses et dans de nombreuses espèces ils ont un revêtement mucilagineux. [25, 31]

I. 2. 3. 2 Caractères microscopiques généraux

- Présence d'une cuticule recouvrant l'épiderme,
- Epiderme a une seule assise de cellules,
- Présence de collenchyme au niveau des angles de la tige,
- Au niveau de l'épiderme de la feuille, on note la présence de nombreux poils glandulaires qui sont de deux types capité et pelté (**Fig. 6**). [32, 33, 34]

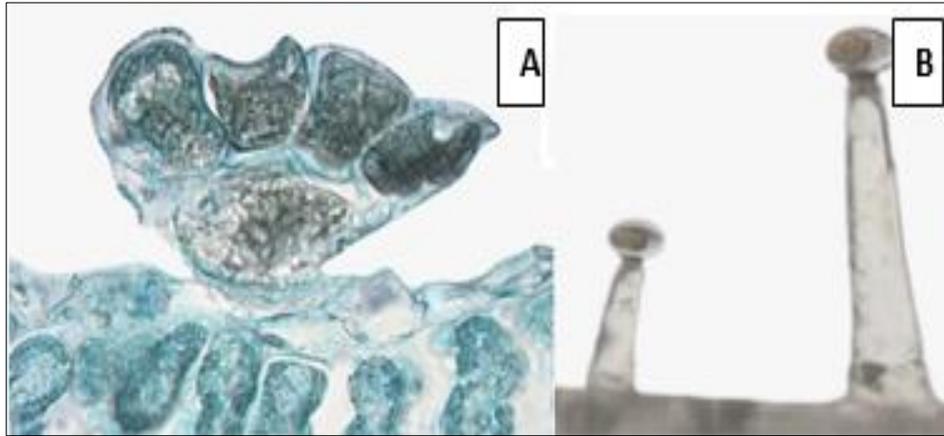


Figure 6 : Les poils glandulaires du genre *Salvia* :

A- Trichome glandulaire pelté de la feuille, **B-** trichome glandulaires capités. [32]

I. 3. L'espèce *Salvia Chudaei*

Plante aromatique à odeur puissante, agréable et légèrement camphrée [35].

I. 3. 1. Classification phylogénétique selon APG III 2009

Règne :	Planta
Embranchement :	Spermaphyte
Sous - Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédone
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiacées
Sous-famille :	Népétoïdées
Genre :	<i>Salvia</i>
Espèce :	<i>Salvia Chudaei</i> Batt. & Trab.

I. 3. 2. Répartition géographique

Salvia Chudaei se trouve au niveau de Sahara central (Ahaggar, Tassili, Tefedest) et du Tibesti (Lybie, Mali et Tchad) [18, 36], assez commune dans le secteur du Sahara central et dans les Oueds rocailleux, On la rencontre par petites colonies aussi bien en altitude, à Dider ou dans les oueds de l'ouest, qu'au pied du plateau (**Fig. 7**) [35, 37].

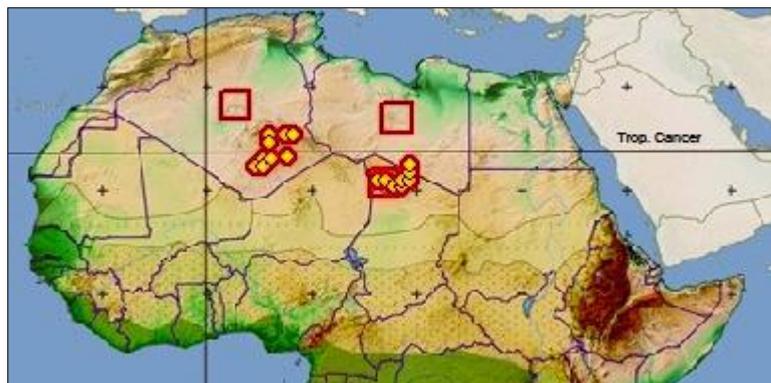


Figure 7 : Répartition géographique de *Salvia Chudaei* [38].

I. 3. 3. Caractères botaniques généraux

I. 3. 3. 1. Caractères macroscopiques

Appareil végétatif

Salvia Chudaei est un petit (30-40 cm) sous-arbrisseau [18] très rameux, velu dans ses parties non lignifiées [4] (**Annexe 1, 2**). Les tiges sont caractéristiques des Lamiacées, de section quadriangulaire. Les feuilles sont pétiolées, opposées à fasciculées. Le limbe est très allongé, a bords relevés et crénelés (**Fig. 8**). [19, 35, 37]



Figure 8 : Photos des parties aériennes de la plante *Salvia Chudaei*.

Appareil reproducteur

Les sommets des rameaux portent des inflorescences en épis courts de petites fleurs bleues pales [19]. Les fleurs sont zygomorphes à corolle bilabée : la lèvre supérieure est formée par la soudure des 2 pétales dorsaux, la lèvre inférieure se subdivise en 2 lobes, le lobe latéral et le lobe médian. et à calice laineux portant de longs poils blanchâtres. Le calice est pubescent, persistant, en forme de clochette ovale, comprenant 5 sépales soudés à la base puis divisés en deux lèvres : la lèvre supérieure étant tridentée alors que la lèvre inférieure est bidentée. L'androcée est constitué de 2 étamines à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales : l'une portant la loge de l'anthere et l'autre est réduite à une sorte d'écaille, servant de balancier pour les pollinisateurs.

L'ovaire est supère, a2 carpelles chacun recloisonné de façon à présenter deux 1/2 loges contenant chacune un ovule. Le style est assez long, les stigmates dépassent les pétales. Le fruit est un tétrakène noir, lisse, persistant longtemps au fond du calice. Les graines mesurent à peine 2 mm [35, 39].



Figure 9 : Inflorescence et fleur de *Salvia Chudaei*.

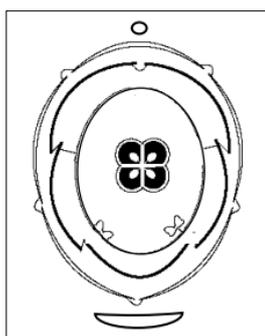


Figure 10 : Diagramme floral de *Salvia Chudaei*. [39]

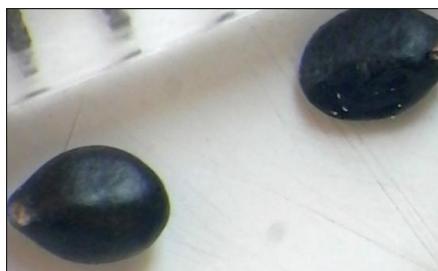


Figure 11 : Akène de *Salvia Chudaei*. [39]

I. 3. 3. 1. Caractères microscopiques généraux

Concernant l'histologie de l'espèce *Salvia Chudaei*, les seules données bibliographiques que nous avons recueillies sont abordés dans les travaux du Dr BOUKHALFA [39], où il présente les principaux caractères microscopiques de la feuille, notamment la présence de différents types de poils tecteurs et de poils sécréteurs (ou glanduleux) [18, 19] :

- Poil tecteur pluricellulaire unisériel (3 à 4 articles courts) recourbés, légèrement ponctué,
- Poil tecteur ramifié,
- Poil sécréteur capité à tête unicellulaire et pied unicellulaire,
- Poil sécréteur à tête unicellulaire et pied pluricellulaire,
- Poil sécréteur pelté.

Selon la même étude la poudre des parties aériennes de la plante se caractérise par la présence des éléments suivants :

- Outre les types de poils cités plus haut, on note également la présence de poils tecteurs pluricellulaires (3 à 4 articles longs) et à extrémité effilée,
- Fragment d'épiderme avec des stomates de type diacytique,
- Fragment de parenchyme palissadique avec épiderme,
- Fragment de parenchyme à méats,
- Grains de pollen stéphanocolpés lisses isopolaires, à six sillons, subsphériques, regroupés en amas ou isolés.

Chapitre II : Étude phytochimique de l'espèce *Salvia Chudaei*

II. 1. Phytochimie des Lamiaceae

De nombreuses espèces de Lamiacées ont fait l'objet d'études phytochimiques qui ont permis de mettre en évidence un grand nombre de métabolites secondaires appartenant essentiellement aux groupes des phénols, des polyphénols et des terpénoïdes. Ceci peut être confirmé par une simple recherche documentaire sur des bases de données telles que Science Direct : En utilisant « Phytochemistry » et « Lamiaceae » on a trouvé 1073 références concernant les différentes espèces de cette famille ainsi que leurs métabolites secondaires.

Le groupe des alcaloïdes est très mineur : il s'agit généralement de diterpénoïdes azotés (stachydrine, bétonidine...) qui ont été isolés respectivement chez *Leonurus cardiaca L* et *Thymus quinquecostatus*.

II. 1. 1. Composés phénoliques et polyphénoliques

Acides phénols

Sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [40].

La famille des Lamiacées est une source très riche d'espèces de plantes contenant grandes quantités d'acides phénoliques comme l'acide caféique et l'acide rosmarinique. Ces deux acides peuvent être considérés comme des marqueurs chimotaxonomiques de certaines sous-familles ou certains genres (l'acide rosmarinique est présent dans les espèces de la sous-famille des Nepetoideae et absent dans celles de la sous-famille des Lamioideae).

Tableau 4 : Quelques acides phénoliques présents chez les Lamiacées.

Métabolite secondaire	Sources	Références
Acide caféique ¹ Acide rosmarinique ²	<i>Ajuga reptans</i> , <i>Satureja calamintha</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Ocimum basilicum</i>	[41, 42]
Acide chlorogénique ³	<i>Melissa officinalis</i>	[43]

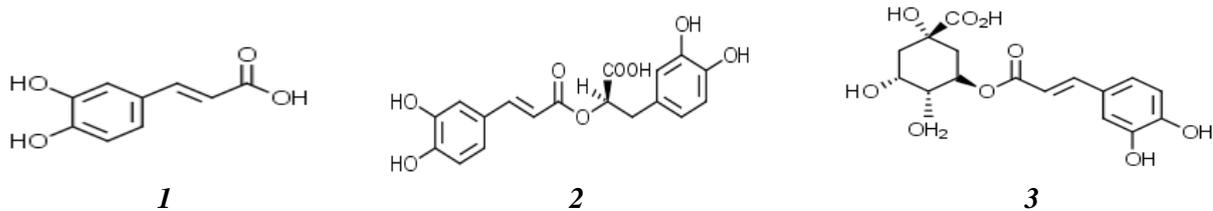


Figure 12 : Structures des acides phénols présents chez les Lamiacées.

Tanins

Sont des composés phénoliques complexes ayant la propriété de tanner la peau. Ils sont produits par les plantes et se combinent facilement avec les protéines pour donner des composés insolubles.

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et leur origine biogénique :

- Tannins hydrolysables : ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols.

- Tannins condensés ou tannins catéchiques ou proanthocyanidols : ce sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone [40].

Les tanins sont présents en quantité moyenne chez les Lamiacées comme *Teucrium polium*, *Saccocalyx satureioides* et *Salvia verbenaca* dont les composés identifiés chez ces espèces sont : le pyrogallol, l'hydroquinone, le résorcinol, le phloroglucinol et le catéchol [44].

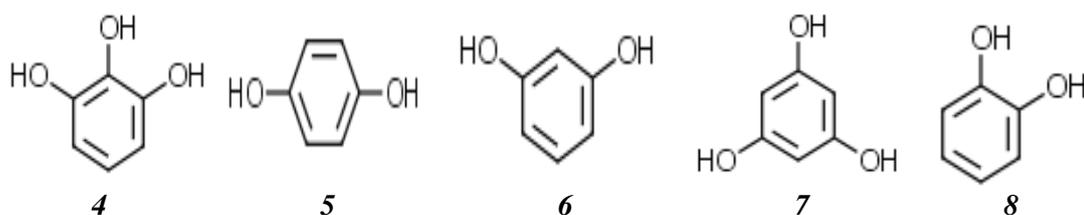


Figure 13 : Structures des tannins présents chez les Lamiacées

Pyrogallol **4**, Hydroquinone **5**, Résorcinol **6**, Phloroglucinol **7**, Catéchol **8**.

Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaunes. Les principales catégories de flavonoïdes sont définies par la présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C qui déterminent la planéité de la molécule. Les flavones et flavonols présentent une double liaison et sont des molécules planes. Contrairement aux flavanes et flavanones qui présentent les fonctions cétones, alcools et méthoxy [40].

Quatre principaux types de flavonoïdes ont été identifiés chez les Lamiacées : apigénine, hypolaétine, isoscutellareïne et scutellareïne. Trois d'entre eux sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques au niveau des sous-familles. Ces composés sont retrouvés sous forme d'aglycones ou sous leurs formes glycosylées avec divers résidus de sucres [43].

Tableau 5 : Quelques flavonoïdes présents chez les Lamiacées.

Sous-classe	Métabolite secondaire	Sources	Réf
Flavones	Scutellarine 9	<i>Scutellaria baicalensis</i>	[45]
	Apigénine 10	<i>Mentha x piperita, rosmarinus officinalis</i>	[41, 46]
	Lutéoline 11	<i>Thymus vulgaris, menthapiperita, rosmarinus officinalis</i>	
Flavonols	Quercétine 12	<i>Thymus vulgaris, Leonurus cardiaca</i>	[42, 47]
	Kaempferol 13	<i>Hyptis capitata</i>	[48]
Flavanones	Eriocitrine 14	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[49]
	Genkwanine 15		

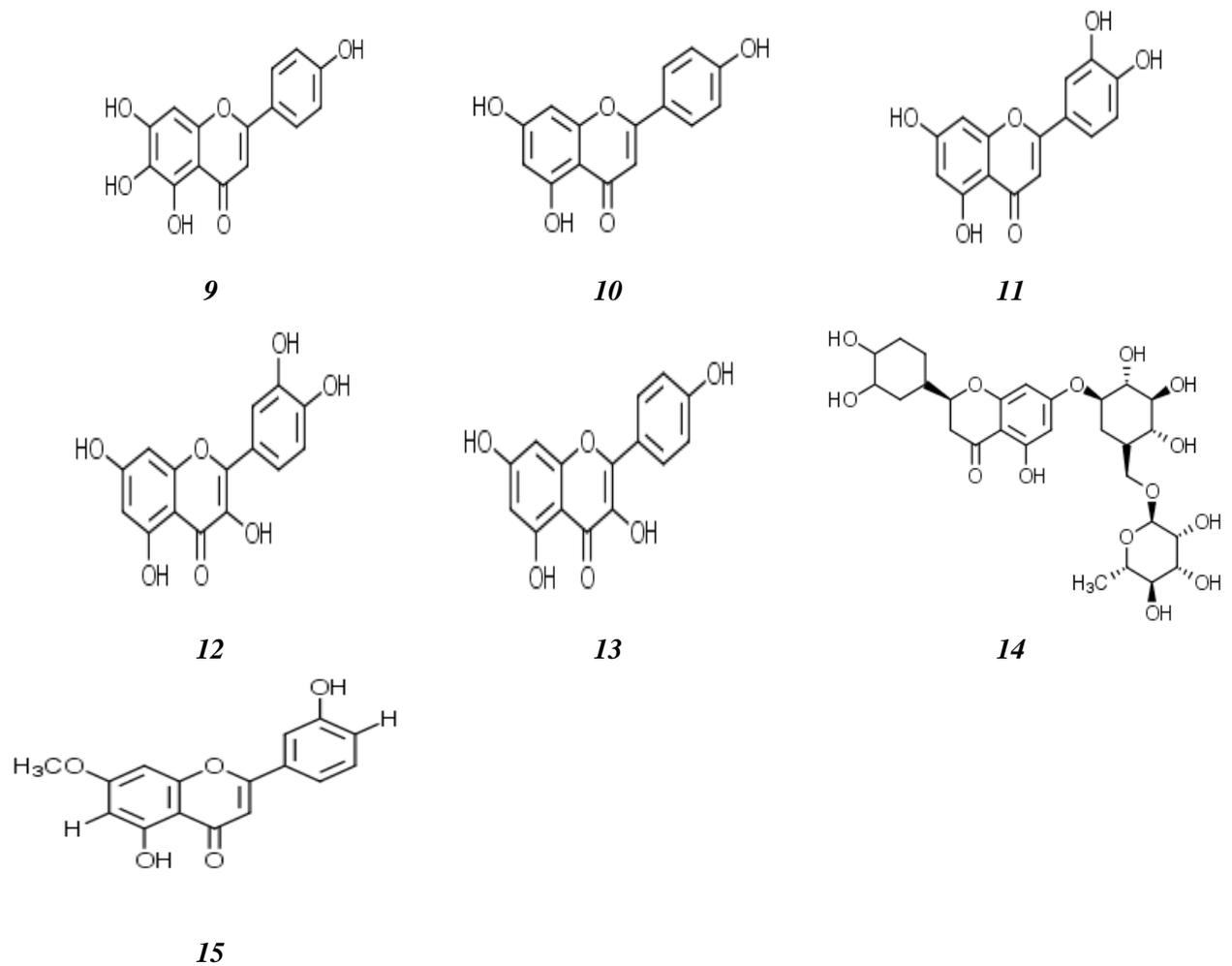


Figure 14 : Structures des quelques flavonoïdes présents chez les Lamiacées.

II. 1. 2. Terpénoïdes

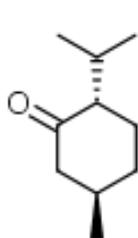
Sont des hydrocarbures naturels, possédant une structure moléculaire appelée isoprène, ainsi qu'ils sont les principaux composés des huiles essentielles de certaines plantes de la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge...etc., les terpénoïdes de courte chaîne sont responsables de l'odeur et goût dans ces plantes.

Monoterpènes

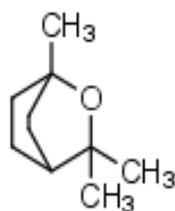
Parmi les monoterpènes, les composés principaux sont le α -pinène, le β -pinène, le 1,8-cinéole, le menthol et le limonène.

Tableau 6 : Les principaux monoterpènes présents dans les huiles essentielles chez les Lamiacées.

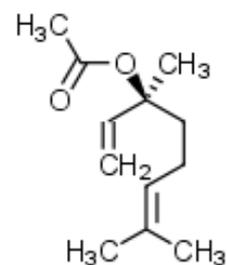
Sous-classe	Métabolite secondaire	Sources	Références
Monoterpènes	Menthol 16	<i>Mentha piperita</i>	[41]
	Cinéol ou eucalyptol 17		
	Acétate de linalyle 18	<i>Lavandula angustifolia</i>	
	Camphène 19	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[50]
	Carvacrol 20	<i>Thymus vulgaris, Origanum vulgare</i> <i>Satureja calamintha</i>	[42, 51]
	β -ocimène 21	<i>Thymus vulgaris</i>	[42]
	α -terpinène 22		
	α -terpinéol 23	<i>Satureja calamintha</i>	
<i>p</i> -cymène 24	<i>Satureja khuzistanica</i>	[52]	



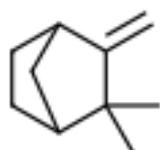
16



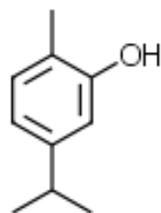
17



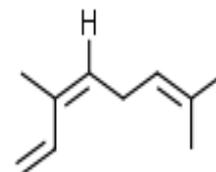
18



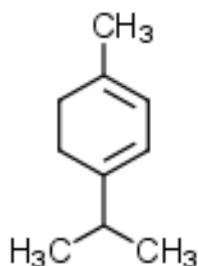
19



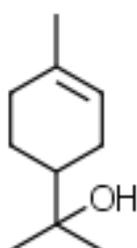
20



21



22



23



24

Figure 15 : Structures des quelques monoterpènes présents dans les huiles essentielles des Lamiacées.

Les iridoïdes sont des monoterpènes qui se trouvent chez plusieurs espèces de la famille des *Lamiaceae*. Ils appartiennent essentiellement à deux types : le premier avec un squelette à 9 atomes de carbone, tandis que le second avec 10 atomes de carbone. Des séco-iridoïdes ont été également observés chez *Lamium album*.

Tableau 7 : Les principaux iridoïdes présents chez les Lamiacées

Métabolite secondaire	Sources	Références
Alboside A 25	<i>Lamium album L</i>	
Harpagide 26	<i>Lamium galiobdolon</i>	[53]
Lamiol 27	<i>Lamium amplexicaule</i>	
Ajugol 28	<i>Ajuga salicifolia</i>	[54]
Catalpol 29	<i>Premna L, scutellaria L</i>	[43]
Reptoside 30	<i>Ajuga bracteosa</i>	[55]
Caryoptoside 31	<i>Caryopteris odorata</i>	[56]

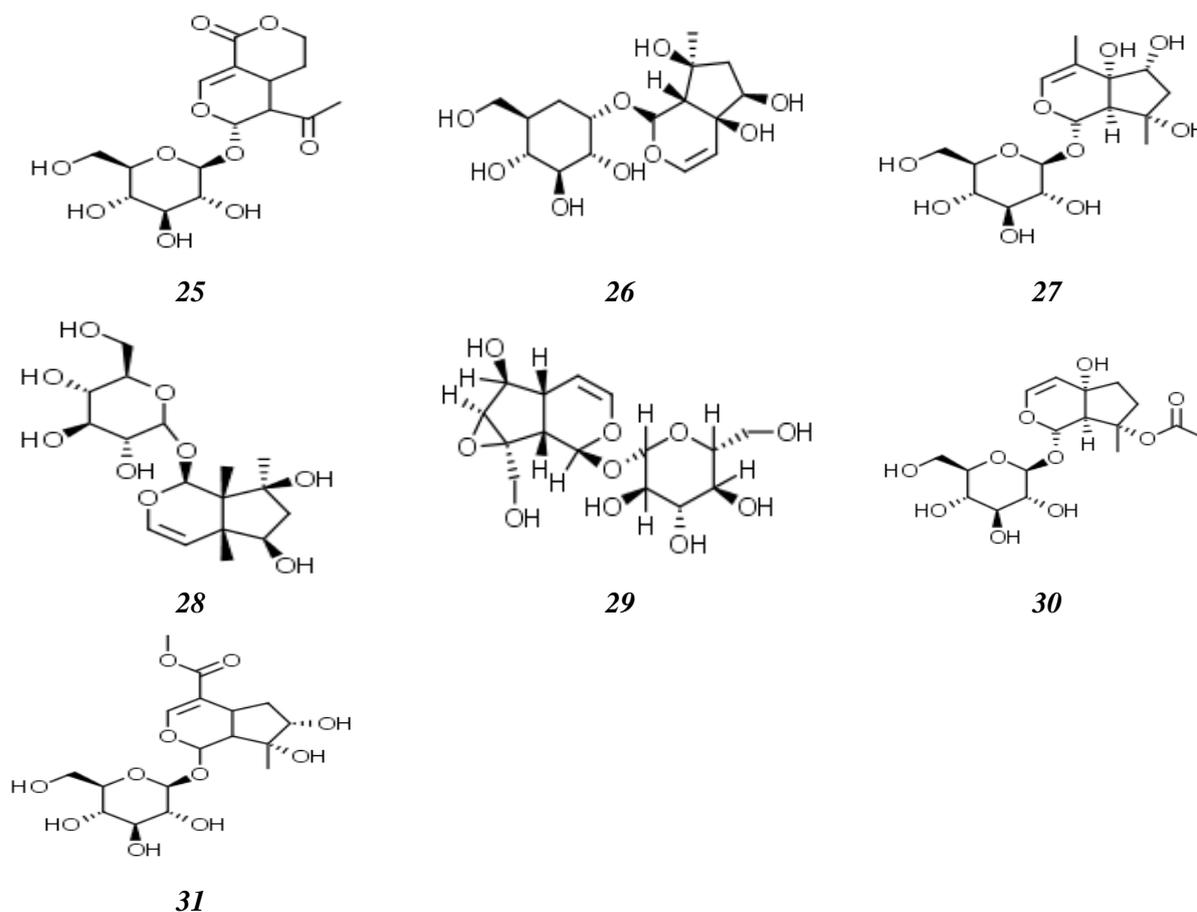


Figure 16 : Structures des principaux iridoïdes présents chez les Lamiacées.

Sept types de diterpènes ont été observés chez les *Lamiaceae* et se différencient par l'arrangement variable du squelette à 20 atomes de carbone pour former des abiétanes, des clérodanes, des néo-clérodanes, des ent-kauranes, des labdanes, des piramanes et des isopiramanes [43].

Les labdanes sont présents dans 20 genres de cette famille comprenant *Ballota*, *Coleus*, *Lagichilus*, *Marrubium*, et *Siderite* [59].

Certains groupes de diterpènes non volatils peuvent être considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques caractéristiques de certaines sous-familles ou certains genres [43].

Tableau 9 : Quelques diterpènes non volatils présents chez les Lamiacées.

Sous-classe	Métabolite secondaire	Sources	Références
Lactone diterpénique	Marrubiine ³⁵	<i>Marrubium vulgare</i>	[60]
	Marrulibacétal A ³⁶	<i>Marrubium deserti</i>	[61]
	Leonurun ³⁷	<i>Leonotis leonurus</i>	[62]
	Carnosol=Picrosalvine ³⁸	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[63]
Labdane diterpénoïde	Marrubaschs D ³⁹	<i>Marrubium aschersonii</i>	[64]
	Marrubenol ⁴⁰		

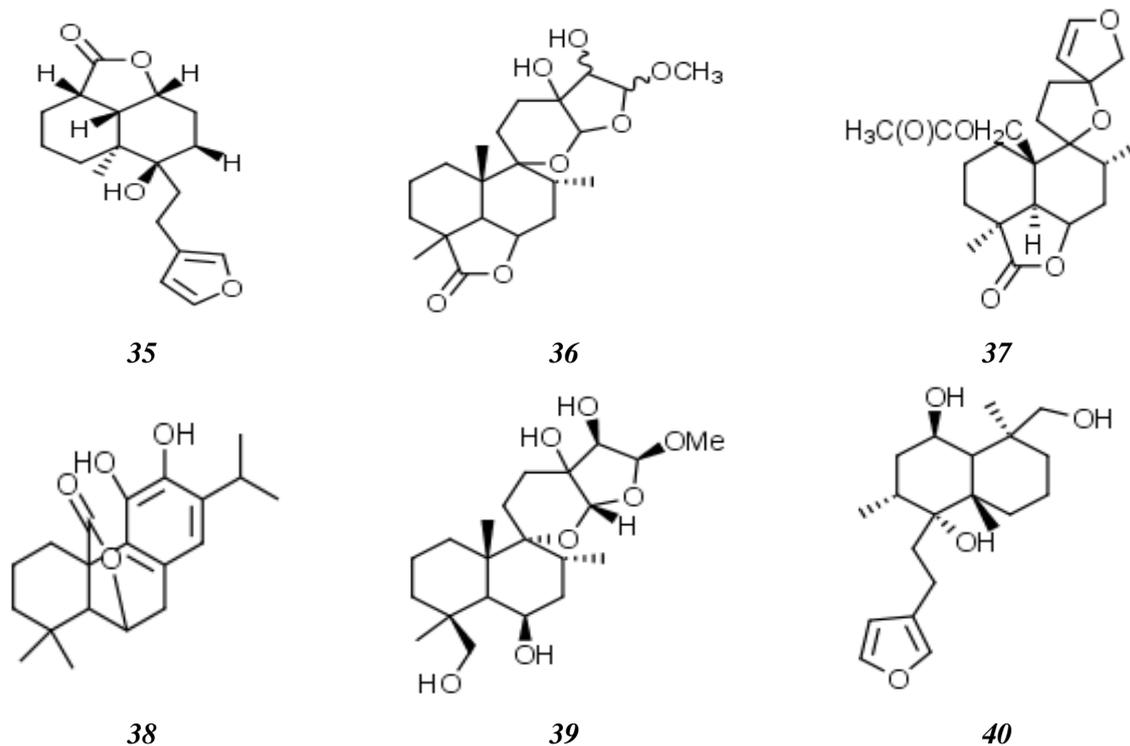


Figure 18 : Structures des quelques diterpènes présents chez les Lamiacées.

Triterpènes

Deux types principaux de triterpènes ont été retrouvés chez les *Lamiaceae* à savoir les triterpènes pentacycliques et les phytostéroïdes. L'acide oléanolique ainsi que l'acide ursolique représentent les triterpènes pentacycliques les plus signalés alors que les phytostéroïdes n'ont été retrouvés que chez un nombre restreint d'espèces appartenant à cette famille.

Tableau 10 : Quelques triterpènes pentacycliques présents chez les Lamiacées.

Métabolite secondaire	Sources	Références
Acide ursolique ⁴¹	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[50]
Acide oléanolique ⁴²	<i>Rosmarinus officinalis, Melissa officinalis</i>	[50, 65]

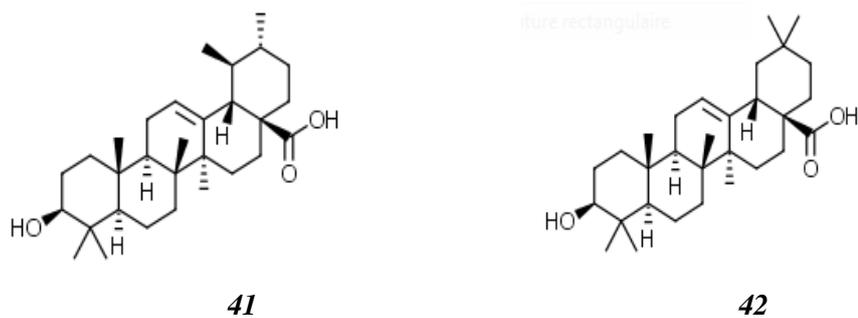


Figure 19 : Structures des triterpènes pentacycliques présents chez Lamiacées.

Lignanes

De nombreux lignanes ont été isolés en particulier les dérivés du résinol et de l'aryltétraline.

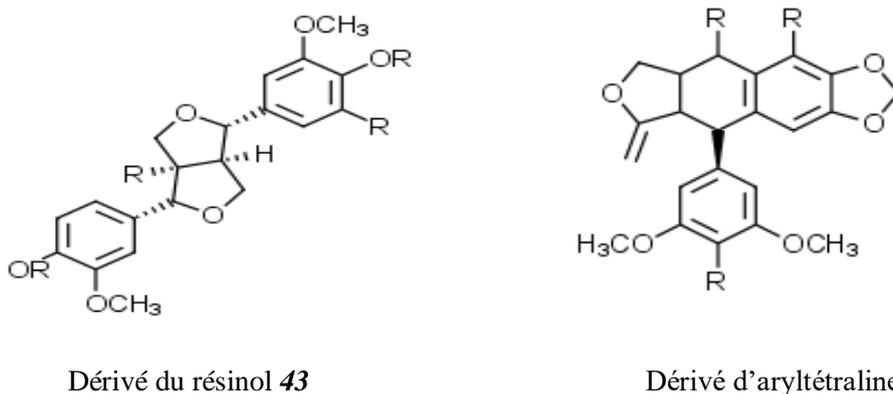


Figure20 : Structures des lignanes présents chez les Lamiacées.

II. 2. Phytochimie du genre *Salvia*

Une revue de la littérature a montré que la composition chimique des espèces du genre *Salvia* a fait l'objet de nombreuses études depuis plus de quatre-vingt-dix ans. Jusqu'au 2011, un total de 773 composés chimiques ont été isolés à partir de 134 espèces appartenant à ce genre. Ces composés sont principalement représentés par des terpénoïdes, des acides phénoliques et des flavonoïdes. [58, 66, 67, 68]

II. 2. 1. Composés phénoliques et polyphénoliques

Selon leurs structures, ce groupe est en outre classé en deux sous-groupes : acides phénoliques et flavonoïdes [58].

Acides Phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandus dans le genre *Salvia*. Depuis les années 1980, des scientifiques chinois et japonais ont étudié les constituants hydrosolubles du Danshen (*S. miltiorrhiza*) et ont pu isoler plus de 20 acides phénoliques de cette plante. [58, 66]

Ces acides phénoliques sont regroupés en acides monomères (l'acide caféique), dimères (l'acide rosmarinique), trimères (l'acide lithospermique et l'acide salvianolique A), tétramères (l'acide salvianolique B) et d'autres oligomères [69].

Tableau 11 : Acides phénols présents chez le genre *Salvia*. [58, 66]

Métabolite secondaire	Source
Acide caféique 1	
Acide salvianolique (F, G) 45, 46	<i>S. miltiorrhiza</i>
Salvianonol 47	
Przewalskinone B 48	<i>S. przewalskii</i>
Eugenylglucoside 49	<i>S. officinalis</i>
Hexacosylferulate 50	<i>S. microphylla</i>
Acide salvianolique L 51	
Salviaplebeiaside 52	<i>S. plebeia</i>

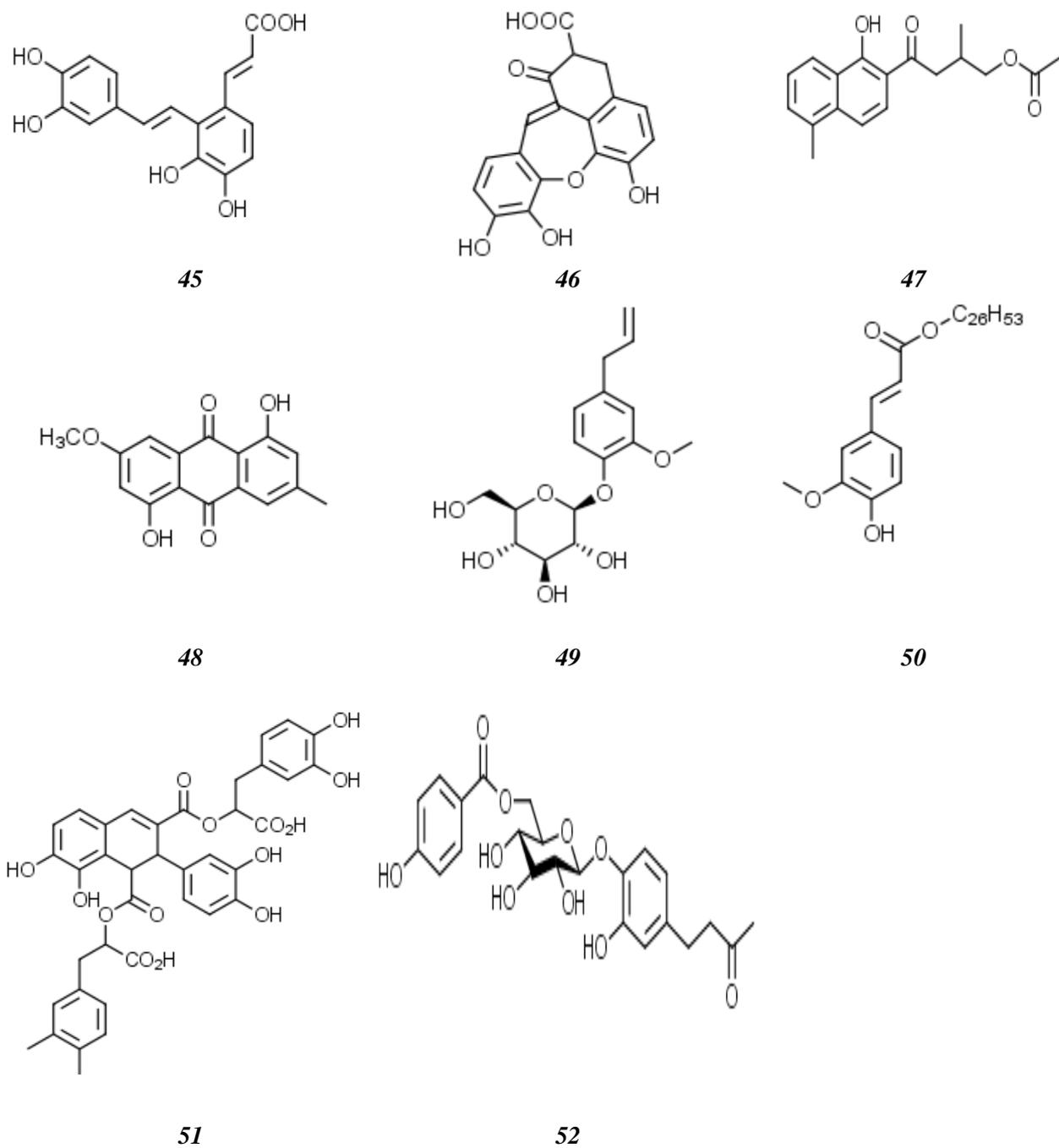


Figure 21 : Structures des acides phénols présents chez le genre *Salvia*.

Tanins

Plusieurs espèces du genre *Salvia* ont marqué la présence des tanins, mais avec des teneurs différentes, on peut citer *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. pratensis*, et *S. nemorosa*. [70]

Le dépistage phytochimique a révélé la présence des tanins dans un extrait éthanolique de *S. connivens*. [71]

Flavonoïdes

Les flavonoïdes répandus dans les espèces du genre *Salvia* sont principalement présents sous forme de flavones, flavonols et leurs glycosides. Certains, comme les flavones 6-hydroxylés ont été même reconnus comme marqueurs chimiotaxonomiques de ce genre. [68]

Tableau 12 : Quelques flavonoïdes présents chez le genre *Salvia*. [58]

Métabolite secondaire	Source
6,8-di-C-glucosylapigénine (= vicénine-2) 53	<i>S. officinalis</i>
Lutéoline 7-O-β-D-glucoside 54	
Lutéoline 7-O-glucuronide 55	
Lutéoline 3'-O-glucuronide 56	
6-hydroxylutéoline 7-O-glucoside 57	
6-hydroxylutéoline 7-O-glucuronide 58	
Apigénine 7-O-β-D-glucopyranosyl- (1''' → 4'') - β-D-glucopyranoside (apiyénine 7-O-cellobioside) 59	<i>S. uliginosa</i>
Apigénine 7,4'-O, O-di-β-D-glucopyranoside (apigénine 7,4'-O, O-diglucoside) 60	
Nubatine 61	<i>S. nubicola</i>

II. 2. 2. Terpénoïdes non volatils

Sesquiterpénoïdes

Le nombre de sesquiterpénoïdes naturels isolés à partir des espèces du genre *Salvia* jusqu'à 2010 était de 46. Ce groupe peut être réparti en six sous-groupes [58] :

Tableau 13 : Les sesquiterpénoïdes présents chez le genre *Salvia*. [58]

Sous-groupes des sesquiterpénoïdes	Métabolite secondaire	Source
Sesquiterpènes aliphatiques	Salvinine 64	<i>S. divaricata</i>
	Salviadiénol (A, B) 65, 66	<i>S. chinensis</i>
Sesquiterpènes germacraniels	Castanin (A, B, C, D, E, F) 67, 68, 69, 70, 71, 72	<i>S. castanea</i>
Sesquiterpènes carotanes	Carotane 73	<i>S. sclarea</i>
Sesquiterpènes caryophyllanes	Oxyde de caryophyllène 74	<i>S. sclarea</i>
Sesquiterpènes guaianes	Nubiol 75	<i>S. nubicola</i>
	Nubénolide 76	
	Nubenolideacetate 77	
Autres sesquiterpènes	β -eudesmol 78	<i>S. microphylla</i>
	8α -hydroxy- β -eudesmol 79	

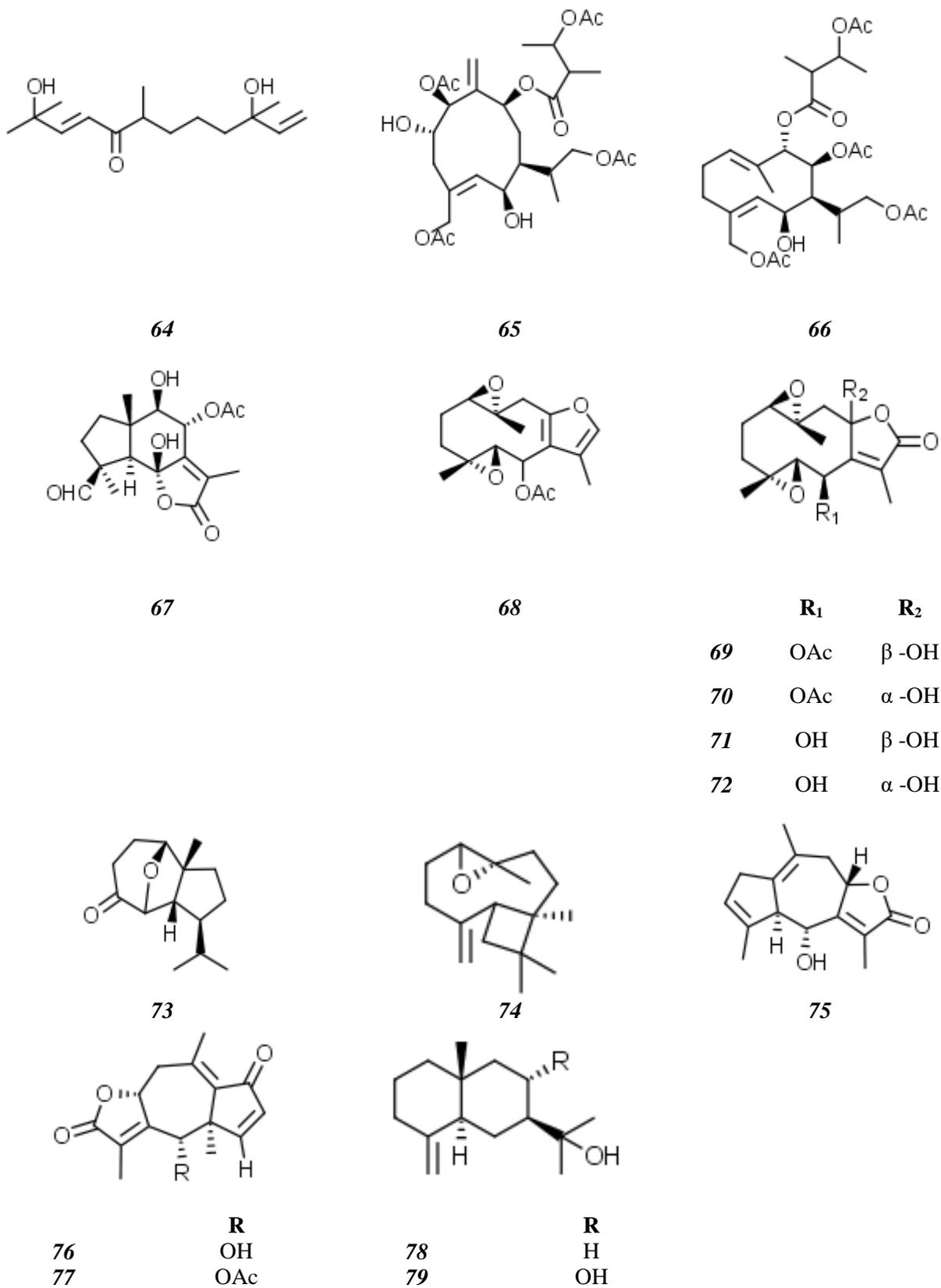


Figure 24 : Structures des sesquiterpénoïdes présents chez le genre *Salvia*.

Diterpénoïdes

La première étude sur les diterpénoïdes du genre *Salvia* remonte à 1928. Ce groupe représente environ 70% des constituants isolés à partir des espèces de ce genre. Depuis 1976, 545 diterpénoïdes de *Salvia* ont été identifiés. Selon leurs structures, les diterpénoïdes des sauges sont classés en cinq sous-groupes [58] :

- **Diterpénoïdes d'abiétane**

Les diterpénoïdes d'abiétane représente le plus grand groupe de composants des espèces du genre *Salvia*. Parmi les 545 diterpénoïdes de *Salvia*, 365 appartiennent à ce groupe. Ce groupe peut être divisé en 19 sous-groupes :

Tableau 14 : Diterpénoïdes d'abiétane présents chez le genre *Salvia* [58, 74, 75].

Métabolite secondaire	Source
Miltipolone 80	<i>S. castanea</i>
Sageone 81	<i>S. officinalis</i>
Ac trilobique 82, trilobinone 83	<i>S. triloba</i>
20-oxoinuroyleanol 84	<i>S. coulteri</i>
Candesalvone A 85	<i>S. candelabrum</i>
Hypargénine A, B, D, E, F 86, 87, 88, 89,90	<i>S. hypargeia</i>
7-hydroxytaxodione 91	<i>S. montbretii</i>
Carnosol (Picrosalvine) 38	<i>S. rubescens, S. canariensis</i> <i>S. chinopeplia, S. officinalis</i>
Piliferalactone 92	<i>S. pilifera</i>
7,20-époxyroyleanone 93	<i>S. napifolia</i>
Eriophoroxide 94	<i>S. eriophora</i>
Prionoïde A 95	<i>S. prionitis</i>
Przewalskine B, D 96, 97	<i>S. przewalskii</i>
4-déhydrosalvilimbinoïde 98	<i>S. limbata</i>
2 α -hydroxytaxodione 99	<i>S. texana</i>
Microstégioïde 100	<i>S. microstegia, S. prionitis</i>
Cryptanol 101	<i>S. cryptantha, S. cilicica, S. euphratica,</i> <i>S. pachystachys, S. wiedemannii</i>
Pomiférine F 102	<i>S. pomifera</i>
Royleanone 103	<i>S. anastomosans, S. fruticulosa, S. nutans,</i> <i>S. pachystachys, S. tomentosa, S. pratensis</i> <i>S. ringens</i>
Isocarnosol 104	<i>S. lanigera</i>
Rosmanoïde 105	<i>S. rubescens, S. blepharochlaena,</i> <i>S. officinalis, S. canariensis, S. pachyphylla</i>

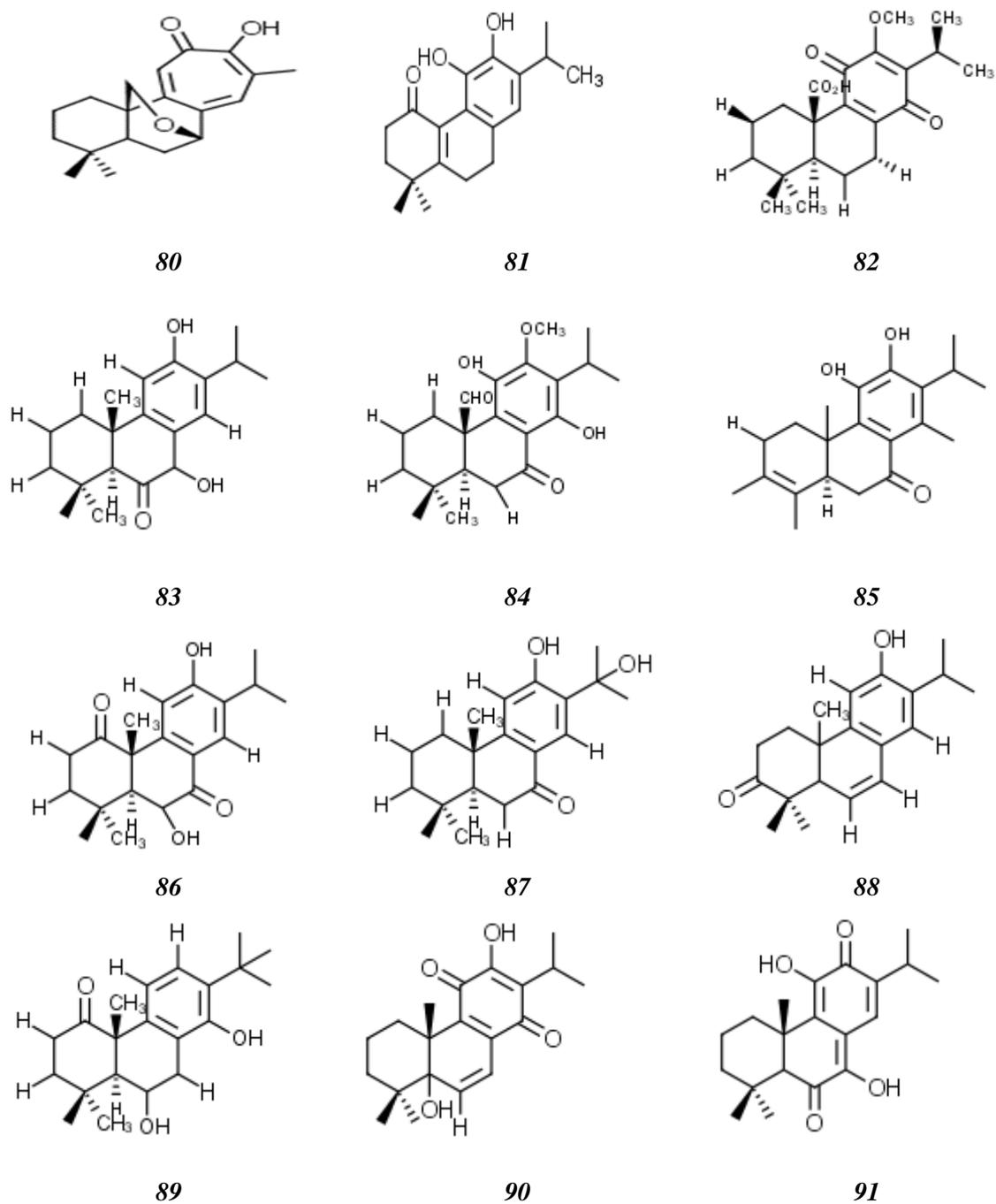


Figure 25 : Structures des diterpénoïdes d'abiétane présents chez le genre *Salvia*.

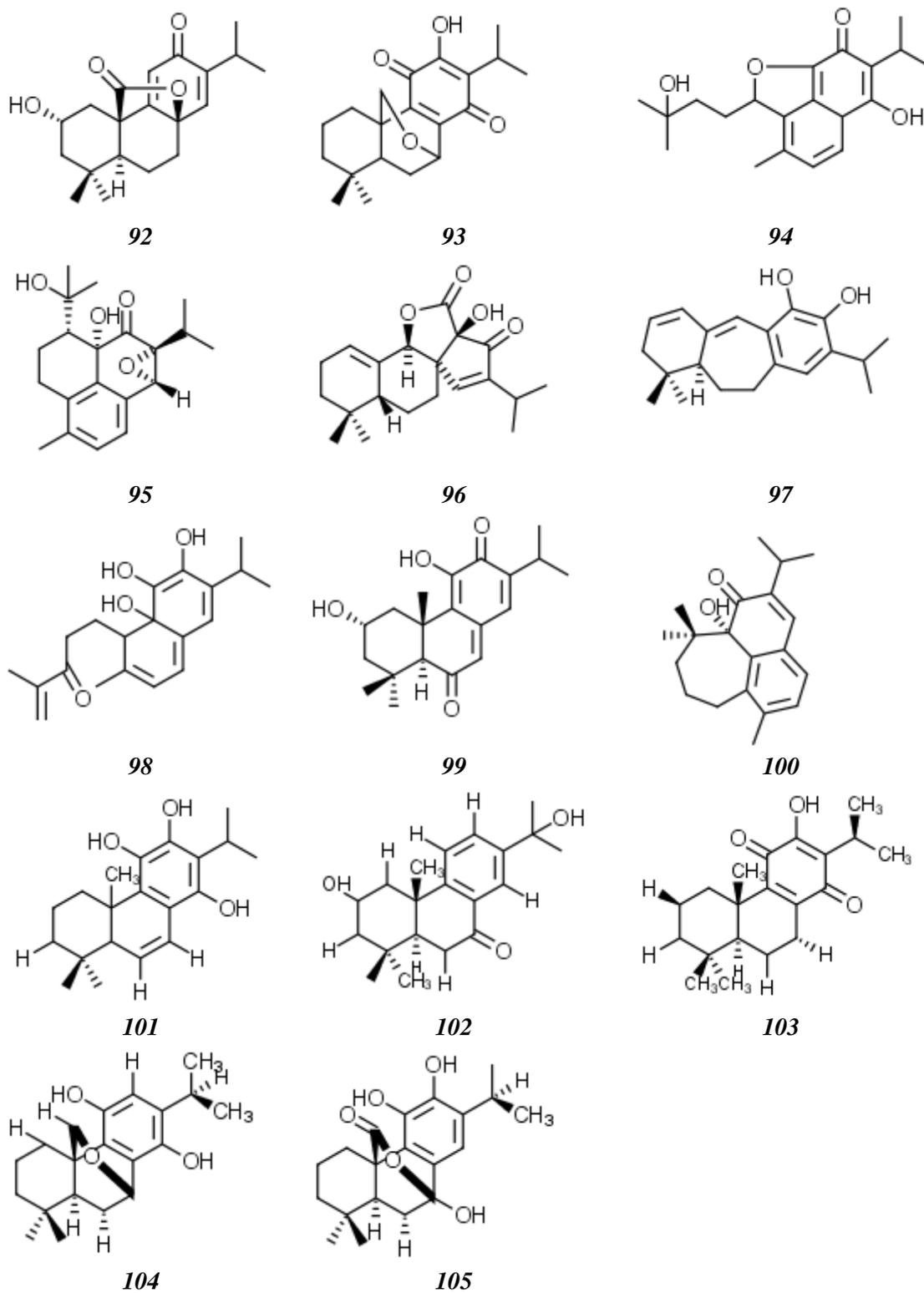


Figure 26 : Structures des diterpénoïdes d'abiétane présents chez le genre *Salvia*. (La suite)

- **Diterpénoïdes de clérodane**

Un total de 138 diterpénoïdes de clérodane, isolés à partir des espèces de *Salvia* ont montré une activité biologique. Selon leur structure, ce groupe est classé en 15 sous-groupes.[58]

Tableau 15 : Quelques diterpénoïdes de clérodane présents chez le genre *Salvia*. [58]

Métabolite secondaire	Source
6-methylcryptoacetalide 106	<i>S. aegyptiaca</i>
6-methyl-epi-cryptoacetalide 107	
Dichroanone 108	<i>S. dichroantha</i>
Divinatorine E 109	<i>S. divinorum</i>
Salvinicine (A, B) 110,111	
Salvinorine A 112	
Divinorine B 113	
Salvinorine C, D, E, F, G, H. 114, 115, 116, 117, 118, 119	

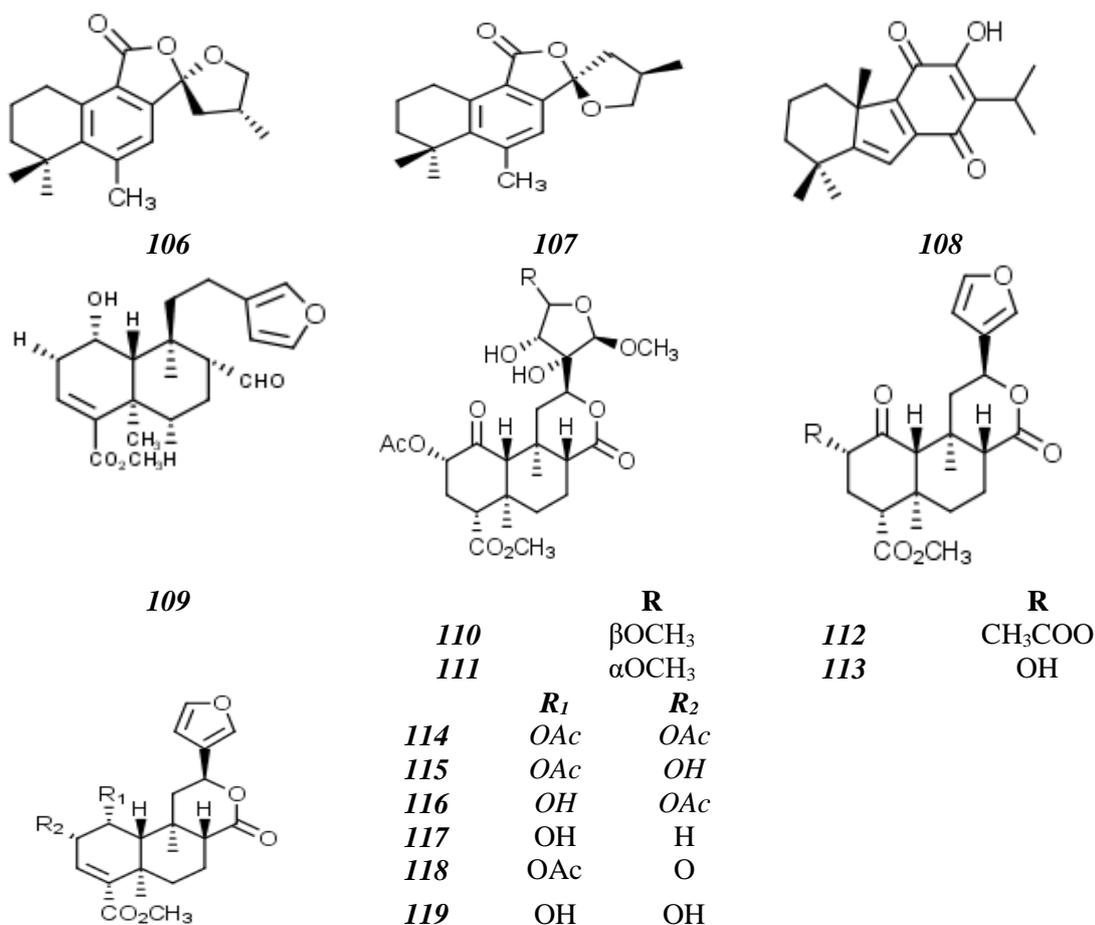


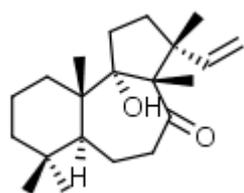
Figure 27 : Structures de quelques diterpénoïdes de clérodane présents chez le genre *Salvia*.

- **Diterpénoïdes de pimarane et de labdane**

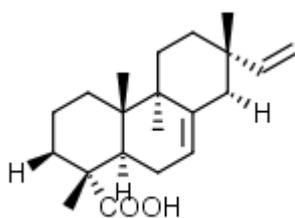
Ces deux types de diterpénoïdes sont plutôt rares chez les espèces du genre *Salvia* bien qu'ils soient retrouvés dans d'autres genres de la famille des Lamiacées.

Tableau 16 : Des diterpénoïdes de pimarane et de labdane présents chez le genre *Salvia*. [58]

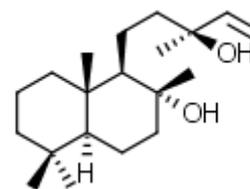
Métabolite secondaire	Source	
Diterpénoïdes de pimarane	Parryin <i>120</i>	<i>S. parryi</i>
	Acide isopimarique <i>121</i>	<i>S. greggi</i>
Diterpénoïdes de labdane	Sclaréol <i>122</i>	<i>S. sclarea</i>
	Manool <i>123</i>	<i>S. officinalis</i> <i>S. sclarea</i>



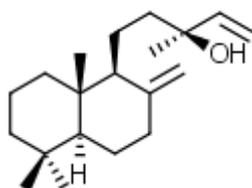
120



121



122



123

Figure 28 : Structures des diterpénoïdes de pimarane et de labdane présents chez le genre *Salvia*.

- **Autres diterpénoïdes**

On peut citer d'autres diterpénoïdes qui se trouvent chez le genre *Salvia* :

La salviolone *124* était isolé de *S. miltiorrhiza*, les deux composés salviatalin A *125* et salvitrijudin A *126* ont été isolés de *S. digitaloides*. [58]

La salvicine *127* est un diterpénoïde quinone était isolé de *S. prionitis*. [76]

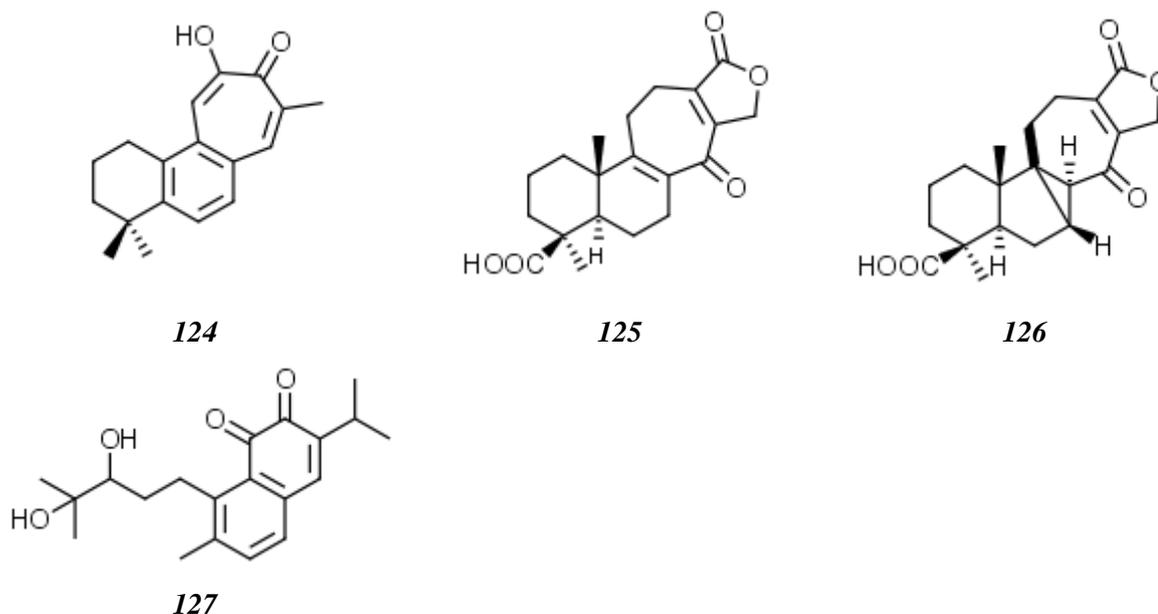
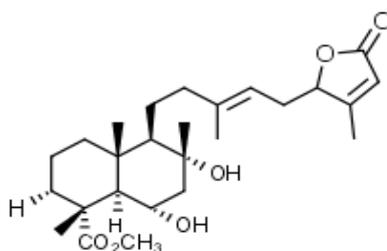


Figure 29 : Structures d'autres diterpénoïdes présents chez le genre *Salvia*.

Sesterterpénoïdes

Les sesterterpénoïdes proviennent généralement des parties aériennes des espèces du genre *Salvia* :

- Salvileucolide méthyl ester **128** qui a été isolé en tant que constituant principal des parties aériennes de *S. hypoleuca* et *S. sahendica*, deux espèces qui sont endémiques à l'Iran. [58]



128

Figure30 : Structure chimique de la salvileucolide méthyl ester.

- **Triterpénoïdes et Stéroïdes**

Les triterpénoïdes les plus couramment retrouvés chez presque toutes les espèces du genre *Salvia* sont des acides ursoliques et oléanoliques. Ces derniers ont été isolés à partir de *S. officinalis* en 1951. Dans les années qui ont suivies d'autres triterpénoïdes ont été isolés à partir de d'autres espèces de sauges. Selon leurs structures, ce groupe est classé en six sous-groupes.

Tableau 17 : Quelques triterpénoïdes présents chez le genre *Salvia*. [58]

Sous-groupes des triterpènes	Métabolite secondaire	Source
Triterpénoïdes type ursane	Acide ursolique 41	<i>S. officinalis</i>
	Acide oléanolique 42	
Triterpénoïdes type oléanane	Acide przewanoïque (A, B) 129, 130	<i>S. przewalskii</i>
Triterpénoïdes type lupane	Lupéol 131	<i>S. palaestina</i>
	Monogynol A 132	<i>S. macrochlamys</i>
Triterpénoïdes type dammarane	Salvilymitone 133	<i>S. hierosolymitana</i>
	Salvilymitol 134	
Stéroïdes	Brassicastérone 135	<i>S. multicaulis</i>
	Stigmast-4-en-3-one 136	<i>S. amplexicaulis</i>
Autres triterpénoïdes	Salvadiol Salvadione (A, B)	<i>S. bucharica</i>

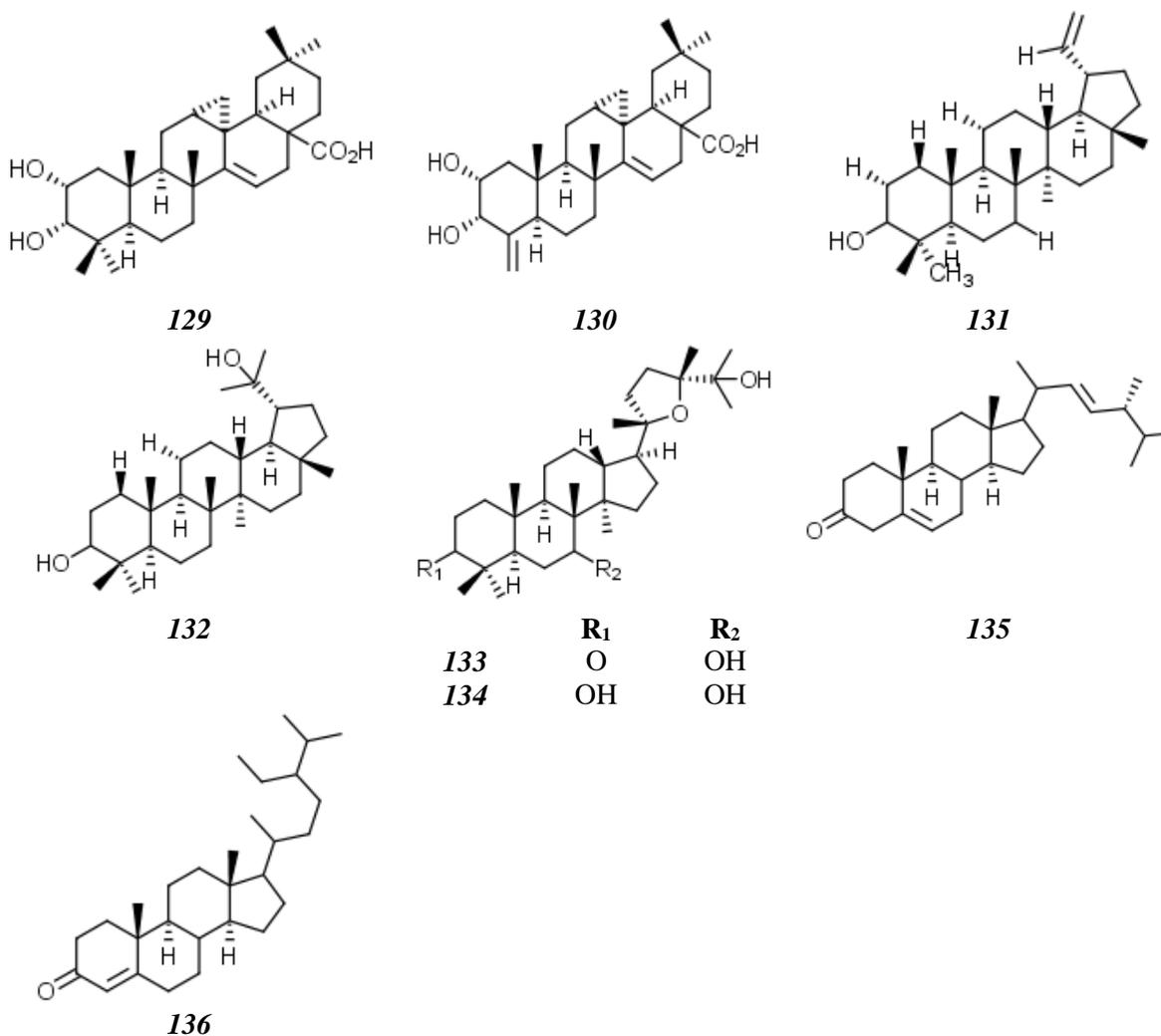


Figure 31 : Structures de quelques triterpénoïdes présents chez le genre *Salvia*.

II. 3. Phytochimie de l'espèce *Salvia Chudaei*

Une investigation chimique préliminaire des extraits de *S. Chudaei* a été entreprise et a permis de mettre en évidence de nombreux métabolites secondaires tel que : Les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins et polyphénols), les terpénoïdes, les saponosides, et les alcaloïdes. [77]

Dans une autre étude, le criblage phytochimique préliminaire d'extrait de *S. Chudaei* avait montré la présence des triterpènes, des saponines, des flavonoïdes et des tanins. Les alcaloïdes et les coumarines n'ont pas été détectés.[78]

L'analyse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de *S. Chudaei* a montré la présence de 58 constituants principalement représentés par des sesquiterpènes oxygénés (61,73%), suivis par des hydrocarbures de monoterpènes (30,65%).

Les principaux sesquiterpènes oxygénés étaient : le dillapiole qui représente le composé majoritaire de l'huile essentielle de *S. Chudaei* (43.18%), suivi par la myristicine (14.82%) ainsi que le bêta-Eudesmol. Alors que, l'alpha-Pinène (qui représente 7.82% de l'huile essentielle), l'alpha-Phellandrène, le limonene et le cis-Ocimène étaient les principaux monoterpènes hydrocarbonés. Le caryophyllène et germacrène D étaient les sesquiterpènes hydrocarbonés les plus importants.[79]

Chapitre III : Données sur l'usage thérapeutique de l'espèce *Salvia Chudaei*

III.1. Plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées est l'une des familles les plus importantes aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire (huile essentielle de la menthe poivrée est utilisée pour confiserie, chewing-gums), parfumer et en parfumerie qu'en thérapeutique.[80]

Plusieurs espèces de cette famille sont reconnues comme plantes médicinales et qui peuvent être citées dans le tableau :

Tableau 18 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des Lamiaceae

Nom en français	Nom scientifique	Usages thérapeutiques
Le romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Antiseptique, antispasmodique, anti-inflammatoire, diurétique, carminatif, stomachique. [41, 81]
Le thym	<i>Thymus vulgaris</i>	Anti-inflammatoire, fongicide, diurétique, expectorant, vermifuge, antispasmodique. [77]
La germendrée tomenteuse	<i>Teucrium polium</i>	Hypoglycémiant, diurétique, antipyrétique, diaphorétique, analgésique, tonic, antibactérien, anti-inflammatoire. [82]
La sarriette	<i>Satureja calamintha</i>	Stomachique, tonique, fébrifuge, sudorifique, anti-inflammatoire et antimicrobienne.[42]
La lavande	<i>Lavendula angustifolia</i>	Antibactérien, antiseptique, calmant. [85]
La mélisse	<i>Melissa officinalis</i>	Effet calmant en cas d'anxiété et de dépression, antispasmodique, antiviral, stimule la transpiration, cytotoxique, analgésique. [41]
Le basilic sacré	<i>Ocimum sanctum</i>	Antimicrobien, anti-inflammatoire, anti-rhume, antiseptique, antispasmodique, soulage les démangeaisons et les migraines d'origine gastrique ou nerveuse. [83, 84]
Le marrube blanc	<i>Marrubium vulgare</i>	Expectorant, antispasmodique, antidiabétique, traitement des difficultés respiratoires et de dyspepsie.[41]
L'origan	<i>Origanum vulgare</i>	Traitement de la toux et les troubles digestifs, antifongique, antibactérien, antioxydant, anti-lithiasique, antispasmodique, soulage les douleurs dentaires et articulaires. [41, 42]
La menthe pouliot	<i>Mentha pulegium</i>	Traitement de froid, de l'intoxication, de la sinusite, de choléra, de la bronchite et de la tuberculose, insecticide, antibactérien.[42]
La bugle rampante	<i>Ajuga reptans</i>	Action cicatrisante, calmante, laxatif doux.[85]
La sauge officinale	<i>Salvia officinalis</i>	Astringent, antiseptique, tonique nerveux, antioxydant, facilite la digestion gastrique, stimulant hormonal, Antisudorale.[86]

III.2. Pharmacologie du genre *Salvia*

Une recherche effectuée sur ScienceDirect avec le terme "Pharmacology of *Salvia* species " nous a donné 2422 références (dont 404 sur PubMed).

Pendant longtemps, les espèces *Salvia* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour soulager la douleur, protéger le corps contre le stress oxydatif, l'angiogenèse, l'inflammation, les infections bactériennes et virales, etc. Plusieurs études suggèrent que ces espèces peuvent être employées pour le développement des médicaments en raison de leurs activités pharmacologiques et thérapeutiques. [87]

-Activité antiinflammatoire et antioxydante :

Ces propriétés pharmacologiques sont présentées par différentes espèces de sauge comme *S. officinalis*, *S. aegyptiaca*, et *S. limbata*. L'activité antioxydante due principalement à un diterpénoïde s'appelé Carnosol **38**. La *S. mellifera* présente aussi des activités antioxydantes liées à un autre diterpénoïde Royleanone **103**. La teneur en phénoliques totaux et en flavonoïdes de contribue à l'augmentation cette activité. [71, 88, 58, 87]

-Activité anticancéreuse et antimutagène :

Elle est due à l'action des huiles essentielles de *S. officinalis* et ses principaux constituants contre les cellules tumorales hormono-dépendantes. *S. prionitis* présente une activité anti tumorale due à un diterpène quinone Salvicine **127**. [76, 89]

-Activité antimicrobienne et antiparasitaire :

L'activité antivirale du *S. officinalis* est liée à un diterpénoïde Segenone **81** contre le VSV et HSV, ainsi qu'une activité antiparasitaire. Le Przewalskine **B96** est isolé de *S. przewalskii* porte une activité anti-HIV. [58, 88]

S. prionitis présente une activité antimicrobienne contre deux organismes le *Staphylococcus aureus* et le *Micrococcus luteus*. [58, 76]

Les espèces *S. microstegia*, et *S. hypargeia* ont une activité antibactérienne grâce à un diterpénoïde le Microstegiol **100**. Les composés de *S. leriaefolia* sont avérés qu'ils possèdent une activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus*.

S. sclarea et *S. tementosa* présentent une activité sur certains parasites tel que le genre *Trypanosoma*, *Leishmania spp*, et *Plasmodium falciparum*. *S. cryptantha* avec présente une activité antileishmanienne grâce à un diterpénoïde le Cryptanol **101**. [58, 90]

-Activité cardiovasculaire, immunitaire, hépatique, et rénale :

Les espèces *Salvia* chinoises (*S. miltiorrhiza*, *S. przewalskii*, et *S. japonica*) ont de multiples activités biologiques principalement axées sur le système cardiovasculaire, immunitaire, hépatique, et rénal grâce aux constituants bioactifs, tels que l'acide salvianolique B et l'acide lithospermique. [69]

-Activités sur le système nerveux :

Plusieurs composés dérivés de *S. miltiorrhiza* ont été proposés comme cible thérapeutique de la maladie d'Alzheimer.[91]

Le principal composant responsable de l'effet psychoactif de l'espèce *S. divinorum* est un diterpène appelé salvinorine A **112** qui présente un mode d'action et une pharmacologie unique. Il exerce une activité d'agoniste puissante et sélective au niveau des sous-types de récepteurs opioïdes kappa. Celle-ci est essentiellement responsable de l'effet hallucinogène de la drogue. Un effet antidépresseur de la salvinorine A **112** a été démontré.[92]

S. officinalis présente des effets cognitifs et améliorants de la mémoire.[93]

Tableau 19 : Activités pharmacologiques des principaux groupes de métabolites isolés des plantes du genre *Salvia*.

Métabolites secondaires	Activité pharmacologique	Réf
Les diterpènes	Anti-inflammatoire	[94]
	Antioxydante (Royleanone)	[74]
	Antibactérienne et cytotoxique (Carnosol)	
	Antivirale (Sageone, Przewalskine B)	
	Antileishmanienne (Cryptanol)	[58]
	Sédative et myorelaxante	[95]
Les acides phénols	Curative sur le système cardiovasculaire	
	Activité protectrice sur le foie	
	Activités antitumorales	
	Antioxydante	
	Antivirale	
	Anti-maladie d'Alzheimer	[69]
Les flavonoïdes	Antioxydante	[58]
Les coumarines	Anti-inflammatoire	
	Antimicrobienne	
	Anticancéreuse	[96]

III. 3. Usage traditionnelle de *Salvia Chudaei*

Salvia Chudaei est utilisée dans les habitudes culinaires des Touaregs, mais aussi dans la médecine traditionnelle :

En usage interne : sous forme de poudre (décoction) pour le traitement des rhumatismes, des douleurs musculaires, des maladies vénériennes et pour soulager les ulcères d'estomac et les brûlures mictionnelles, une infusion de cette plante est très efficace dans le cas de la contre dysménorrhée, la gonorrhée, les douleurs abdominales, les spasmes, l'aérophagie et le gargouillement. [97, 98, 99]

En usage externe : sous forme de cataplasme pour le traitement des coups de soleil.

Elle est également utilisée dans l'alimentation, comme condiment, ajoutée à la viande ou aux bouillies de mil, ainsi qu'elle aromatise agréablement le thé des Touaregs. [99, 100]

Dr BOUKHALFA a montré l'importance de *Salvia Chudaei* comme une plante douée d'activité antiseptique, antibactérienne, antioxydante et hypoglycémiant par l'utilisation de son huile essentielle dans plusieurs tests biologiques. [99]

Chapitre IV : Rappel sur la technique de UPLC-MS

IV. 1. La chromatographie liquide LC

La chromatographie en phase liquide est une technique analytique séparative, relativement universelle qui permet de séparer des mélanges complexes avec une excellente résolution.

Son principe repose sur la séparation de composés entraînés par un liquide (phase mobile) à travers un solide devisé (phase stationnaire). [103, 104, 105]

De façon générale, la phase mobile circule à travers la phase stationnaire en entraînant avec elle les différents composants de l'échantillon. Les composés, selon leurs propriétés physicochimiques et leurs affinités avec la phase mobile et la phase stationnaire, vont éluer à différents temps de rétention ce qui permet de séparer les composés d'un même échantillon. Plus les interactions entre les composés et la phase stationnaire sont importantes et plus le composé éluera tardivement. À l'inverse, plus les interactions sont faibles et plus le composé éluera rapidement.

Une HPLC a 5 composants majeurs :

- Un système de pompes qui permet de faire circuler les phases mobiles à l'intérieur de la HPLC et permet de réguler la vitesse du flux (ml/min) des phases mobiles.
- Une colonne ou phase stationnaire qui permet de séparer les composants d'un mélange en fonction de la polarité de la colonne et des composés et des interactions colonne-composés qui se forment suivant l'injection de l'échantillon.
- Un échantillonneur automatique qui permet l'injection automatique des échantillons à travers le système.
- Différents types de détecteurs existent tels que des détecteurs ultraviolet (UV), fluorescence ou avec un spectromètre de masse (MS).
- Un système de traitement des données : l'analyse des données se fait à partir d'un logiciel sur un ordinateur qui donne des informations sur les temps de rétention des différents composés et également, permettra l'extrapolation des quantités mesurées de chacun des composés.[101]

IV. 1. La spectrométrie de masse

Est une technique analytique très puissante qui permet la détermination de la masse moléculaire des composés analysés, ainsi que leur identification et leur quantification. Cette détermination n'est obtenue que pour les analytes ayant subi une ionisation par un bombardement électronique. Ensuite une projection de ces ions formés dans le vide soumise à l'action d'un champ magnétique. Cela permet de calculer le rapport m/z et de la détection des ions.[101]

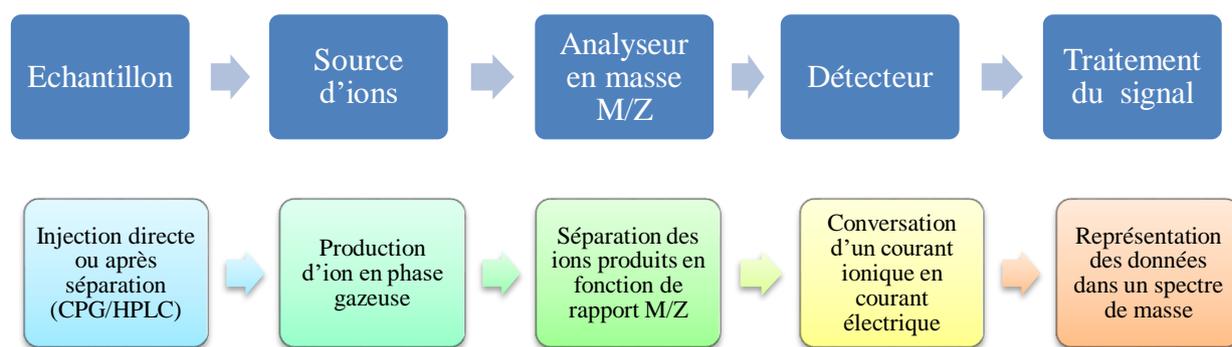


Figure32 : Principales étapes de fonctionnement d'un spectromètre de masse.

IV. 2. Technique de couplage avec la chromatographie en phase liquide

Le couplage à la spectrométrie de masse rend l'outil précieux car il permet de séparer (chromatographie) et d'identifier (spectrométrie de masse) simultanément les différents constituants d'un mélange. [104]

Cette technique permet de séparer les isobares et les isomères, de limiter la suppression d'ionisation et contrairement à la GC-MS, elle est utilisée pour l'analyse de composés non volatiles et thermosensibles. [106]

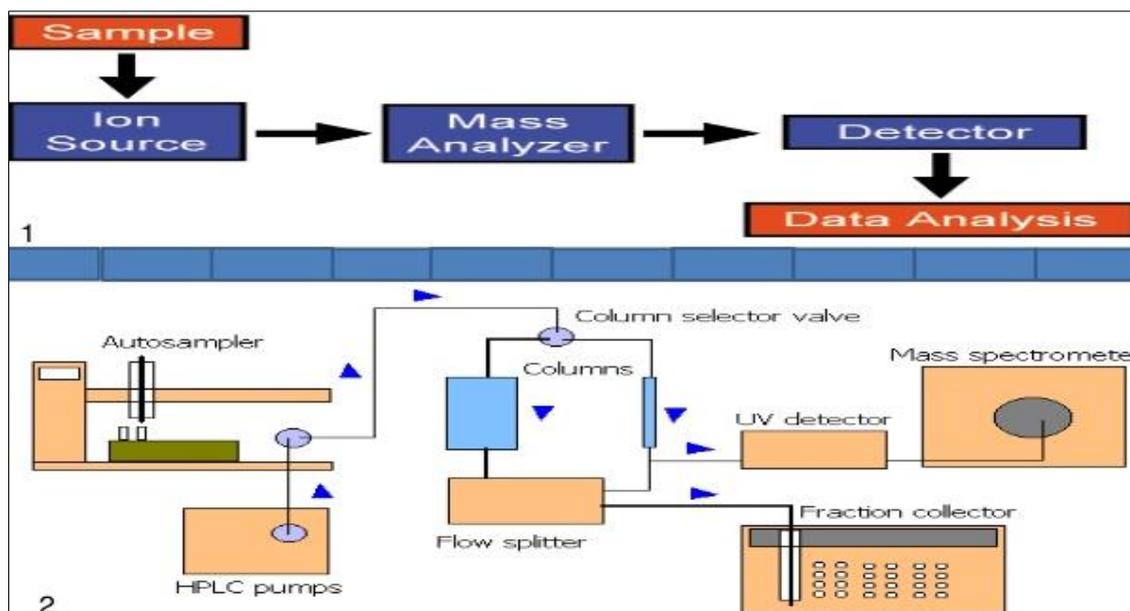


Figure 33 : Les composants de la technique LC-SM.[106]

-Production des ions :

Les sources d'ionisation visent à ioniser les composés avant de les envoyer dans le détecteur.

En fonction des molécules à séparer on a :

- ESI ou electrospray, la plus utilisée en couplage LC-SM permet de produire des ions à partir d'un composé en solution sous l'effet d'un champ électrique, des gouttelettes chargées sont émises et diminuent en taille avec l'évaporation de la solution, la tension des charges superficielles augmente jusqu'au moment où la goutte explore. Il y'a alors transfert de la charge vers le soluté.[104]
- APCI (atmospheric pressure chemical ionisation) avec chambre fermée (molécules mono-chargées), très proche de la source Electro spray dans son utilisation et l'ionisation engendre également une protonation ou une déprotonation de la molécule.[103]

- L'interface :

Le but est d'éliminer le maximum de neutres avant l'analyseur par le transfert des ions de la source à l'analyseur. [103]

- L'analyseur :

Sépare les ions en fonction de rapport m/z , les analyseurs peuvent être différencier selon plusieurs critères comme la résolution, la technique de dissociation des ions et la géométrie intrinsèque, par exemple : l'analyseur du temps de vol est connu pour sa forte sensibilité, leur principe repose sur l'accélération des ions par un champs électrique ensuite ces ions acquièrent une vitesse différente. La corrélation du temps de vol au rapport m/z permet la mesure de la masse.[108]

Deuxième partie

Étude pratique (Expérimentale)

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. 1. Matériel végétal

C'est la partie aérienne de la sauge du Sahara (*Salvia Chudaei*) espèce endémique des hautes montagnes du Sahara central (Hoggar, Tibesti). Une monographie de la plante est présentée en **Annexe 2**.

I. 1. 1. Critères de choix de la plante collectée

Ce choix est basé sur trois critères :

✓ Critère géobotanique et organoleptique

Afin de valoriser une plante endémique et aromatique du Hoggar, située entre 1200 et 2000 mètres par petites colonies, dans les lits d'oueds sablonneux et graveleux cette espèce originale du Sahara central a trouvé un climat un peu tempéré dans ces altitudes.

✓ Critère chimio taxonomique

Les espèces du genre *Salvia* ont fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques, donc notre espèce *Salvia Chudaei* qui est utilisée dans la médecine traditionnelle des Touarag est probablement renferme des composés qui ont une activité pharmacologique.

✓ Critère ethnobotanique

Plusieurs utilisations médicinales traditionnelles et culinaires de cette sauge sauvage sont connues chez les Touarag à Tamanrasset. Ce pouvoir pharmacologique peut être confirmé, si on prouve la présence de certains composés.

I. 1. 2. Conditions d'échantillonnage de la plante collectée

I. 1. 2. 1. Identification botanique de l'espèce étudiée

Pour s'assurer de l'identité botanique de nos échantillons collectés, nous les avons non seulement comparés avec des spécimens présents au niveau de l'herbarium de l'Office National du parc culturel de l'Ahaggar (ONPCA), mais aussi nous nous sommes basés sur les clés mentionnées dans les flores, tel que :

- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Quezel & Santa, 1963) ;[18]
- Flore du Sahara (Ozenda, 1977).[19]

Ces ouvrages proposent des clés d'identification permettant de lier les caractères morpho-anatomique de la plante aux données botaniques théoriques. Ces clés d'identification sont décrites en annexe.

Cette identification a été confirmée par un spécialiste de parc M.Belghoul (chef de département des études et de développement du patrimoine naturel d'ONPCA).

I. 1. 2. 2. Protocole de collecte

A partir de chaque plant de *Salvia Chudaei*, seulement 10 à 15% des parties aériennes arrivées à maturité et ne présentant aucun signe de nécrose ou de dessèchement ont été récoltées.

Une autorisation de prélèvement de la part des autorités du parc a été obtenu par notre encadrant Dr M.K. DALI YAHIA.

I. 1. 2. 3. Zone de collecte

Le Parc Culturel de l'Ahaggar (PCA) est situé à l'extrême sud de l'Algérie Wilaya de Tamanrasset. La principale station de collecte est située à une trentaine de kilomètres au nord-est de la ville de Tamanrasset.



Figure 34 : Situation géographique de la zone de collecte.

Tableau 20 : Cordonnés GPS du site de collecte de l'espèce *Salvia Chudaei*.

Plante	Site	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Est)
<i>Salvia Chudaei</i>	Oued Ahananer (40 Km Est au nord-est de Tamanrasset)	1590	22°54'28''	05°39'36''

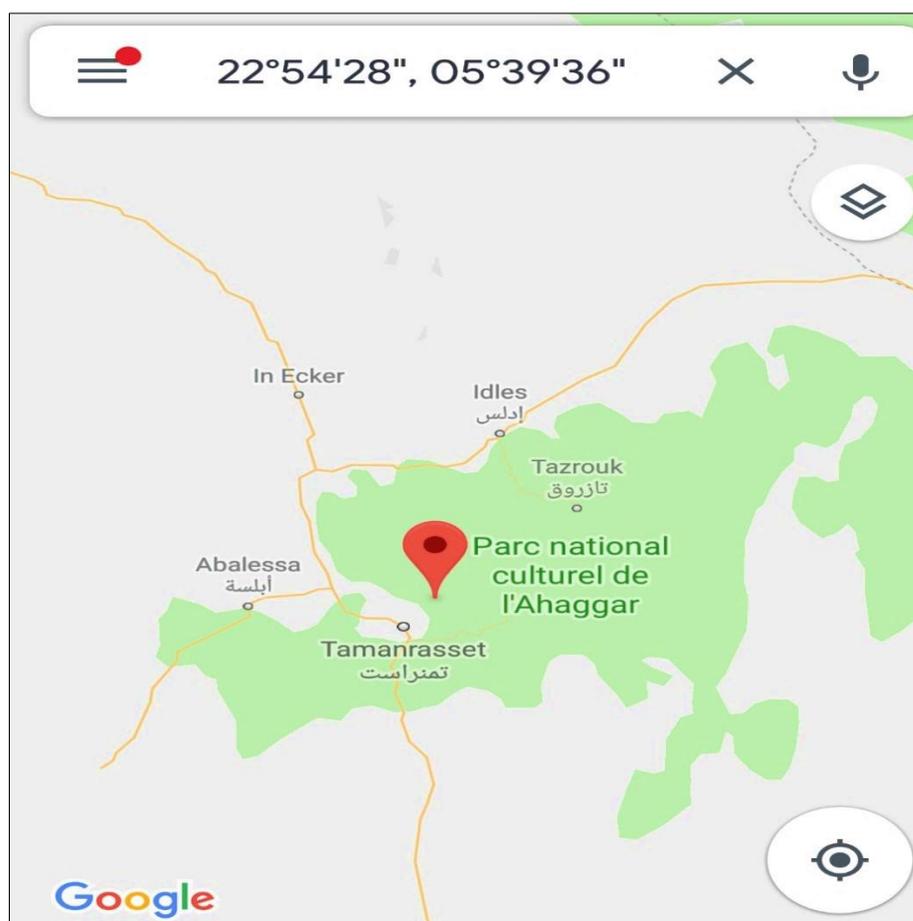


Figure 35 : Situation géographique de l'espèce *Salvia Chudaei*.

I. 1. 2. 4. Période de collecte

L'échantillonnage des parties aériennes de la plante a été effectué au moment de la floraison par notre encadrant Dr M.K. DALI YAHIA. Cette collecte s'est étalée sur plusieurs années de 2013 à 2017.

I. 1. 3. Séchage de l'échantillon végétal

Le séchage des parties aériennes de la plante est réalisé à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

I. 2. Préparation des échantillons pour les coupes histologiques

Quelques échantillons de feuilles, de tiges et de pièces florales ont été fixés dans un mélange d'alcool et de glycérine (1 :1) avant de servir pour la préparation de coupes histologiques.

I. 2. 1. Coloration

Elle s'est faite selon la démarche suivante : d'abord, un passage dans l'eau de javel pendant ½ h. Ensuite un passage pendant 1 min dans l'acide acétique puis dans le vert d'iode pendant 20 sec. Et enfin dans le rouge carmin pendant 8 min. Un lavage avec l'eau distillée doit être s'effectuer entre ces étapes.

I. 2. 2. Technique d'observation des caractères microscopiques des coupes histologiques

Nous prélevons les coupes histologiques les plus fines à l'aide d'une pincette sur une lame en ajoutant une goutte de la glycérine avant de les recouvrir d'une lamelle. Puis, l'examen au microscope optique au grossissement $\times 10$ et $\times 40$.

I. 3. Préparation des poudres végétales

I. 3. 1. Broyage

Avant le broyage complet (au moulin à café) de tous les échantillons collectés, des organes tel que les tiges, feuilles, et fleurs sont pulvérisés (au mortier) séparément afin d'étudier leurs caractères microscopiques.

I. 3. 2. Technique d'observation des caractères microscopiques des poudres végétales

Nous prélevons un échantillon de poudre végétale à l'aide d'un cure-dent sur une lame en ajoutant une goutte du réactif de Gazet du Chatelier avant de le recouvrir d'une lamelle. Puis, l'examen au microscope optique au grossissement $\times 10$ et $\times 40$.

I. 4. Analyse physico-chimique

I. 4. 1. Screening phytochimique

I. 4. 1. 1. Préparation des extraits

Pour l'analyse physico-chimique, quatre extraits différents ont été préparés à partir de la poudre de la partie aérienne : extrait dans l'eau, extrait dans un mélange eau-méthanol (1 :1), extrait dans un mélange méthanol-dichlorométhane (2 :1) et enfin un extrait dans le dichlorométhane seul.

La poudre de la partie aérienne de *Salvia Chudaei* a été délayée dans 40 ml de chaque solvant ou mélange de solvants selon un rapport 2/40 (p/v). Les mélanges ainsi obtenus ont été laissés macérer pendant au moins 24 H à température ambiante avec agitation de temps en temps.

Une filtration a été effectuée par la suite, et le solvant a été laissé évaporer à l'air libre afin de permettre la réduction du volume et l'augmentation de la concentration des différents extraits.

I. 4. 1. 2. Protocole

Le screening phytochimique préliminaire est basé sur diverses réactions de coloration ou de fluorescence. Nous avons caractérisé les alcaloïdes à partir des extraits acidifiés grâce aux réactifs de Bouchardat, Dragendorff et Mayer. La solution alcoolique de chlorure ferrique à 10 % a permis la caractérisation des polyphénols. La recherche des tanins catéchiques a été possible grâce au réactif de Stiasny et à l'acétate de sodium. Pour la caractérisation des tanins galliques, nous avons employé le réactif de Stiasny, l'acétate de sodium et du chlorure ferrique. L'acide chlorhydrique et les rognures de magnésium ont été utilisés pour rechercher les flavonoïdes. L'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré (Réactif de Libermann-Burchard) ont été nécessaires à la recherche des stérols et des triterpènes. L'ammoniaque à 25% a permis de mettre en évidence la présence des coumarines.

Tous les essais de caractérisation suivants ont été appliqués sur les quatre extraits sauf dans les cas des saponosides où l'indice de mousse a été calculé à partir de la poudre.

➤ **Caractérisation des alcaloïdes**

Introduire 2 ml de chaque extrait dans un erlenmeyer, ajouter 10 ml d'acide sulfurique dilué à 5%. Agiter et laisser reposer pendant quelques minutes. Répartir ensuite sur 3 tubes :

- Au 1er : ajouter quelques gouttes du réactif de Mayer.
- Au 2ème : ajouter quelques gouttes du réactif de Bouchardat
- Au 3ème : ajouter quelques gouttes du réactif de Dragendorff.

Les résultats sont évalués comme suit :

- Présence de précipité : +
- Absence de précipité : -

➤ **Caractérisation des polyphénols (Réaction générale des polyphénols)**

A 1 ml de chaque extrait ajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 10%. En présence de polyphénols, il se développe une coloration verte à bleu-noirâtre.

Caractérisation des Tanins

A 1 ml de chaque extrait, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny puis chauffer au bain-marie pendant 30 minutes.

- ✓ Si aucun précipité n'apparaît, alors que la coloration au FeCl_3 est positive, la drogue ne renferme que des tanins galliques ;
- ✓ L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre signe la présence de tanins condensés.

Dans ce dernier cas, on confirme, dans un second temps, la présence concomitante ou non de tanins galliques. Pour cela, il suffit de :

Filtrer et saturer le filtrat avec 10 ml d'une solution d'acétate de sodium pulvérisée puis ajouter quelques gouttes de solution de FeCl_3 à 10%.

Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

Caractérisation des Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine :

5 ml de chaque extrait est transvasé dans une capsule et évaporé à sec. Le résidu sec est alors repris par environ 5 ml d'eau distillée chaude.

A l'extrait aqueux ainsi obtenu, ajouter 3 ml d'un mélange d'acétate d'éthyl-butanol (3V-2V), agiter, laisser décanter puis prélever la phase organique dans un autre tube.

Ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique et 1 à 2 rognures de magnésium.

L'observation d'une coloration rouge violacée indique la présence de flavonoïdes.

➤ **Caractérisation des coumarines**

Evaporer 5 ml de chaque extrait dans une capsule et à l'air libre. Ajouter au résidu 2 ml d'eau chaude, partager la solution entre deux tubes à essais et ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml d'ammoniaque à 25%. Mélanger et observer la fluorescence sous lumière UV à 365nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

➤ **Caractérisation des triterpènes et stérols**

Les triterpènes et les stérols ont été recherchés par la réaction de Liebermann-Burchard :

A 5 ml du chacun des quatre extraits ajouter 5 gouttes d'acétate basique de plomb. Ensuite, ajouter 5 ml de chloroforme. Après agitation, laisser reposer et soutirer le chloroforme qui sera évaporé prudemment.

Au résidu d'évaporation, ajouter quelques gouttes d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré en refroidissant.

L'apparition d'une coloration rouge brunâtre qui a passé après quelques instants au vert olive indiqué une réaction positive.

➤ **Caractérisation des saponosides**

Calcul de l'indice de mousse :

A partir de la poudre on a préparé un décoté à 1% ensuite une série de dilution. Chaque tube était agité pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 15 minutes. On calcule l'indice de mousse à partir du tube qui présente une hauteur de mousse égale à 1 cm.

I. 4. 2. Analyse par Chromatographie sur couche mince

I. 4. 2. 1. Préparation des extraits

Dans cette étape nous avons utilisé les mêmes extraits précédemment préparés à l'exception de l'extrait aqueux.

I. 4. 2. 2. Principe

La chromatographie sur couche mince est utilisée couramment en phytochimie comme une simple technique d'analyse qui permet un suivi et un contrôle lors des différentes étapes du fractionnement et de purification, ainsi qu'une vérification de la présence et de l'état de pureté des produits suivis ; ce qui permet de rassembler judicieusement les fractions récoltées.

Cette technique est réalisée en phase normale sur des plaques d'aluminium recouvertes d'un gel de silice de type Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck KGaA). Le développement des plaques est assuré dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié qu'on appelle « phase mobile ». L'éluant soit un solvant ou un mélange de solvants selon le type de séparation souhaitée.

L'examen des chromatogrammes s'effectue en lumière visible et sous lumière ultraviolette (254 et 365 nm) avant et après pulvérisation d'un réactif révélateur approprié sur la plaque.

I. 4. 2. 3. Protocole

Sur des plaques découpées aux dimensions voulues (12 x 2 cm), les extraits à chromatographier sont déposés en spots à l'aide d'embouts à micropipettes. On dépose cinq spots (l'une sur l'autre) d'un même extrait sur la plaque et à chaque fois on laisse le spot se sécher à l'air libre. Ces spots sont situés au milieu d'un trait dessiné à 1 cm du bord inférieur de la plaque.

Les plaques précédemment préparées seront placées verticalement dans une cuve à chromatographier préalablement saturée par les vapeurs du solvant de migration.

On utilise deux éluants différents : cyclohexane/acétate d'éthyle (2 :3) à polarité = 0,36 et méthanol/acétate d'éthyle (1 :9) à polarité = 0,61 ; le deuxième étant à polarité plus importante, permettra la migration de substance polaires non élues par le premier solvant de migration.

C'est une migration ascendante qui sera arrêtée quand le front de migration du solvant arrive à 1 cm du bord supérieur de la plaque. Cette dernière sera retirée de la cuve, puis séchée au moyen d'un séchoir à main.

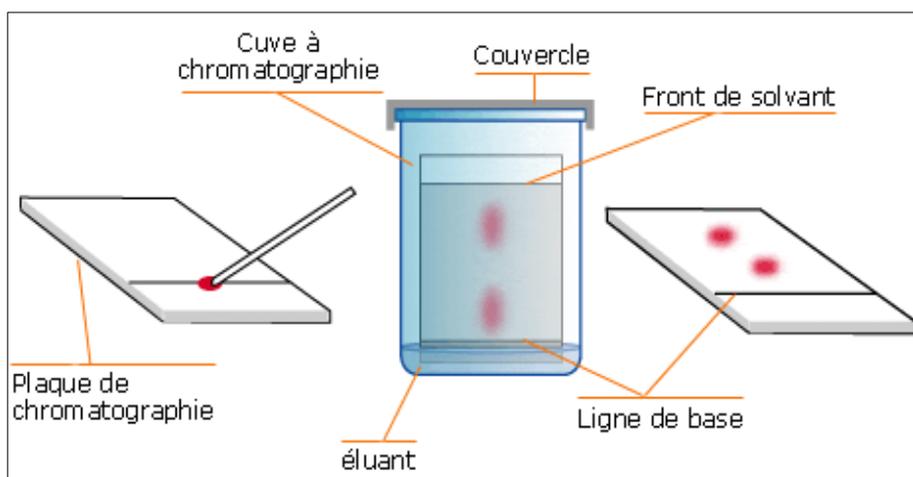
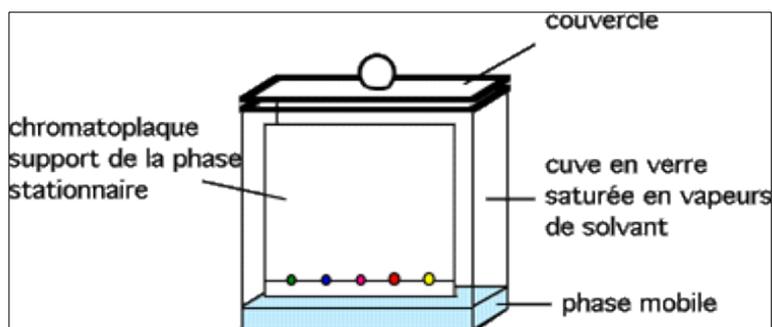


Figure 36 : matériels nécessaires pour une CCM. [109, 110]

I. 4. 2. 4. Principaux réactifs utilisés pour la révélation des chromatogrammes

La révélation des chromatogrammes s'effectue par plusieurs méthodes :

- ✓ Examen des plaques au visible.
- ✓ Examen des spots en lumière ultra-violette sous une longueur d'onde égale à 254 et à 365 nm.
- ✓ Révélation par pulvérisation sur la plaque du réactif à la vanilline sulfurique et chauffage pendant dix minutes suivies d'un examen des spots au visible.
- ✓ Révélation par le réactif de Dragendorff au visible.
- ✓ Révélation par le perchlorure ferrique (Fe Cl_3) au visible.
- ✓ Révélation par la potasse alcoolique (KOH) et examen au visible et sous lumière UV à 365 nm.
- ✓ Révélation par le réactif de Liebermann au visible.
- ✓ Révélation par le réactif de Neu et examen à la lumière UV à 365 nm.

Le tableau ci-dessous résume les différents types de révélation utilisés :

Tableau 21 : Moyens de révélation en CCM.

Révélation	Observations	Composés mis en évidence
UV 254 nm	Extinction de fluorescence (taches sombres)	Substances à doubles liaisons conjuguées
	Fluorescence bleu intense ou bleu-vert	Coumarines simples
UV 365 nm	Fluorescence jaune, marron, bleu ou bleu-vert	Furano- et pyranocoumarines
	Fluorescence jaune foncé, vert ou bleu	Flavonoïdes
	Fluorescence bleue	Acide caféique et dérivés / Isoflavones
	Fluorescence moins intense	Chromones
Vanilline sulfurique (Visible)	Taches bleues, vertes, rouges et marron	Terpénoïdes (mono-, di-, tri-, sesquiterpènes, sesquiterpènes lactoniques, iridoïdes)
	Taches bleu/ bleu-violet parfois rouge/jaune marron	Saponines
	Taches rouges	Lignanes
Libermann-Burchard	Taches roses/pourpres	Triterpènes
	Taches bleu-vert	Stéroïdes (saponines)
	Taches marron foncé / gris clair	Lactones sesquiterpéniques
Neu - UV 365 nm	Fluorescence jaune intense	Anthrones et anthranols
	Intensification et stabilisation de la fluorescence	Coumarines
	Fluorescence bleu ou bleu-vert	Acides phénols (acides chlorogénique ou caféique et dérivés)
	Fluorescence jaune orangé, jaune verdâtre	Flavonols
Dragendorff	Fluorescence orange ou jaune-vert	Flavones
	Taches orange	Alcaloïdes
FecL ₃ 10%	Taches jaune-vert à jaune-brun	Principes amers
	Taches bleu/vert noirâtre	Tanins
	Taches vert noirâtre	Flavonoïdes
UV 365 nm	Intensification de la fluorescence	Coumarines simples, furano- et pyranocoumarines
	Fluorescence jaune-vert	Coumarines non substituées
	Fluorescence rouge	Naphtoquinones, anthraquinones
	Fluorescence jaune vif	Anthrones et anthranols
	Taches jaune vif	Flavonoïdes
KOH Visible	Taches rouges	Anthraquinones
	Taches jaunes	Anthrones et anthranols
	Taches rouge-brun	Naphtoquinones

I. 5. Analyse par UPLC-MS

Les analyses par l'UPLC-MS ont été effectuées en 2014 par notre encadrant Dr M.K. DALI YAHIA au sein du laboratoire de la pharmacognosie (UMR-CNRS 8638 COMETE) de la Faculté de Pharmacie de Paris, à l'aide d'un spectromètre de masse ZQ 2000 Waters (Saint-Quentin, France).

I. 5. 1. Préparation des extraits

Les échantillons utilisés pour cette analyse sont constitués par deux extraits bruts l'un méthanolique et l'autre à l'acétate d'éthyle.

La même poudre a été extrait pour la première fois par le méthanol. Puis, une filtration s'applique suivi d'un épuisement par l'acétate d'éthyle.

I. 5. 2. Principe

C'est une méthode analytique qui associe une variante améliorée de l'HPLC à un spectromètre de masse. Elle est utilisée pour l'élucidation structurale et pour la quantification de produits naturels. Elle comporte deux étapes :

- La 1^{ère} étape : La séparation des composés de l'échantillon à travers une colonne chromatographique.
- La 2^{ème} étape : La détection des composés par spectrométrie de masse, technique physique d'analyse donnant avec beaucoup de précision, la masse de chacun des analytes séparés.

I. 5. 3. Protocole

Les expériences de LC-MS ont été effectuées à l'aide d'un système Waters ACQUITYUPLC System (Waters Corp. Milford, USA) dont la colonne est un modèle HSS C18 à phase inversée constituée de microparticules à 1,7 µm de diamètre. La longueur de la colonne est de 100 mm pour un diamètre interne de 2,1 mm. Ce système est couplé à un spectromètre de masse haute définition SYNAPT G2 (Waters Corp. Milford, USA). À chaque expérience LC-MS, 5 µl d'échantillon ont été injectés. L'échantillon à analysera été préparé de la manière suivante : Dissolution de 10 mg/ml l'extrait d'acétate d'éthyle dans du méthanol RS pour UHPLC-MS, puis

microfiltration à travers une membrane PTFE 0,2 μm . L'élution en mode gradient est réalisée avec deux solvants.

- Solvant A : Solution aqueuse d'acide formique à 0,1%
- Solvant B : Acétonitrile / Acide formique (99,9 :0,1)

L'élution (avec un débit de 0,4 ml/min) a débuté avec le mélange des deux solvants A/B (95 :5) pendant six minutes, puis changement par augmentation du solvant B jusqu'à 100% en deux minutes, puis maintien du solvant B pendant deux minutes supplémentaires. Les données spectrales de masse ont été acquises après électronebulisation (ESI) en mode positif et en mode négatif, selon les paramètres suivants :

	ESI positif	ESI négatif
Tension capillaire	3,25 kV	-2,5 kV
Tension du cône source	30 V	-40 V
Tension du cône d'extraction	4 V	4 V
Température de la source et de la désolvation	120 °C	550 °C

L'azote a été appliqué comme gaz de désintégration à un débit de 900 litres/h. Les spectres de masse ont été acquis sur la gamme m/z de 100 à 1200 à une résolution de masse de 22000 FWHM (largeur à mi-hauteur).

Chapitre II : Résultats et Interprétations

II. 1. Résultats de l'analyse microscopique

➤ Tige

Coupe transversale

Les caractéristiques de la coupe transversale de la tige de *Salvia Chudaei* sont :

- ✓ Tiges quadrangulaires caractéristiques des Lamiacées (**Fig.37**) ;
- ✓ Différents types des poils (**Fig.38**) :
 - Poils tecteurs pluricellulaires unisériés lisses ou ponctuées ;
 - Poils tecteurs recourbés à paroi verruqueuse et ponctuée ;
 - Poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire type Lamiacées et pied unicellulaire,
 - Poils sécréteurs peltés à tête et pied unicellulaire ;
 - Poils sécréteurs à tête bicellulaire et pied unicellulaire

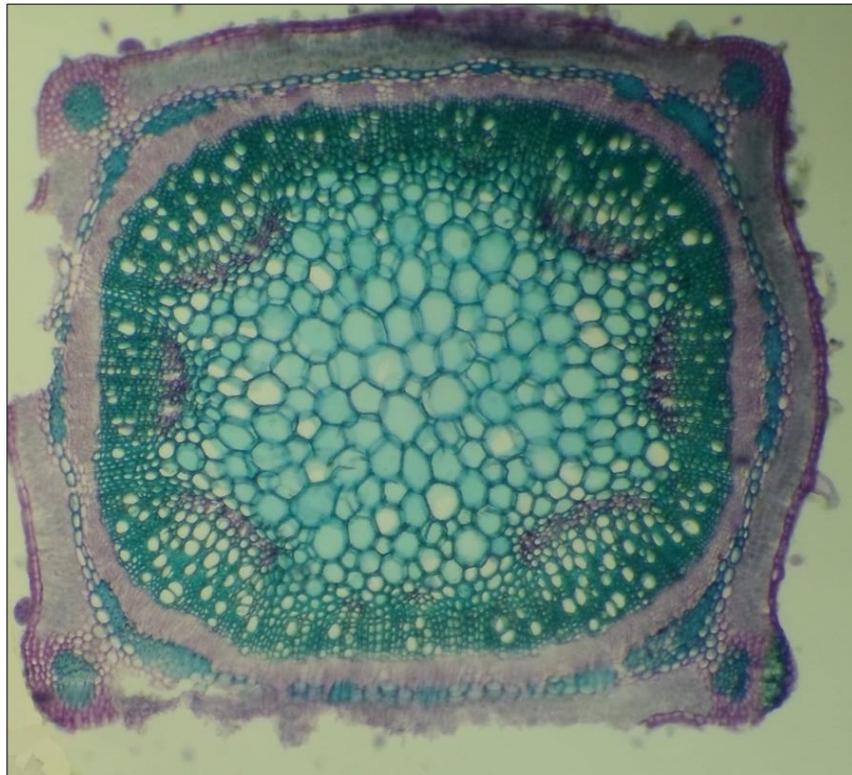


Figure 37 : Coupe transversale de la tige de *Salvia Chudaei*.

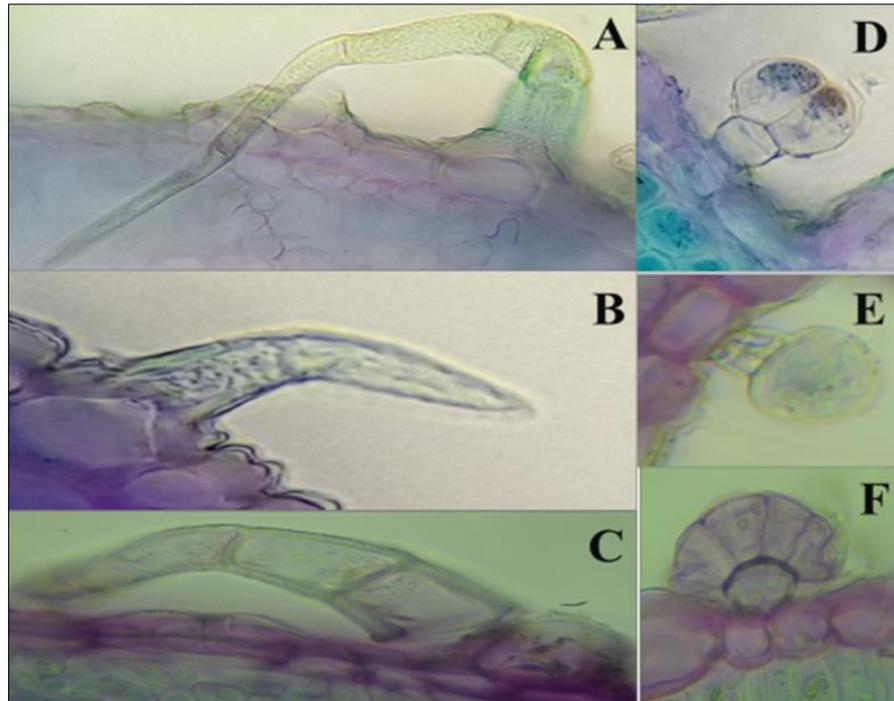


Figure 38 : Les éléments d'une coupe transversale de la tige de *Salvia Chudaei*

A : Poil tecteur pluricellulaire unisériel ponctué. **B** : Poil tecteur recourbé à paroi verruqueuse et ponctué. **C** : Poil tecteur pluricellulaire unisériel lisse. **D** : Poil sécréteur à tête bicellulaire et pied unicellulaire. **E** : Poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire. **F** : Poil sécréteur capité à tête pluricellulaire et pied unicellulaire types Lamiacées.

Poudre (Fig.39)

La poudre est de couleur verte, dégage une odeur aromatique. Elle présente les éléments suivants :

- Fragments d'épiderme avec stomates diacytiques et cuticules striées ;
- Fragments de poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire ;
- Poils sécréteurs peltés à tête et pied unicellulaire ;
- Fragments de poils tecteurs recourbés à paroi verruqueuse et ponctué ;
- Cellules scléreuses.

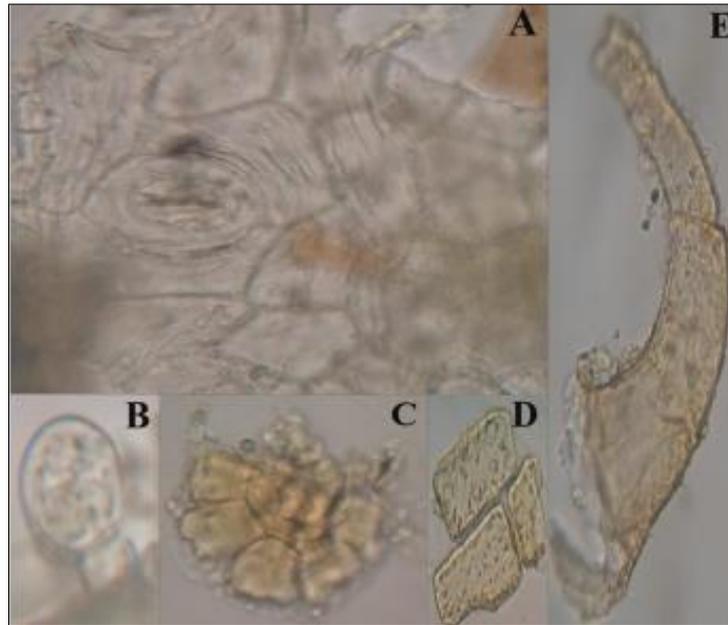


Figure 39 : Les éléments de la poudre de tiges de *Salvia Chudaei*

A : Fragment d'épiderme avec stomates diacytiques et cuticule striée. **B** : Poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire. **C** : Fragment de poil sécréteur capité à tête pluricellulaire type Lamiacées (vue de haute). **D** : Cellules scléreuses. **E** : Fragment de poil tecteur recourbé à paroi verruqueuse et ponctuée.

➤ Feuille

Coupe transversale (Fig. 40)

Les caractéristiques de la coupe transversale de feuille de *Salvia Chudaei* sont (**Fig.41**) :

- ✓ Nervure saillante sur la face inférieure avec un appareil conducteur occupant le centre et un parenchyme à méats à cellules plus ou moins arrondies ;
- ✓ Limbe à mésophylle centrique hétérogène formé d'une assise de cellules palissadiques sur les deux faces supérieure et inférieure et un parenchyme à méats situé entre ces deux assises ;
- ✓ Les deux épidermes supérieur et inférieur portent :
 - Poils tecteurs, pluricellulaires unisériés, à parois verruqueuses ponctuées ;
 - Poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire et pied unicellulaire type Lamiacées ;
 - Poils sécréteurs peltés à tête et pied unicellulaire ;
 - Poils sécréteurs à tête unicellulaire et pied pluricellulaire ;
 - Poils sécréteurs à tête bicellulaire et pied unicellulaire.



Figure 40 : Coupe transversale de feuille de *Salvia Chudaei*.

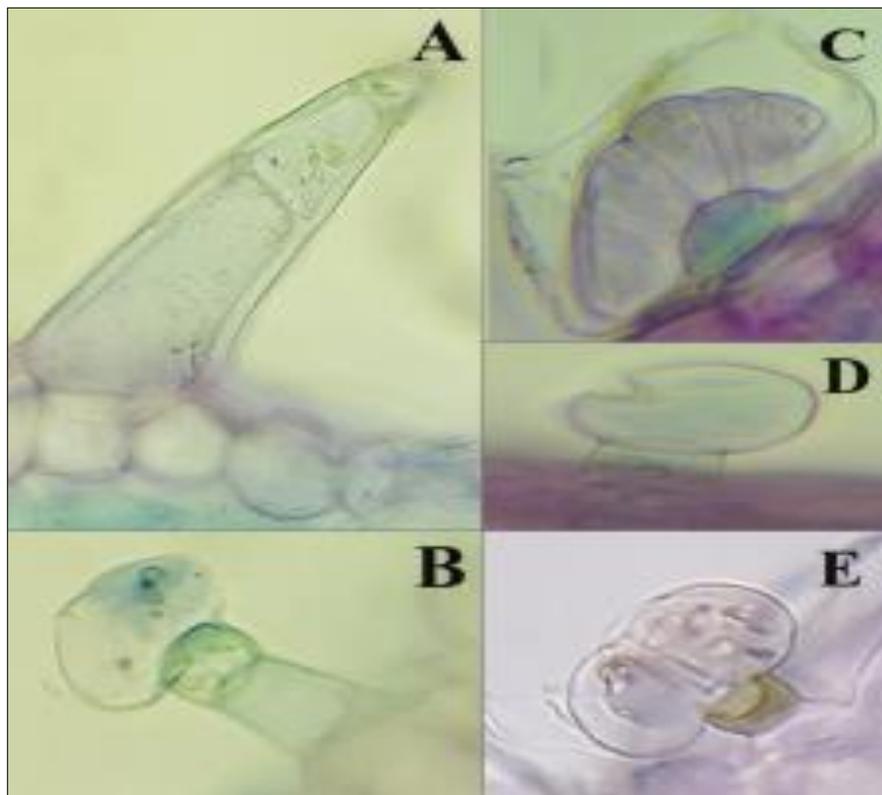


Figure 41 : Les éléments d'une coupe transversale de la feuille de *Salvia Chudaei*

A : Poil tecteur, pluricellulaire unisériel, à paroi verruqueuse ponctuée. **B** : Poil sécréteur à tête unicellulaire et pied pluricellulaire. **C** : Poil sécréteur capité à tête pluricellulaire et pied unicellulaire type Lamiacées. **D** : Poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire. **E** : Poil sécréteur à tête bicellulaire et pied unicellulaire.

Poudre (Fig.42)

La poudre est de couleur verte, dégage une odeur aromatique. Elle présente les éléments suivants :

- Fragments d'épiderme avec stomates diacytiques ;
- Fragments de poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire type Lamiacées ;
- Poils sécréteurs peltés à tête et pied unicellulaire ;
- Fragments de poils tecteurs pluricellulaires unisériés légèrement ponctués.

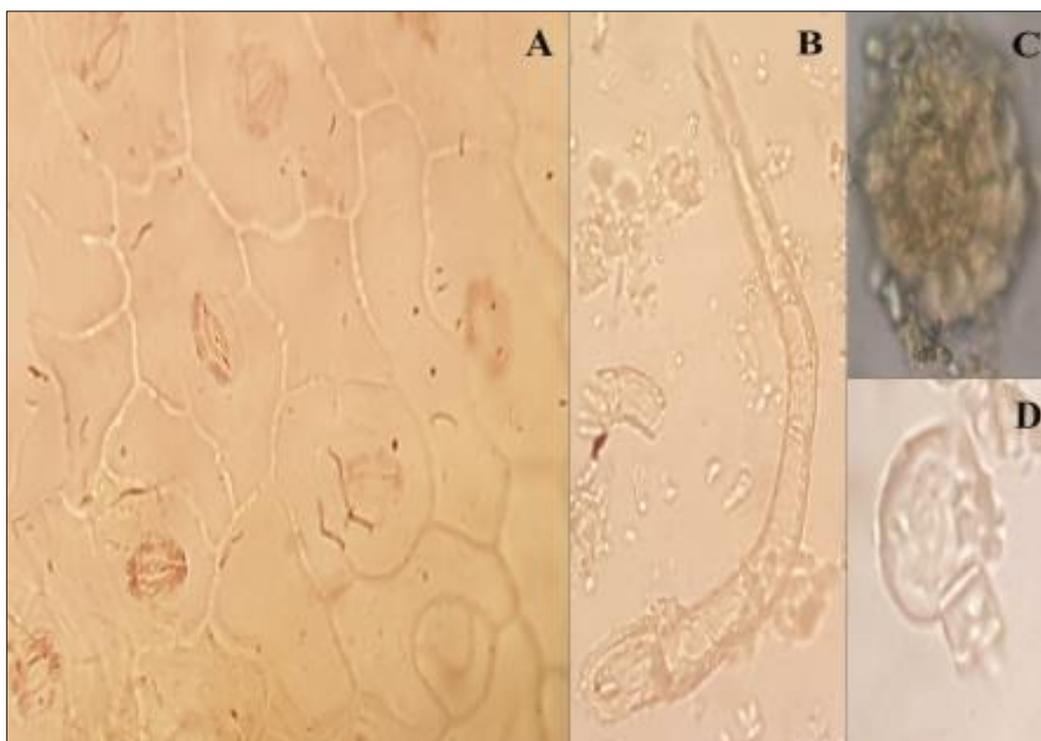


Figure 42 : Les éléments de la poudre de feuilles de *Salvia Chudaei*

A : Fragment d'épiderme avec stomates diacytiques. **B :** Fragment de poil tecteur pluricellulaire unisérié légèrement ponctués. **C :** Fragment de poil sécréteur capité à tête pluricellulaire type Lamiacées (vue de haute). **D :** Poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire.

➤ **Fleur**

Poudre (Fig.43)

La poudre est de couleur verte, dégage une odeur aromatique. Elle présente les éléments suivants :

- Fragments d'épiderme avec stomates diacytiques et cuticules striées ;
- Fragments de poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire type Lamiacées ;
- Poils sécréteurs peltés à tête et pied unicellulaire ;

- Poils sécréteurs à tête unicellulaire et pied pluricellulaire ;
- Fragments de poils tecteurs recourbés à paroi verruqueuse et ponctuée ;
- Fragments de poils tecteurs pluricellulaires unisériés à paroi verruqueuse et ponctuée ;
- Poils tecteurs pluricellulaires unisériés avec 3 à 4 articles soit à paroi ponctuée soit lisse ;
- Grains de pollen stéphanocolpés ;
- Cellules à papilles provenant de l'épiderme inférieur des pétales ;
- Épiderme externe de la corolle avec des cellules à parois épaisses et sinueuses.

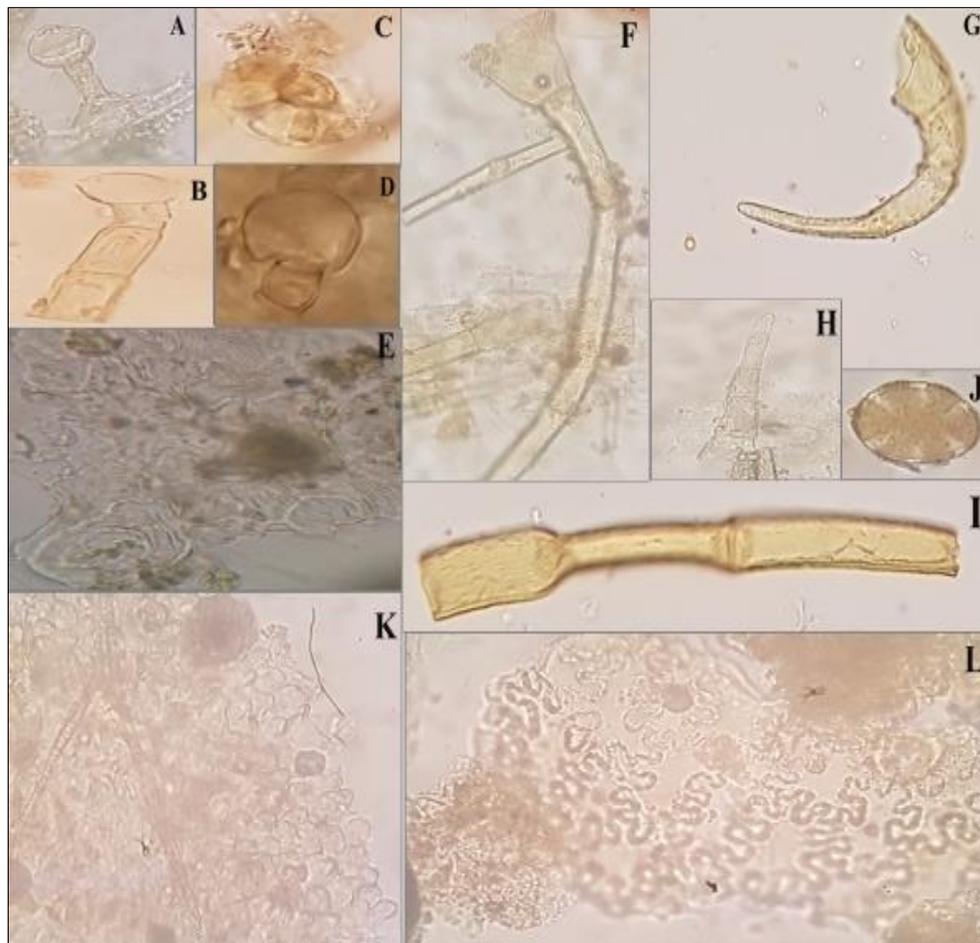


Figure 43 : Les éléments de la poudre de fleurs de *Salvia Chudaei*

A, B : Poil sécréteur à tête unicellulaire et pied pluricellulaire. **C :** Fragment de poil sécréteur capité à tête pluricellulaire type Lamiacées (vue de haute). **D :** Poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire. **E :** Fragment d'épiderme avec stomates diacytiques et cuticule striée. **F, I :** Poil tecteur pluricellulaire unisérié avec 3 à 4 articles soit à paroi ponctuée soit lisse. **G :** Fragment de poil tecteur recourbé à paroi verruqueuse et ponctuée. **H :** Fragment de poil tecteur pluricellulaire unisérié à paroi verruqueuse et ponctuée. **J :** Grain de pollen stéphanocolpé. **K :** Cellules à papilles provenant de l'épiderme inférieur des pétales. **L :** Épiderme externe de la corolle avec des cellules à parois épaisses et sinueuses.

II.2. Résultats du screening phytochimique préliminaire

Un criblage phytochimique préliminaire a permis de mettre en évidence certains métabolites secondaires.

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats des tests chimiques réalisés sur différents extraits de *Salvia Chudaei*.

Tableau 22 : Résultats des tests chimiques de *Salvia Chudaei*.

		Extrait aqueux	Extrait Eau-méthanol	Extrait Méthanol-dichlorométhane	Extrait Dichlorométhane
Alcaloïdes	Dragendorff				
	Mayer	-	-	-	-
	Bouchardat				
Phénols/Polyphénols		+	+	+	-
Flavonoïdes		+	+	+	-
Coumarines		+	+	+	-
Tanins	Condensés	+	+	+	-
	Hydrolysables	-	-	-	-
Terpénoïdes		-	+	+	-
Saponosides (extrait aqueux)				+	

II.3. Résultats de la chromatographie sur couche mince

Les extraits bruts obtenues ont été analysés par CCM sur gel de silice, avec deux éluants différents : cyclohexane/ acétate d'éthyle (2 :3) à polarité = 0,36 et méthanol/ acétate d'éthyle (1 :9) à polarité = 0,6. La visualisation des chromatogrammes est effectuée soit directement sous lumière ultraviolette à 254 nm et 365 nm soit après révélation par un des réactifs utilisés en CCM :

- ✓ Réactif à la vanilline sulfurique
- ✓ Réactif de Liebermann
- ✓ Réactif de Neu à 365 nm
- ✓ Réactif de Dragendorff
- ✓ Réactif de perchlorure ferrique
- ✓ Réactif de potasse alcoolique au visible et à 365 n

Dans l'**annexe 4** les **figures 51, 52 et 53** sont représentées les photos des chromatogrammes avec les extraits eau-méthanol, méthanol-dichlorométhane et dichlorométhane de *S. Chudaei*, et dans les **tableaux 23 et 24**, nous avons regroupé les moyennes des R_f correspondants aux principaux spots observés sur ces chromatogrammes.

N. B :

Des colonnes correspondent aux révélateurs qui portent des résultats négatifs ont été supprimé des tableaux suivants.

Abréviations : (**Tab. 23**), (**Tab. 24**)

B : Bleu	R : Rouge	J : Jaune	M : Marron	O : Orange
B. V : Bleu vert	R. B : Rouge brun	J. O : Jaune orangé	M. F : Marron foncé	V. N : Vert noirâtre
G : Gris	Vio : Violet	J. B : Jaune brun	J. I : Jaune intense	I. F : Intensification de la fluorescence
J. V : Jaune vif	Ext : Extinction	T. S : tache sombre	Br : Brun	Rs : Rose

Tableau 23 : Résultats de CCM de l'éluant 2 (cyclohexane/acétate d'éthyle)

N°	R _f	Extrais eau-méthanol						Extrais méthanol-dichlorométhane							Extrais dichlorométhane								
		254 nm	365 nm	Vanilline sulfurique	Liebe-rman	Neu 365 nm	FeCl ₃	254 nm	365 nm	Vanilline sulfurique	Liebermann	Neu 365 nm	Dragendorff	FeCl ₃	KOH vis	KOH 365 nm	254 nm	365 nm	Vanilline sulfurique	Liebermann	Neu 365 nm	FeCl ₃	KOH 365 nm
1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R
2	0,17	T. S	B	-	-	B. V	-	T.S	B	-	-	B. V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,23	Ext	-	-	-	J. I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,73	T.S	-	R	M. F	-	Br	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,83	-	-	-	-	-	-	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Vio	Rs	-	-	-
7	0,84	-	-	-	-	-	-	-	-	M	Rs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0,85	-	-	-	-	-	-	T.S	-	-	-	J. I	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-
9	0,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	M	M. F	O	J. B	-

Tableau 24 : Résultat de CCM de l'éluant 1 (MeOH/ AcOEt)

N°	R _f	Extrais eau-méthanol				Extrais méthanol-dichlorométhane							Extrais dichlorométhane				
		254 nm	365 nm	Neu 365 nm	KOH vis	254 nm	365 nm	Vanilline sulfurique	Liebermann	Neu 365 nm	Dragendorff	FeCl ₃	254 nm	365 nm	Neu 365 nm	FeCl ₃	KOH 365 nm
1	0,22	-	-	-	-	T. S	B	-	-	B. V	-	-	-	-	-	-	-
2	0,31	T. S	B	B. V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,68	-	-	-	-	-	B	-	-	B. V	-	-	-	-	-	-	-
4	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T. S	B	J. B	J. O	-
5	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-
6	0,84	-	B	B. V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0,85	-	-	-	-	T. S	J. O	-	-	J. O	-	-	-	-	-	-	-
8	0,87	-	-	-	-	T. S	J. O	-	-	J	-	V. N	-	-	-	-	-
9	0,88	-	-	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0,89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T. S	R. B	J. I	-	-

II.4. Résultats d'UPLC-MS

Les données spectrales acquises lors de l'analyse UPLC-MS ont été toutes traitées par le logiciel Mass Lynx © v.4.1 (Waters Corporation). Les résultats de spectres MS correspondants aux principaux pics ont été regroupés dans des tableaux pour repérer les ions moléculaires. Le plus souvent ces ions moléculaires sont des adduits protonés ou sodiques en cas d'une ionisation mode positif (ES+). Par contre les ions moléculaires négatifs sont généralement le résultat d'une déprotonisation.

L'ionisation de certains métabolites peut générer des ions moléculaires positifs et des ions moléculaires négatifs, et la détermination de leur masse moléculaire peut être facile.

Dans les annexes sont présentés pour chacun des échantillons d'extraits analysés, les chromatogrammes UPLC (**Annexe 5**) et les spectres MS obtenus (**Annexe 7**), qu'ils soient en mode d'ionisation positif (ES+) ou en mode négatif (ES-). Pour le calcul de masses moléculaires des adduits, nous avons utilisé une table Microsoft Excel (**Annexe 6**) inspirée du Molecular Weight Calculator. [111]

L'approche par la dérégulation nous a permis de réaliser les tableaux qui montrent les métabolites probablement présents dans des extraits bruts analysés par UPLC-MS avec un niveau de preuve moyen. L'erreur de masse (l'écart de masse) de ces composés présumés avec les masses unitaires à l'origine des ions moléculaires détectés est assez faible.

L'erreur de masse (EM) est calculée en ppm selon la formule :

EM = (différence entre masse unitaire mesurée et masse exacte du métabolite connu / masse exacte du métabolite connu) x 10⁶.

La méthode UPLC couplée à la SM qui était adoptée dans l'analyse d'extraits brut, repose sur l'enregistrement des spectres de masse ESI-TOF sous les deux modes : positif et négatif.

Les données spectrales obtenues (temps de rétention, pic de masse m/z) sont résumées dans **les tableaux 25. 26** en fonction des principaux pics observés sur les chromatogrammes (**Annexe 5**) de chacun des extraits (Méthanol et Acétate d'éthyle).

Généralement, les ions m/z observés sur les spectres correspondent à la masse moléculaire protonée [M+H]⁺ ou sodée [M+Na]⁺ quand il s'agit du mode positif ; alors que pour le mode négatif, les ions [M-H]⁻ prédominent.

L'approche de dérégulation permet d'identifier toutes les molécules connues au sein de mélanges complexes on se repose sur leurs propriétés physico-chimiques. Nous avons adopté ce processus d'analyse avec notre extrait pour une interprétation rapide des données UPLC-MS obtenues simultanément sous les deux modes d'ionisation positif et négatif, et par la suite déterminer certains ions moléculaires correspondant aux métabolites.

Tableau 25 : Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait de Méthanol des parties aériennes de *S. Chudaei*.

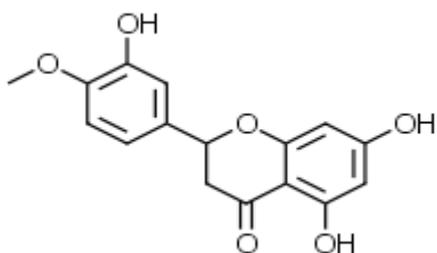
Pic (n°)	t_R (min)	m/z positif	m/z négatif	Formule moléculaire attribuée	Masse moléculaire exacte	EM (ppm)	Composés présumés	Source biologique connue selon DMP
1	2,43	303,0958	301,0829	$M_1 = C_{16}H_{14}O_6$	302,079040	31	139	<i>Brickellia vernicosa</i> <i>Persica vulgaris</i> <i>Citrus et Mentha spp.</i>
		611,2214	609,2081	$M_2 = C_{25}H_{38}O_{17}$	610,210905	5	140	<i>Lamiophlomis rotata</i>
2	2,66	163,0457	161,0277	$M_3 = C_9H_6O_3$	162,140000	678	141	Apiacées Rutacées
3	3,86	301,1910	345,1843	$M_4 = C_{19}H_{24}O_3$	300,172545	37	106	<i>S. aegyptiaca</i>
							107	<i>S. aegyptiaca</i>
							80	<i>S. miltiorrhiza</i>
							108	<i>S. dichroantha</i>
							81	<i>S. officinalis</i> <i>S. mellifera</i>
		315,0943	313,0854	$M_5 = C_{17}H_{14}O_6$	314,079040	25	45	<i>S. miltiorrhiza</i>
4	3,99	347,1988	345,1843	$M_4 = C_{19}H_{24}O_3$	300,172545	37		
5	4,14	347,1988	345,1843	$M_4 = C_{19}H_{24}O_3$	300,172545	37		
6	4,86	361,2144	359,1985	$M_6 = C_{21}H_{28}O_5$	360,193675	0,2	109	<i>S. divinorum</i>
							82	<i>S. triloba</i>
							84	<i>S. coulteri</i>
							85	<i>S. candelabrum</i>
							90	<i>S. hypargeia</i>
							86	<i>S. hypargeia</i>
							91	<i>S. montoretii</i>
							38	<i>S. camosa</i> <i>S. officinalis</i> <i>S. triloba</i>
							92	<i>S. pilifera</i>
							93	<i>S. napifolia</i>
							94	<i>S. eriophora</i>
							95	<i>S. prionitis</i>
							96	<i>S. przewalskii</i>
7	4,96	331,1991	329,1857	$M_7 = C_{20}H_{26}O_4$	330,183110	26	127	<i>S. prionitis</i>
							98	<i>S. limbata</i>
							99	<i>S. texana</i>
							88	<i>S. hypergeia</i>
							97	<i>S. przewalskii</i>
							100	<i>S. microstegia</i> <i>S. hypargeia</i> <i>S. lanigera</i> <i>S. viridis</i> <i>S. candidissima</i>
							101	<i>S. cryptantha</i>
							83	<i>S. triloba</i>
							87	<i>S. hypargeia</i>
							102	<i>S. pomifera</i>
8	5,33	317,2220	315,2072	$M_9 = C_{20}H_{28}O_3$	316,203845	19	89	<i>S. hypargeia</i>
							103	<i>S. officinalis</i> <i>S. mellifera</i>

*Selon Dictionary of Natural Products on DVD, 2014

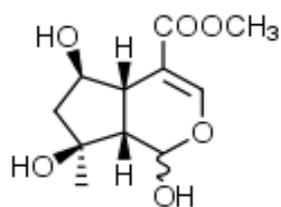
Tableau 26 : Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait d'AcOEt des parties aériennes de *S. Chudaei*.

Pic (n°)	T_R (min)	m/z positif	m/z négatif	Formule moléculaire attribuée	Masse moléculaire exacte	EM (ppm)	Composés présumés	Source biologique connue selon DMP
3	3,85	315,0943	313,0854	M ₅ = C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314,079040	25	45	<i>S. miltiorrhiza</i>
6	4,86	361,2144	359,1985	M ₆ = C ₂₁ H ₂₈ O ₅	360,19 3675	0,2	109	<i>S. divinorum</i>
							82	<i>S. triloba</i>
							84	<i>S. coulteri</i>
							85	<i>S. candelabrum</i>
							90	<i>S. hypargeia</i>
							86	<i>S. hypargeia</i>
							91	<i>S. montoretii</i>
							36	<i>S. camosa</i> <i>S. officinalis</i> <i>S. triloba</i>
							92	<i>S. pilifera</i>
							93	<i>S. napifolia</i>
7	4,96	331,1991	329,1857	M ₇ = C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330,183110	26	94	<i>S. eriophora</i>
							95	<i>S. prionitis</i>
							96	<i>S. przewalskii</i>
							127	<i>S. prionitis</i>
							98	<i>S. limbata</i>
							99	<i>S. texana</i>
							101	<i>S. cryptantha</i>
							83	<i>S. triloba</i>
							87	<i>S. hypargeia</i>
							102	<i>S. pomifera</i>
8	5,32	317,2220	315,2072	M ₉ = C ₂₀ H ₂₈ O ₃	298,193280	81	89	<i>S. hypargeia</i>
							103	<i>S. officinalis</i> <i>S. mellifera</i>
							102	<i>S. pomifera</i>
9	5,74	353,1868	331,2017	M ₁₀ = C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286,193280	23	142	<i>Mutisia. freisiana</i> (Asteraceae)
10	6,61	287,2076	265,1602	M ₁₁ =C ₁₇ H ₂₄ O	244,182715	11	143	<i>Aegopodium podagraria</i> <i>Apium graveolens</i> <i>Daucus carota</i> <i>Panax ginseng</i>

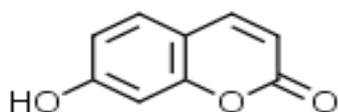
*Selon Dictionary of Natural Products on DVD, 2014



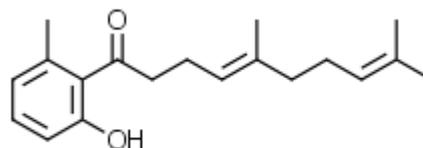
139



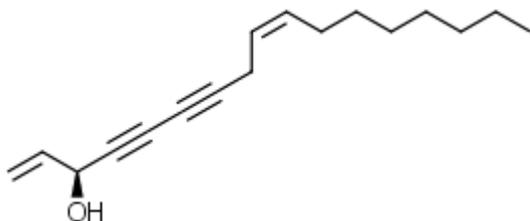
140



141



142



143

Figure 44 : Structures chimiques des composés non cités dans la partie bibliographique

Methoxyflavones (3',5,7 trihydroxy-4'-methoxyflavone) **139**, Dérivé de shanzhigenine **140**,
 Umbelliferone **141**, Mutisiphenone A **142**, Carotatoxine **143**

Chapitre III : Discussion

III. 1. Discussions des résultats de l'analyse microscopique

L'étude microscopique des coupes et des poudres issues de la partie aérienne de l'espèce *Salvia Chudaei* nous a permis d'observer d'éléments caractéristiques :

-Les éléments caractéristiques des Lamiaceae :

Les tiges présentent une forme quadrangulaire

Ce résultat s'accorde avec la littérature qui raconte que parmi les caractéristiques microscopiques des espèces appartenant à la famille des Lamiacées les tiges de section carrée (*Thymus, Mentha, Salvia*) et qui nous a orienté vers l'appartenance de notre espèce à cette famille. [6, 2, 7, 18]

Les poils sécréteurs capités à tête pluricellulaire type Lamiaceae et pied unicellulaire :

L'étude qui était faite par Dr BOUKHALFA en 2017 sur quelques espèces appartenant à la famille des Lamiacées a été montré la présence de ce même type de poil sécréteur type Lamiacées qui nous apporte une confirmation de l'appartenance à cette famille. [39, 112, 113]

-les éléments caractéristiques du genre *Salvia* :

Les fragments d'épiderme avec stomates diacytiques

Dr BOUKHALFA a rapporté les mêmes résultats (pages 170, 171, 172) et qui rejoint la littérature concernant la forme diacytique des stomates des espèces appartenant à la famille des Lamiacées.[39]

- Les éléments caractéristiques de l'espèce *Salvia Chudaei* :

Il ressort aussi de notre étude et par accordement avec les résultats obtenues par Dr BOUKHALFA, la présence des grains de pollen stéphanocolpés lisses isopolaires, à six sillons élément caractéristique de l'espèce *Salvia Chudaei*, ainsi que des différents types de poils tecteurs et sécréteurs : poils tecteurs, pluricellulaires unisériés, à parois verruqueuses ponctuées, poil sécréteur pelté à tête et pied unicellulaire, et poil sécréteur à tête unicellulaire et pied pluricellulaire, sauf qu'on a pas détecté la présence du poil tecteur ramifié dans aucun échantillons, par contre on a trouvé des poils sécréteur à tête bicellulaire et pied unicellulaire plusieurs fois au niveau de la tige et de la feuille.[39]

III. 2. Discussion des résultats de l'étude phytochimique préliminaire

Dans le **tableau 22**, sont regroupés pour chacun des extraits aqueux, méthanolique, méthanol-dichlorométhane et dichlorométhane de notre plante les résultats des réactions observées avec les réactifs généraux.

L'interprétation de ces résultats nous amène à constater la présence de polyphénols, flavonoïdes, coumarines et tanins condensés dans tous les extraits sauf celle de dichlorométhane qui ne donne aucune réaction positive avec ces réactifs généraux. Les terpénoïdes sont présent dans l'extrait méthanolique et l'extrait méthanol-dichlorométhane, ainsi que les saponosides donnent une réaction positive avec l'extrait aqueux.

Lorsqu'on a fait la réaction de Dragendorff, on a décelé un petit changement de couleur mais il y'a un doute, il s'agit peut-être des alcaloïdes d'abiétane(diterpénoïdes) et non pas d'alcaloïdes.[58]

À partir de ces résultats et en comparant avec les données de la bibliographie nous déduisons que notre plante *Salvia Chudaei*, comme d'autres espèces de la famille des Lamiacées, est riche en divers métabolites secondaires.

La comparaison de nos résultats avec les études menées sur d'autres espèces de sauges confirme la richesse de genre *Salvia* en composés terpéniques principalement les diterpènes, qui représentent 70% des constituants isolés à partir des espèces de ce genre [114], en flavonoïdes et en acides phénoliques.

L'étude qui a été faite par Dr HAMMOUDI a montré la présence de tous les métabolites secondaires dans l'extrait aqueux y incluse les alcaloïdes [115]. Alors qu'une autre étude sur l'extrait de *S. Chudaei* a confirmée l'absence d'alcaloïdes et la présence des autres métabolites secondaires sauf que les coumarines ont été absentes [97].

Les 3 extraits ont été analysés par CCM afin d'identifier les différents métabolites secondaires.

Les chromatogrammes résultants comportent une série de spots (**Annexe 4 : Fig. 51, 52, 53**), l'identification des composés était basée sur la comparaison des R_f et les couleurs observés des taches apparues sur CCM avec ceux de la littérature.

La différence entre la nature des taches identifiées s'explique par le choix de l'éluant :

- Eluant 1 : méthanol + acétate d'éthyle (1 :9), sa polarité est donc : $\text{Polarité}_{\text{éluant 1}} = (9 \cdot \text{polarité}_{\text{acétate d'éthyle}} + \text{polarité}_{\text{méthanol}}) / 10 = (9 \cdot 0,58 + 0,95) / 10 = 0,62$, il s'agit d'un solvant polaire c'est la raison pour laquelle son choix comme phase mobile a permis l'élution de composés polaires comme les flavonoïdes et les acides phénoliques.
- Eluant 2 : cyclohexane + acétate d'éthyle (2 :3), sa polarité est donc : $\text{Polarité}_{\text{éluant 2}} = (2 \cdot \text{polarité}_{\text{cyclohexane}} + 3 \cdot \text{polarité}_{\text{acétate d'éthyle}}) = (2 \cdot 0,04 + 3 \cdot 0,58) = 0,36$, il s'agit d'un solvant apolaire donc il convient à l'élution de composés apolaires comme les terpénoïdes et les stéroïdes.

On est intéressé par les grosses taches qu'on a trouvées dans les chromatogrammes et qui sont répétées à chaque fois avec les différents extraits et les différents révélateurs en référant au **tableau 21**.

Dans l'éluant 2 : on marque la présence de 3 composés anthracéniques qui se répètent dans plusieurs extraits ($R_f = 0,1 ; 0,23 ; 0,85$), on remarque aussi qu'il existe 1 composé coumarinique avec un $R_f = 0,17$, ainsi que 4 composés terpénoïdes ont été présents dans les différents extraits avec un $R_f = 0,73 ; 0,83 ; 0,84 ; 0,87$.

Dans l'éluant 1 : on cite la présence de 5 composés phénoliques à $R_f = 0,22 ; 0,31 ; 0,68 ; 0,8 ; 0,84$, et 3 flavonoïdes ont un $R_f = 0,85 ; 0,87 ; 0,88$ et un composé anthracénique a un $R_f = 0,89$.

On a trouvé 2 taches oranges dans l'extrait « méthanol/dichlorométhane » avec le réactif de Dragendorff dont les R_{fs} sont : 0,75 (avec l'éluant 2) et 0,8 (avec l'éluant 1), ils s'agissent avec certain doute de alcaloïdes d'abiétane (diterpénoïdes).[58]

L'analyse par UPLC-MS nous a permis de présumer avec un niveau de preuve moyen que 36 métabolites secondaires connus sont présents dans notre extrait brut soumis à cette méthode d'extraction.

La majorité de ces composés qui sont des diterpénoides et un acide phénolique (Ac salvianolique **F 45**) sont présents dans les deux extraits (méthanol, et acétate d'éthyle). Trois composés (methoxyflavones **139**, dérivé de shanzhigenine **140**, umbelliferone **141**) dans l'extrait méthanolique uniquement, et deux composés (mutisiphenone A **142**, carotatoxine **143**) seulement dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Parmi ces 36 métabolites secondaires, on a constaté la présence majoritaire de 30 composés diterpéniques, qui s'accorde avec les données de la littérature. [58, 78]

L'abondance des composés diterpéniques dans notre extrait est apparue clairement au niveau des pics **3, 6, 7** et **8** d'UPLC-MS (**Tab. 25, 26**) dans les deux extraits (**Annexe 5**).

Dans le tableau ci-dessous (**Tab. 27**), on a cité les diterpénoides isolés de notre espèce *Salvia Chudaei* et qui ont une activité pharmacologique prouvée.

Tableau 27 : Activités pharmacologiques de quelques diterpénoides isolés de l'espèce *Salvia Chudaei*.

Formule moléculaire	Composé	Activité pharmacologique	Réf	
M₄= C₁₉H₂₄O₃ (300,172545)	Miltipolone 80	Antiprolifération et cytotoxique	[69]	
	Sageone 81	Antivirale	[58]	
	Hypargenine	Cytotoxique	[117]	
		Antibactérienne	[116]	
M₇=C₂₀H₂₆O₄ (330,183110)	7-hydroxytaxodione 91	Cytotoxique	[116]	
		Antibactérienne		
	Carnosol 38		Antibactérienne	[58]
			Cytotoxique	
			Antioxydante	
			Anticancéreuse	
		Anti-inflammatoire	[119]	
Przewalskine B 96	Antivirale	[58]		
Salvicine 127	Antitumorale	[116]		
M₈=C₂₀H₂₆O₂ (298,193280)	Microstegiol 100	Antimicrobienne	[116]	
	Cryptanol 101	Antileishmanienne	[58]	
M₉=C₂₀H₂₈O₃ (316,203845)	Royleanone 103	Antioxydante	[74]	
		Antifongique	[95]	
		Activité cardiovasculaire	[117]	

Au niveau du pic 3 qui est abondant dans les deux extraits, on a identifié la présence d'un ac phénolique (ac salvianolique F **45**) connu par son pouvoir d'être un agent antitumoral. [119]

Il ressort aussi de notre étude que les composés methoxyflavones **139** pic **1** et l'umbelliferone pic **2** sont présents seulement dans l'extrait méthanolique (**Tab. 25**), par contre le pic **9** (**Tab. 26**) qui correspond au mutisiphenone A **142** est plus abondant dans l'extrait d'acétate d'éthyle (**Annexe 5**).

Ces composés ont aussi des activités pharmacologiques importantes :

Methoxyflavones : activité antispasmodique, hypocholestérolémiante, anticancéreuse. [116]

Umbelliferone : activité antibactérienne, antifongique et anticancéreuse.[121]

Mutisiphenone A : activité antifongique.[122]

En se basant sur nos résultats et les données de la littérature d'usage traditionnel de *Salvia Chudaei* [97, 98, 99], on a essayé de faire une corrélation entre eux :

On a trouvé que certains composés (hypargénine, 7-hydroxytaxodione **91**, carnosol **38**, microstegiol **100**) ont des activités antibactériennes qui s'accorde avec l'usage traditionnel comme traitement les ulcères d'estomac et des brûlures mictionnelles. D'autres composés (sageone **81**, Przewalskine B **96**, Royleanone **103**) peuvent présenter une efficacité contre les maladies vénériennes. Le carnosol avec son activité anti-inflammatoire peut traiter des rhumatismes.

CONCLUSION

Les travaux de notre étude ont concerné la phytochimie de *Salvia Chudaei* Batt. & Trab. qui appartient à la famille des Lamiacées.

L'étude microscopique des coupes et des poudres des différentes parties aériennes de notre espèce nous a permis de confirmer l'identité de l'espèce *Salvia Chudaei* ainsi que les critères histologiques de la famille, puisque les caractères microscopiques montrent quelques éléments caractéristiques non seulement de la famille des Lamiacées tel que : la section carré des tiges, les poils caractéristiques des Lamiacées..., mais aussi le genre *Salvia* par la présence de : différents types de poils tecteurs et sécréteurs, grain de pollen....etc.

Les caractères qu'on a trouvés confirment ce qui a été déjà cité dans les travaux ultérieurs.

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses catégories de métabolites secondaires : polyphénols, les composés terpéniques, flavonoïdes, coumarines, tanins condensés et saponosides (sauf la présence des alcaloïdes qui est douteuse).

La CCM a encore confirmé le screening phytochimiques, et a permet de bien séparer les composés contenus dans des différents extraits par deux éluants, l'un polaire et l'autre moins polaire.

La technique d'UPLC-MS effectuée sur des extraits de *Salvia Chudaei* a montré la présence de 36 métabolites secondaires, parmi eux :30 diterpènes avec différents activités pharmacologiques intéressantes (anti-inflammatoire, antibactérienne, antileishmanienne et anticancéreuse), un flavonoïde (Méthoxyflavone), un dérivé de Shanzhigenine, un composé coumarinique (Umbelliferone), un acide phénolique (Ac salvianolique F), le Mutisiphenone A, et la Carotatoxine.

En conclusion, cette plante renferme des composés actifs qui peuvent confirmer le statut de plante médicinale traditionnelle, comme on peut encore prévoir l'efficacité de ses composés actifs pour traiter d'autres maladies (les cancers, les maladies cardiovasculaires, les infections microbiennes).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Newman DJ, Cragg GM.** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod.* mars 2007;70(3):461-77.
2. **Dupont F, Guignard J-L.** Botanique : Les familles de plantes. 15e édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2012. 336 p.
3. **Ministère de l'aménagement du territoire, de l'environnement, et du tourisme.** Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie [Internet]. République Algérienne démocratique et Populaire; 2009 mars. Report No.: Quatrième rapporte national sur la mise en oeuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national. Disponible sur: <https://www.cbd.int/doc/world/dz/dz-nr-04-fr.pdf>
4. **Quezel P, Santa S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris; 1962. 1170 p.
5. **OZENDA P.** Flore et végétation du Sahara. 3 éme. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris; 1991. 662 p.
6. **BOTINEAU M.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Tec & Doc Lavoisier; 2010. 1403 p.
7. **Frezza C, Venditti A, Serafini M, Bianco A.** Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae. In: *Studies in Natural Products Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2019[cité 12 juin 2019]. p.125-78. Disponiblesur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444641854000046>.
8. **Liu Q, Wang Y-L, Xue J-J, Li D-H, Li Z-L, Hua H-M.** Two new polyacylated germacrane sesquiterpenes from *Salvia chinensis*. *Phytochem Lett.* avr 2019;30:130-2.
9. **Lisi AD, Tedone L, Montesano V, Sarli G, Negro D.** Chemical characterisation of *Thymus* populations belonging from Southern Italy. *Food Chem.* avr 2011;125(4):1284-6.
10. **Wang HT, Yu X, Liu Y, Liang C-Y, Li W-L.** Analysis of genetic variability and relationships among *Mentha L.* using the limonene synthase gene, *LS*. *Gene.* juill 2013;524(2):246-52.
11. **Gonçalves S, Romano A.** In vitro culture of lavenders (*Lavandula* spp.) and the production of secondary metabolites. *Biotechnol Adv.* mars 2013;31(2):166-74.
12. **Greuter WÉ scientifique. Med-Checklist :** a critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries. OPTIMA. Genève [etc.]; 1986.
13. **Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Valentine DH, Moore DM, Ball PW, et al.** *Flora Europaea.* Cambridge University Press; 1972. 432 p.
14. **Chase MW, Christenhusz MJM, Fay MF, Byng JW, Judd WS, Soltis DE, et al.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot J Linn Soc.* 1 mai 2016;181(1):1-20.
15. **Li B, Cantino PD, Olmstead RG, Bramley GLC, Xiang C-L, Ma Z-H, et al.** A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Sci Rep.* 17 oct 2016;6.
16. **Zahra NB, Shinwari ZK.** What is done and what has to be done in Lamiaceae, a review of phylogenetics. [cité 15 juin 2019]; Disponible sur: <https://peerj.com/preprints/2277>.

17. **Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens P.** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1 ère ed. Paris et Bruxelles; 2000.
18. **Quezel P, Santa S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. édition de la centre nationale de la recherche scientifique. 1963. 1170 p.
19. **Ozenda P.** Flore du Sahara. 2ème. Paris; 1977.
20. **Nouioua W.** Biodiversité et Ressources Phylogénétiques d'un écosystème forestier «Paeonia mascula (L.) Mill. Ferhat Abbas de Sétif; 2012.
21. **A. DENOËL.** Matière Médicale Végétale. 2 ème. 1958.
22. **Raynal-Roques A.** La botanique redécouverte. Paris: Belin; 1999. 512 p.
23. **Bagci E, Kocak A.** Essential Oil Composition of the Aerial Parts of Two Salvia L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Bentham) Species from East Anatolian Region (Turkey). Int J Sci Technol. 1 janv 2008;3:13-8.
24. **Grieve M.** A Modern Herbal, 1984 Savvas Publishing. ISBN Unkn.
25. **MEROUANE Abdelaziz.** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*). Université Hassiba Ben Bouali à Chlef, Institut des Sciences Agronomiques; 2013.
26. **Walker JB, Sytsma KJ.** Staminal evolution in the genus *Salvia* (Lamiaceae): molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. Ann Bot. 2006;100(2):375–391.
27. **Harley RM, Atkins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, et al.** The families and genera of vascular plants. Labiatae. 2004;6:241–242.
28. **Aggoune I, Sahnoune ME.** Etude phylogénétique des espèces du genre *Salvia* présentes dans le Nord algérien. 2018.
29. **QUEZEL P., SANTA S.,** 1963 Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome 2. pdf.,
30. **UniversalisE. LABIÉES**[Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 29 avr 2019]. Disponible sur: [.http://www.universalis.fr/encyclopedie/labiees](http://www.universalis.fr/encyclopedie/labiees)
31. **Kabouche A.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. 2005.
32. **Celep F.** A THESIS SUBMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES OF MIDDLE EAST TECHNICAL UNIVERSITY. :287.
33. **Al Sheef NB.** Micromorphological and cytological analysis of trichomes and biological effects of extracts of *Salvia aegyptiaca* L., *S. fruticosa* Mill. and *S. lanigera* Poir.(Lamiaceae) from Libya [PhD Thesis]. Универзитет у Београду, Биолошки факултет; 2015.
34. **Kintzios SE.** Sage: the Genus *Salvia*. [Internet]. 2003 [cité 2 janv 2019]. Disponible sur: <http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=181574>.
35. **Sahki A, Sahki R.** Le Hoggar : Promenade botanique. Lyon: Éd. Ésope; 2004. 311 p.

36. **Le Houérou H-N** (1928) A. Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation. CIHEAM. Montpellier; 1995.
37. **BENCHELAH AC, BOUZIAN H, MAKHA M.** Fleurs du Sahara : voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Ibis press. Paris; 2011. 255 p.
38. **Conservatoire et Jardin botaniques & South African National Biodiversity Institute.** 2012;
39. **BOUKHALFA D.** Contribution à l'étude des plantes aromatiques et médicinales de la région de l'Ahaggar. Université Ben Youcef Benkhedda d'Alger centre; 2017.
40. **TEHAMI W.** Caractérisation phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de *Salvia argentea* [PhD Thesis]. 2017.
41. **Chevallier A.** Encyclopédie des plantes médicinales. Paris: Larousse; 2001.
42. **TAMERT A.** Labiées des monts de Tessala (wilaya de Sidi Bel abbès): histologie et phytochimie [PhD Thesis]. 2016.
43. **Frezza C, Venditti A, Serafini M, Bianco A.** Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae. In: Studies in Natural Products Chemistry [Internet]. Elsevier; 2019 [cité 19 avr 2019]. p. 125-78. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444641854000046>.
44. **BELMEKKI N.** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx satureioïdes*, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie.
45. **Lu K, Han M, Ting HL, Liu Z, Zhang D.** Scutellarin from *Scutellaria baicalensis* Suppresses Adipogenesis by Upregulating PPAR α in 3T3-L1 Cells. *J Nat Prod.* 26 avr 2013;76(4):672-8.
46. **Hamida K.** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie [PhD Thesis]. Université de Boumerdès-M'hamed Bougara; 2014.
47. **Goetz P.** *Leonurus cardiaca* L. (Lamiaceae), agripaume. *Phytothérapie.* 1 juin 2013;11(3):188-91.
48. **Falcão DQ, Menezes FS.** Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. *Rev Bras Farm.* 2003;84(3):69–74.
49. **Zbalah H, Belarbi Y.** Effet de séchage des plantes médicinales de la famille des Lamiacées (Romarin) sur l'activité antibactérienne. 2018.
50. **Amina MM.** Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. :122.
51. **Rao GV, Mukhopadhyay T, Annamalai T, Radhakrishnan N, Sahoo MR.** Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn. *Pharmacogn Res.* 2011;3(2):143.
52. **Abedini A.** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes [Internet] [thesis]. Lille 2; 2013 [cité 21 avr 2019]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2013LIL2S025>.
53. **Yalçın FN, Kaya D.** Ethnobotany, pharmacology and phytochemistry of the genus *Lamium* (Lamiaceae). *FABAD J Pharm Sci.* 2006;31(1):43.

54. **Akbay P, Çalşıotaş İ, Heilmann J, Sticher O.** Ionone, iridoid and phenylethanoid glycosides from *Ajuga salicifolia*. *Z Für Naturforschung C*. 2003;58(3-4):177–180.
55. **Gautam R, Jachak SM, Saklani A.** Anti-inflammatory effect of *Ajuga bracteosa* Wall Ex Benth. mediated through cyclooxygenase (COX) inhibition. *J Ethnopharmacol*. 2011;133(2):928–930.
56. **von Poser GL, Toffoli ME, Sobral M, Henriques AT.** Iridoid glucosides substitution patterns in Verbenaceae and their taxonomic implication. *Plant Syst Evol*. 1997;205(3-4):265–287.
57. **Breitmaier E.** Terpenes : Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones. John Wiley & Sons; 2006. 227 p.
58. **Wu Y-B, Ni Z-Y, Shi Q-W, Dong M, Kiyota H, Gu Y-C, et al.** Constituents from *Salvia* Species and Their Biological Activities. *Chem Rev*. 14 nov 2012;112(11):5967-6026.
59. **Naghbi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A.** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res*. 2010;63–79.
60. **KASMI H.** Extraction et dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits des plantes : *Marrubium vulgare*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis* [Internet]. [cité 11 juin 2019]. Disponible sur: <https://int.search.myway.com=1560236147714>.
61. **Zaabat N, Darbour N, Bayet C, Michalet S, Doléans-Jordhem A, Chelr-Ghedra L, et al.** Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. *Phytothérapie*. 2010;8(6):353–358.
62. **Naidoo D, Maharaj V, Crouch NR, Ngwane A.** New labdane-type diterpenoids from *Leonotis leonurus* support circumscription of Lamiaceae s.l. *Biochem Syst Ecol*. juin 2011;39(3):216-9.
63. **Benikhlef A.** Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla [PhD Thesis].
64. **Zhang J-S, Zou Y-H, Zhao J-J, Chen Y, Bao J-M, Tang G-H.** Three new diterpenoids from *Marrubium aschersonii*. *Phytochem Lett*. juin 2016;16:241-4.
65. **(PDF) Determination of Triterpenoids in Some Lamiaceae Species** [Internet]. [cité 11 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.researchgate.net/publication/327272752>.
66. **Lu Y, Yeap Foo L.** Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*. janv 2002;59(2):117-40.
67. **Kintzios SE.** Sage: the Genus *Salvia*. London: CRC Press; 2000.
68. **Min-hui L, Jian-min C, Yong P, Pei-gen X.** Distribution of Phenolic Acids in Chinese *Salvia* Plants. *World Sci Technol*. oct 2008;10(5):46-52.
69. **Xu J, Wei K, Zhang G, Lei L, Yang D, Wang W, et al.** Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of Chinese *Salvia* species: A review. *J Ethnopharmacol*. oct 2018;225:18-30.
70. **Szentmihályi K, Then M, Csedó.** COMPARATIVE STUDY ON TANNINS, FLAVONOIDS, TERPENES AND MINERAL ELEMENTS OF SOME *SALVIA* SPECIES. *Acta Hort*. janv 2004;(629):463-70.
71. **Hao DC, Gu X-J, Xiao PG.** Phytochemical and biological research of *Salvia* medicinal resources. In: *Medicinal Plants*. Elsevier; 2015. p. 587-639.
72. **Yeşilyurt V, Halfon B, Öztürk M, Topcu G.** Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food Chem*. 1 mai 2008;108:31-9.

73. **Moharram FA, Marzouk MS, El-Shenawy SM, Gaara AH, Kady WME.** Polyphenolic profile and biological activity of *Salvia splendens* leaves. *J Pharm Pharmacol.* 2012;64(11):1678-87.
74. **Kabouche A, Kabouche Z.** Bioactive Diterpenoids of *Salvia* Species. In: Atta-ur-Rahman, éditeur. *Studies in Natural Products Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2008 [cité 31 mai 2019]. p. 753-833. (Bioactive Natural Products (Part O); vol. 35). Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com>.
75. **Georgiev V, Pavlov A.** *Salvia* Biotechnology. Springer; 2018. 434 p.
76. **Cai Y-J, Lu J-J, Zhu H, Xie H, Huang M, Lin L-P, et al.** Salvicine triggers DNA double-strand breaks and apoptosis by GSH-depletion-driven H₂O₂ generation and topoisomerase II inhibition. *Free Radic Biol Med.* 1 sept 2008;45(5):627-35.
77. **Hammoudi R.** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien [PhD Thesis]. Thèse de doctorat. "Sciences biologiques". Université Kasdi Merbah-Ouargla; 2015.
78. **Krimat S, Dob T, Toumi M, Kesouri A, Noasri A.** Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia Chudaei* Batt. et Trab. endemic medicinal plant from Algeria. 2015;9.
79. **Hammoudi R.** In Vitro Antimalarial, Antimicrobial and Antioxidants Activities of *Salvia Chudaei* Batt. & Trab. (Lamiaceae) Extracts. 2017;8.
80. **KHOLKHAL F.** Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus* [PhD Thesis]. 2014.
81. **Garnier G, Bézanger-Beauquesne L, Debranx G.** Ressources médicinales de la flore française. 1961.
82. **Thoppil JE, Minija J, Tajo A, Deena MJ.** Antimicrobial activity of *Teucrium plectranthoides* Gamble essential oil. :3.
83. **GOGUEN PRJ.** Voies alternatives pour le contrôle glycémique dans le diabète de type 2: Quelles sont les données scientifiques? *Endocrinologie.* 2005;5(5).
84. **Chérifa K.** Etude du comportement de quelques variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) dans les conditions sahariennes (Cas de Hassi Ben Abdellah-Ouargla).
85. **Collectif.** Encyclopédie des plantes médicinales. Paris: Larousse; 2001. 335 p.
86. **Anton R, Bernard M, Wichtl M.** Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Paris; Éditions médicales internationales: Cachan, France : Éditions Tech & Doc ; 2003.
87. **Hamidpour M, Hamidpour R, Hamidpour S, Shahlari M.** Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. *J Tradit Complement Med.* 1 avr 2014;4(2):82-8.
88. **Osmić S, Begić S, Mičić V, Petrović Z, Avdić G.** Effect of solvent and extraction conditions on antioxidative activity of sage (*salvia officinalis* l.) extracts obtained by maceration. 15 févr 2019 [cité 11 mai 2019]; Disponible sur: <https://zenodo.org/record/2563049>.
89. **Privitera G, Luca T, Castorina S, Passanisi R, Ruberto G, Napoli E.** Anticancer activity of *Salvia officinalis* essential oil and its principal constituents against hormone-dependent tumour cells. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2019;9(1):24.

90. **Llurba-Montesino N, Schmidt T.** Salvia Species as Sources of Natural Products with Antiprotozoal Activity. *Int J Mol Sci.* 16 janv 2018;19(1):264.
91. **Sharifi-Rad M, Ozcelik B, Altın G, Daşkaya-Dikmen C, Martorell M, Ramírez-Alarcón K, et al.** Salvia spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends Food Sci Technol.* oct 2018;80:242-63.
92. **Listos J, Merska A, Fidecka S.** Pharmacological activity of Salvinorin A, the major component of Salvia divinorum. *Pharmacol Rep.* 1 nov 2011;63(6):1305-9.
93. **Ghorbani A, Esmailizadeh M.** Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components. *J Tradit Complement Med.* oct 2017;7(4):433-40.
94. **Li L, Wei S, Zhu T, Xue G, Xu D, Wang W, et al.** Anti-inflammatory norabietane diterpenoids from the leaves of Salvia officinalis L. *J Funct Foods.* 1 mars 2019;54:154-63.
95. **Rauf A, Farooq U, Khan A, Hadda TB, Naz S, Ibrar A, et al.** Sedative and muscle relaxant activities of diterpenoids from Phlomidioschema parviflorum. *Rev Bras Farmacogn.* 1 sept 2017;27(5):636-40.
96. **Venugopala KN, Rashmi V, Odhav B.** Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity [Internet]. *BioMed Research International.* 2013 [cité 24 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/963248>.
97. **Krimat S, Dob T, Toumi M, Kesouri A, Noasri A.** Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia Chudaei* Batt. et Trab. endemic medicinal plant from Algeria. 2015;9.
98. **BENATTOUS Hatem, ZITOUNI Selma.** Contribution à l'étude phytochimique des alcaloïdes de deux plantes médicinales du Sahara Algérien. 2018.
99. **BOUKHALFA D,** CONTRIBUTION A L'ETUDE DES PLANTES AROMATIQUES ET MÉDICINALES DE LA RÉGION DE L'AHAGGAR [PhD Thesis]. 2017.
100. **Krimat S, Dob T, Toumi M, Lamari L, Dahmane D.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Salvia Chudaei* Batt. et Trab. endemic plant from Algeria. *J Essent Oil Res.* 3 sept 2015;27(5):447-53.
101. **Grangeon A.** Développement de méthodes analytiques par LC-MS/MS pour la caractérisation de l'activité et de l'expression des CYP450s chez l'humain. In 2017.
102. **DALI YAHIA M. K.** ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE BIOGUIDÉE DE PLANTES AROMATIQUES SAHARIENNES. [Algérie]: – Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen Faculté de Médecine Dr B. Benzerdjeb; 2017.
103. **Cléon P, D'ANGELI D.** Le couplage entre la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse. *Spectra Anal.* 2005;34(242):13–25.
104. **Pivert G.** Spectrométrie de masse associée à la chromatographie liquide: technologie, applications. *IRBM News.* oct 2008;29(3-4):32-5.
105. **Leban M.** Apport des techniques de chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse tandem aux dosages des stéroïdes. *Médecine Nucl.* janv 2013;37(1):8-13.
106. **Werner E.** Analyse du métabolome par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse: application à la recherche de biomarqueurs indirects d'induction enzymatique. :279.

107. **Saptarshi Das**. Liquid chromatography and mass spectrometry.(LCMS) [Internet]. Education présenté à; 11:00:12 UTC [cité 29 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.slideshare.net/saptarshi920/liquid-chromatography-and-mass-spectrometrylcms>.
108. **DALI YAHIA M. K.** étude phytochimique bioguidée de plantes aromatiques sahariennes, 2017.
109. **CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHES MINCES (CCM)** [Internet]. [cité 29 juin 2019]. Disponible sur: <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/chromato/A2.html>.
110. **Cours de Physique-chimie - Le principe de chromatographie sur couche mince - Maxicours.com** [Internet]. Maxicours. [cité 29 juin 2019]. Disponible sur: <http://www.maxicours.com>.
111. **Molecular Weight Calculator** | Integrative Omics [Internet]. [cité 29 juin 2019]. Disponible sur: <https://omics.pnl.gov/software/molecular-weight-calculator>.
112. **Bagherpour S, Kahraman A, Doğan M, Celep F, başer B, Pehlivan S.** The anatomical and micromorphological characteristics of *Salvia vermifolia* (Section *Aethiopsis* Benth, Lamiaceae) from Central Anatolia, Turkey. *Cent Eur J Biol - CENT EUR J BIOL*. 1 déc 2010;5:872-9.
113. **Ozcan M, Eminagaoglu O.** Stem and leaf anatomy of three taxa in Lamiaceae. *Bangladesh J Bot*. 2014;43(3):345-52.
114. **Kabouche A.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. 2005;
115. **Hammoudi R.** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien [PhD Thesis]. Thèse de doctorat." Sciences biologiques". Université Kasdi Merbah-Ouargla; 2015.
116. **Buckingham J,** éditeur. *Dictionary of Natural Products on DVD*. 1 edition. London: Chapman and Hall/CRC; 2014.
117. **Topçu G, Gören AC.** Biological Activity of Diterpenoids Isolated from Anatolian Lamiaceae Plants. *Rec Nat Prod*. 2007;16.
118. **Jing W, Zhang X, Zhou H, Wang Y, Yang M, Long L, et al.** Naturally occurring cassane diterpenoids (CAs) of *Caesalpinia*: A systematic review of its biosynthesis, chemistry and pharmacology. *Fitoterapia*. 1 avr 2019;134:226-49.
119. **Bauer J, Kuehnl S, Rollinger JM, Scherer O, Northoff H, Stuppner H, et al.** Carnosol and Carnosic Acids from *Salvia officinalis* Inhibit Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1. *J Pharmacol Exp Ther*. 1 juill 2012;342(1):169-76.
120. **Shard A, Rawat K, Sinha AK, Padwad Y, Kumar D.** Divergent Synthesis of Styryl-Cinnamate Hybrid Analogues Inspired by the Natural Product Salvianolic Acid F as a Premise To Investigate Their Anticancer Activity and Its Metabolomic Profiling. *Eur J Org Chem*. 2016;2016(36):5941-9.
121. **Mazimba O.** Umbelliferone : Sources, chemistry and bioactivities review. *Bull Fac Pharm Cairo Univ*. 1 déc 2017;55(2):223-32.
122. **I C, Viturro, La JR de, Fuente, S M, Maier.** Antifungal Methylphenone Derivatives and 5-Methylcoumarins from *Mutisia friesiana*. *Z Für Naturforschung C* [Internet]. 2014 [cité 2 juill 2019]; Disponible sur: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201700178578>

Annexe 1 : Diagnose de l'espèce collectée selon les flores d'Ozenda et de Quezel & Santa.

1. Détermination de la famille Lamiaceae (Martinov, 1820).

Arbustes, sous-arbrisseaux, ou plantes herbacées en général odorants, a tige de section carrée et feuilles opposées. Fleur pentamère en général hermaphrodite. Calice a 5 divisions plus au moins bilabié, persistant. Corolle nettement zygomorphe porte 2 lèvres, la lèvre supérieure est formée de 2 pétales, et la lèvre inférieure est formé de 3 pétales. 4 étamines dont 2 plus longues que les autres. Ovaire à 2 carpelles sauf que chaque carpelle est recoupé par une cloison présentant 2 loges qui vont se transformer en graine. Les fruits sont des tétrakènes. Lamiaceae.

2. Détermination du genre *Salvia* L.

Arbustes ou plantes herbacées. Calice bilabié, variable, a lèvre supérieur tridenté, l'inférieur bidenté. Corole bilabiée, 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif a 2 branches inégale l'une portant une loge de l'anthère et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en ponte..... *Salvia*.

3. Détermination de l'espèce *Salvia chudaei* Batt & Trab.

Sous-arbrisseaux de 10-20 cm, dont les feuilles sont vertes denticulées crénelées longs et très étroites, souvent en fascicule. Nombreux rameaux portant les fleurs en épi court à leurs sommets. Calice couverte de poils longs..... *Salvia Chudaei*.

Annexe 2 : Monographie simplifiée la plante étudiée

Salvia Chudaei Batt. & Trab.

Synonyme :

Salvia tibestiensis A. Chev

Salvia Chudaei var. lanuginosa Maire

Famille : Lamiacées

Nom vernaculaire :

Français : Sauge du désert = Sauge du Sahara central

Arabe : Tagrouft = تَقْرُوفْت

Tamashek : Aouhihet = أَوْهِيهَاتَة



Figure 45 : Aspect général de *Salvia Chudaei* Batt. & Trab.

Annexe 3 : Dessins des coupes transversales et des poudres de différentes parties aériennes de *Salvia Chudaei*

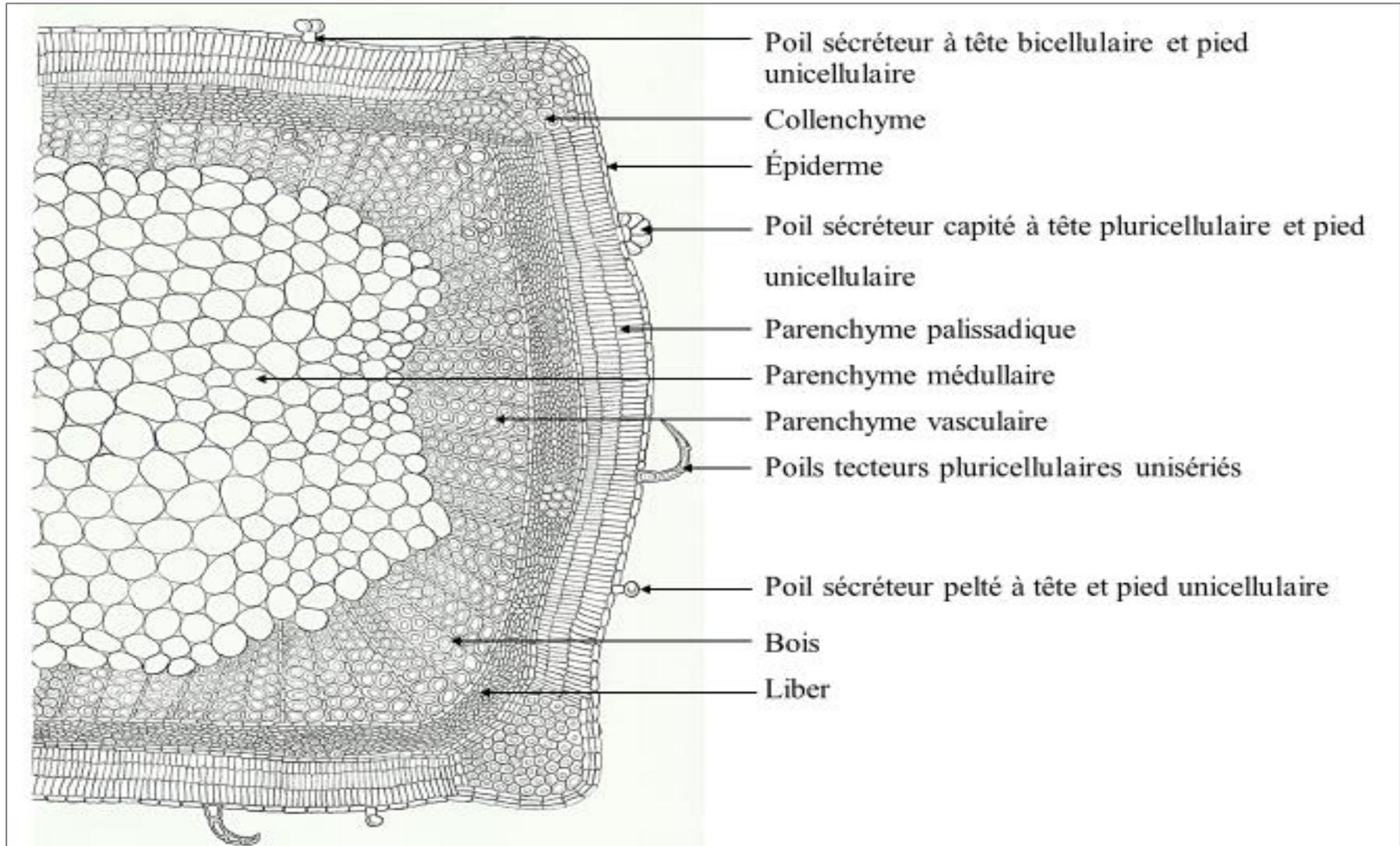


Figure 46 : Dessin de la coupe transversale de la tige de *Salvia Chudaei* x10

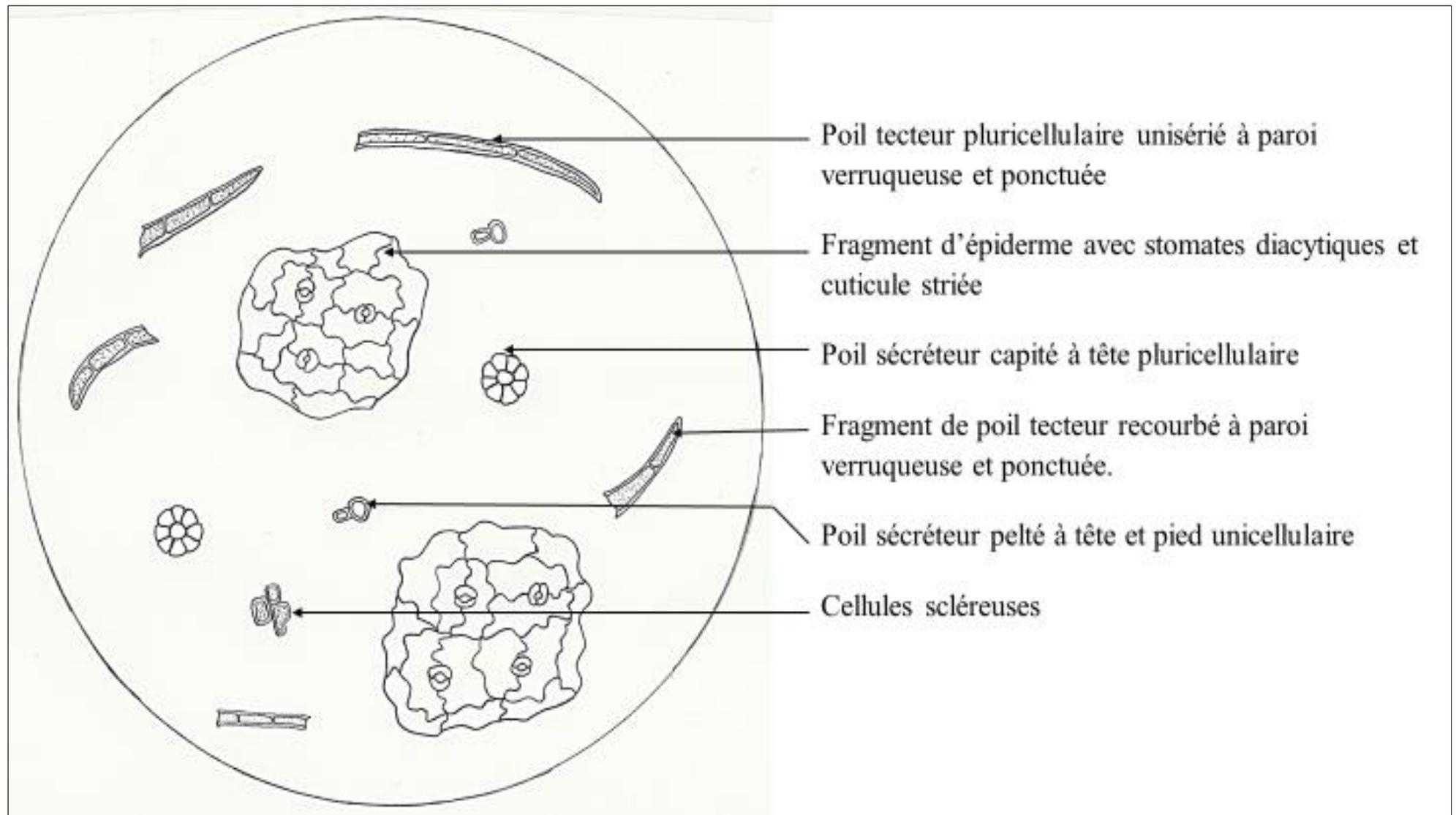


Figure 47 : Dessin de l'observation de la poudre de la tige de *Salvia Chudaei* (10x40)

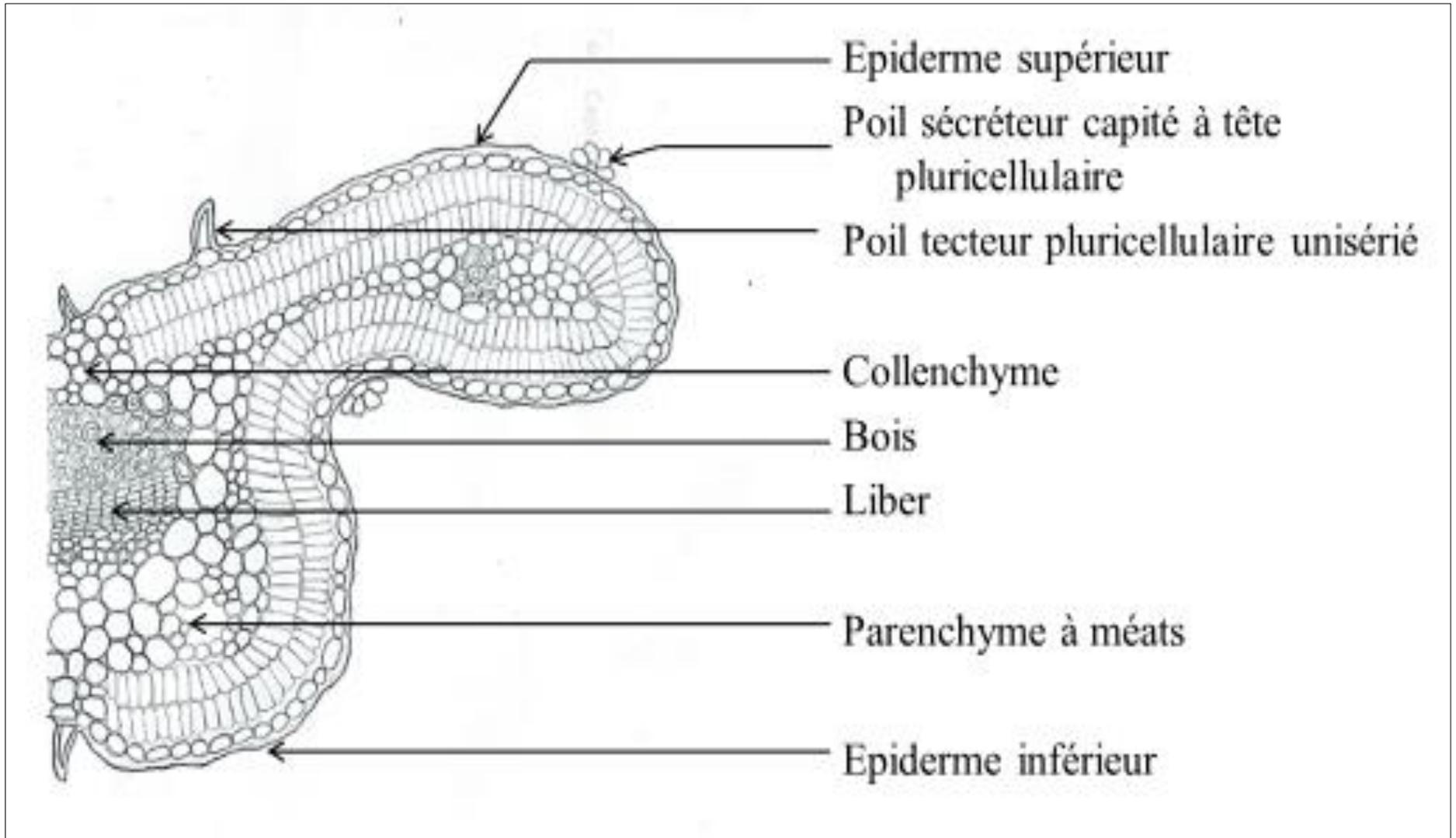


Figure 48 : Dessin de la coupe transversale de la feuille de *Salvia Chudaei* x10

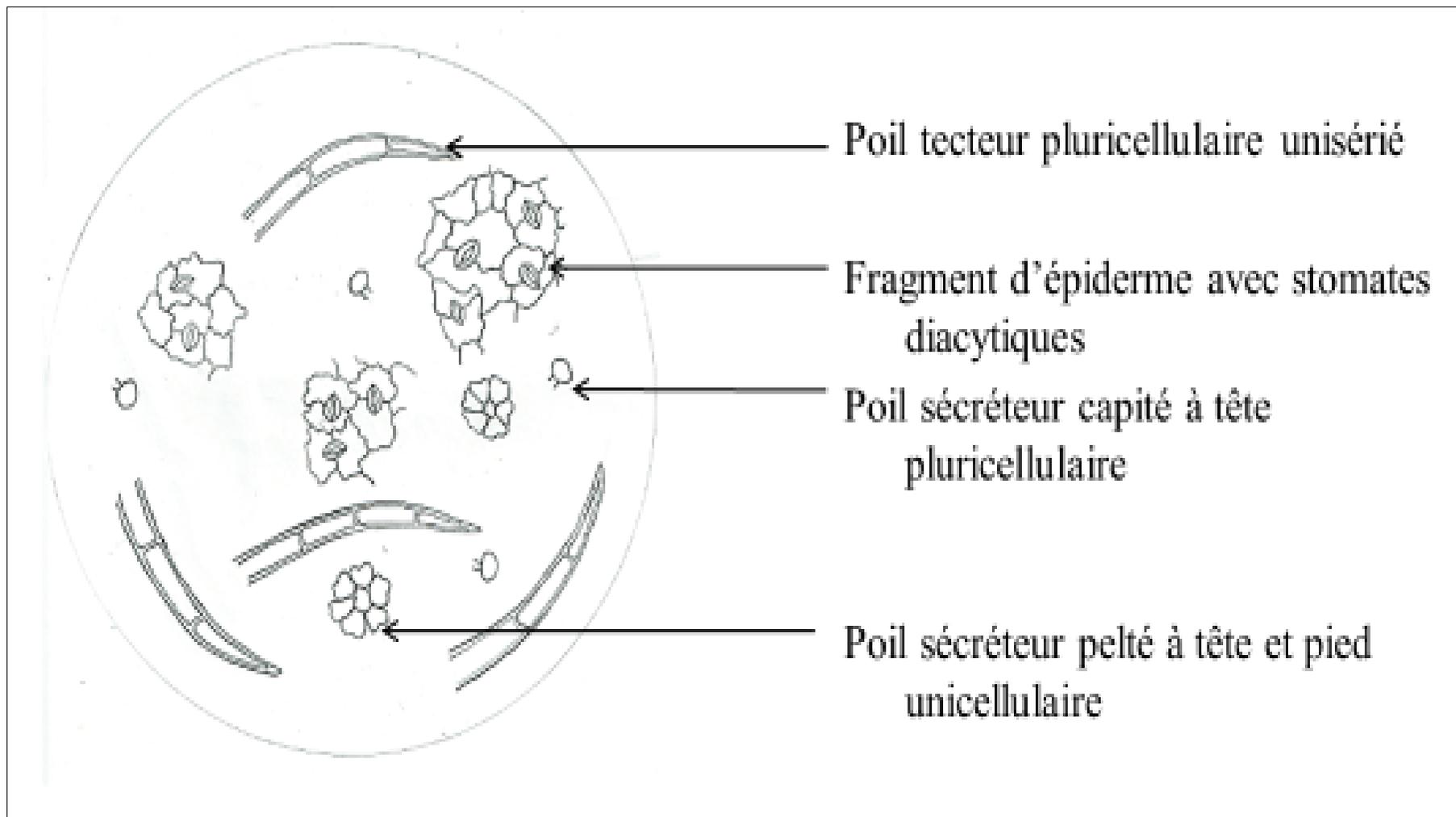


Figure 49 : Dessin d'une observation de la poudre de la feuille de *Salvia Chudaei* (10x40)

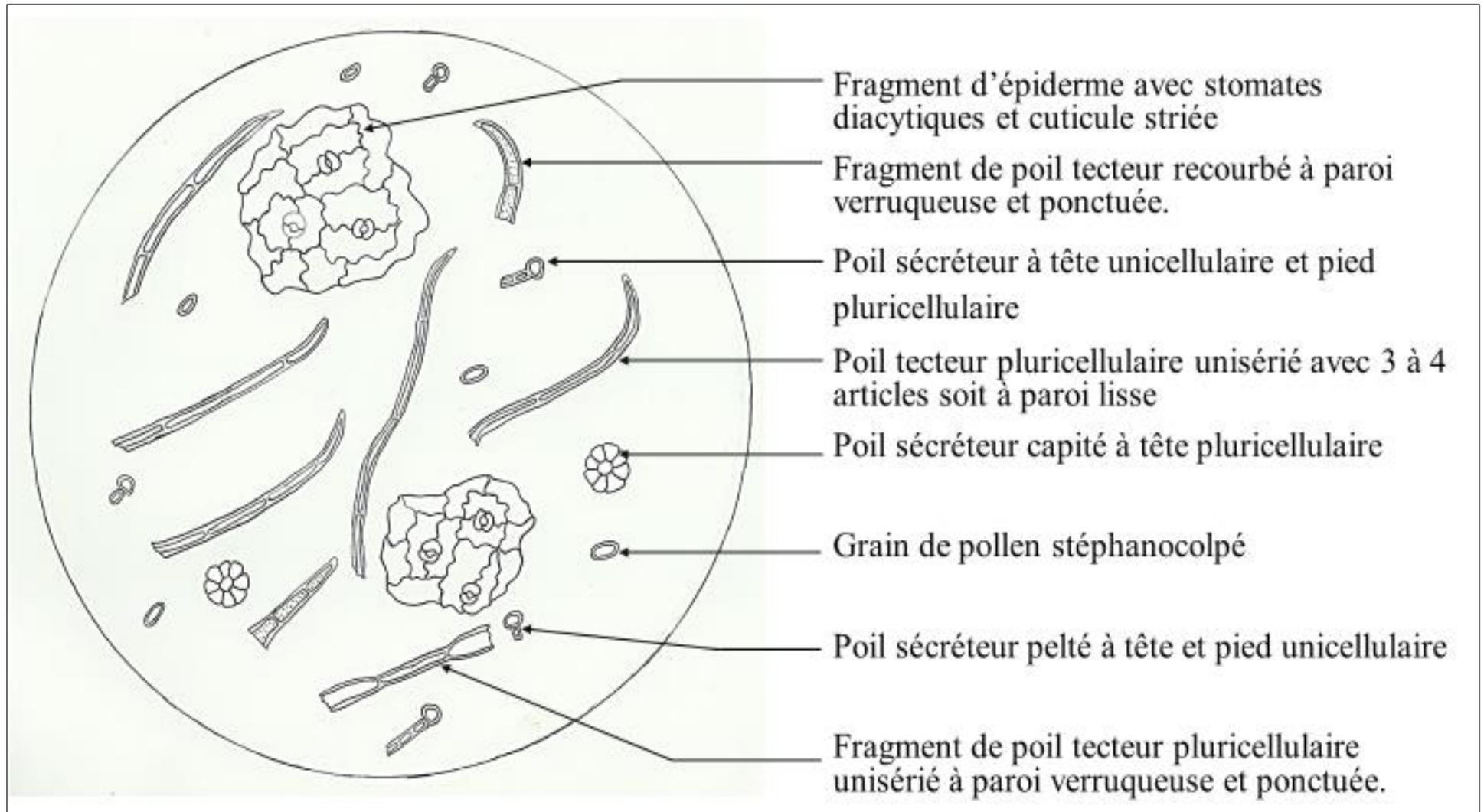


Figure 50 : Dessin de l'observation de la poudre du calice de *Salvia Chudae* (10x40)

Annexe 4 : Les chromatogrammes des différents extraits de *Salvia Chudaei*.

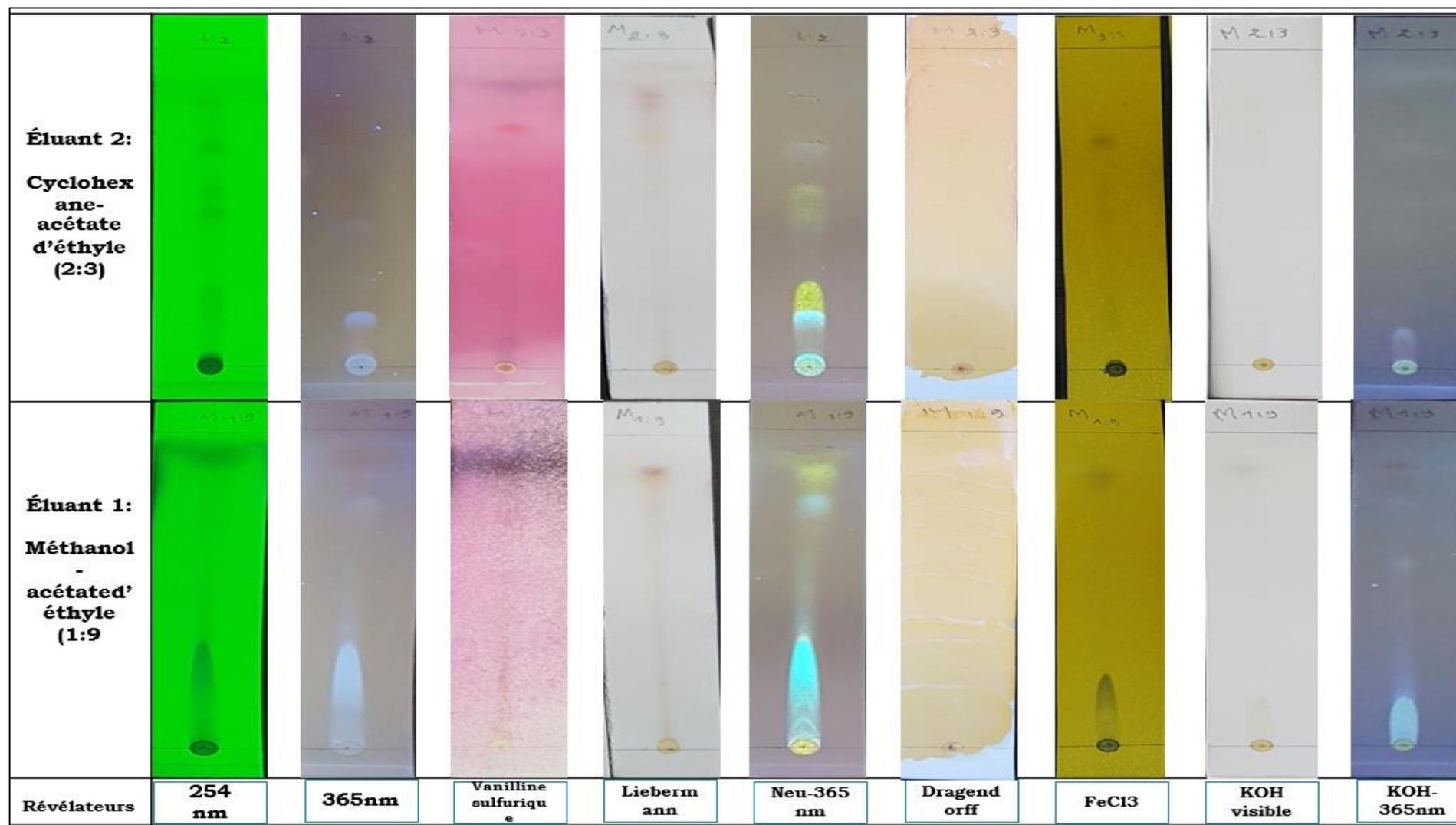


Figure 51 : Chromatogrammes de l'extrait dans l'eau-méthanol.

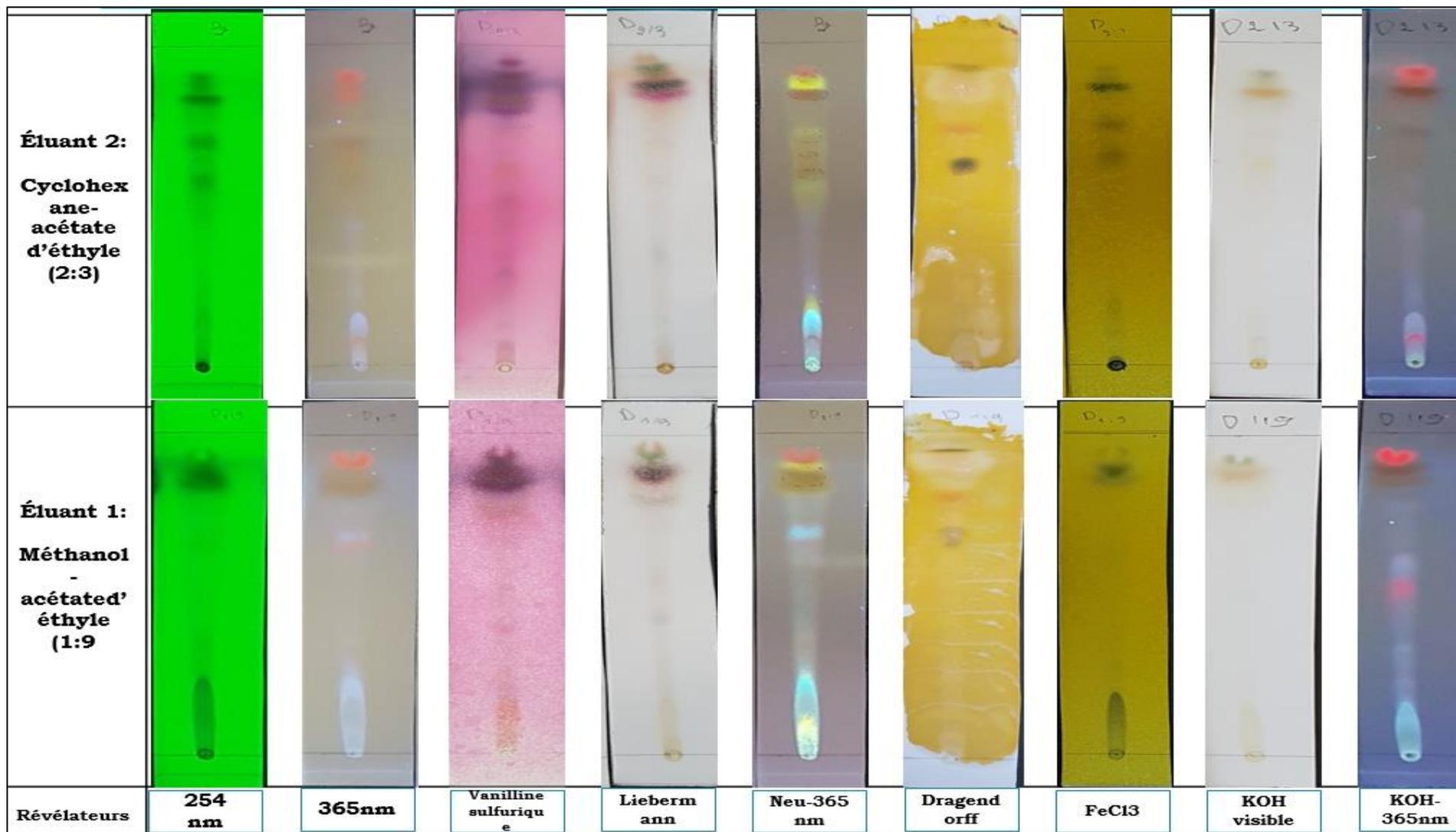


Figure 52 : Chromatogrammes de l'extrait dans le méthanol-dichlorométhane.

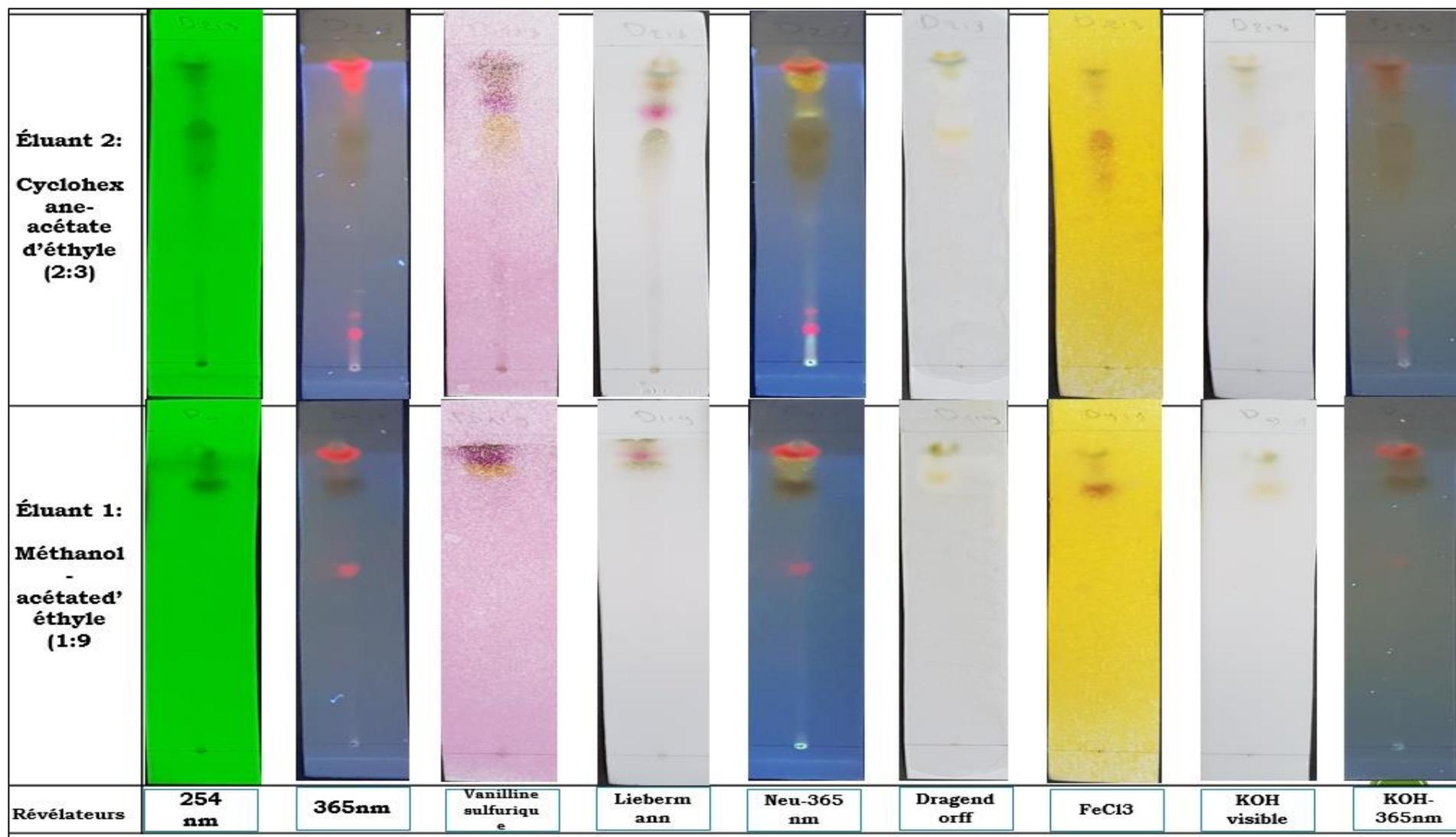


Figure 53 : Chromatogrammes de l'extrait dans le dichlorométhane

Annexe 5 : Chromatogrammes UPLC-MS.

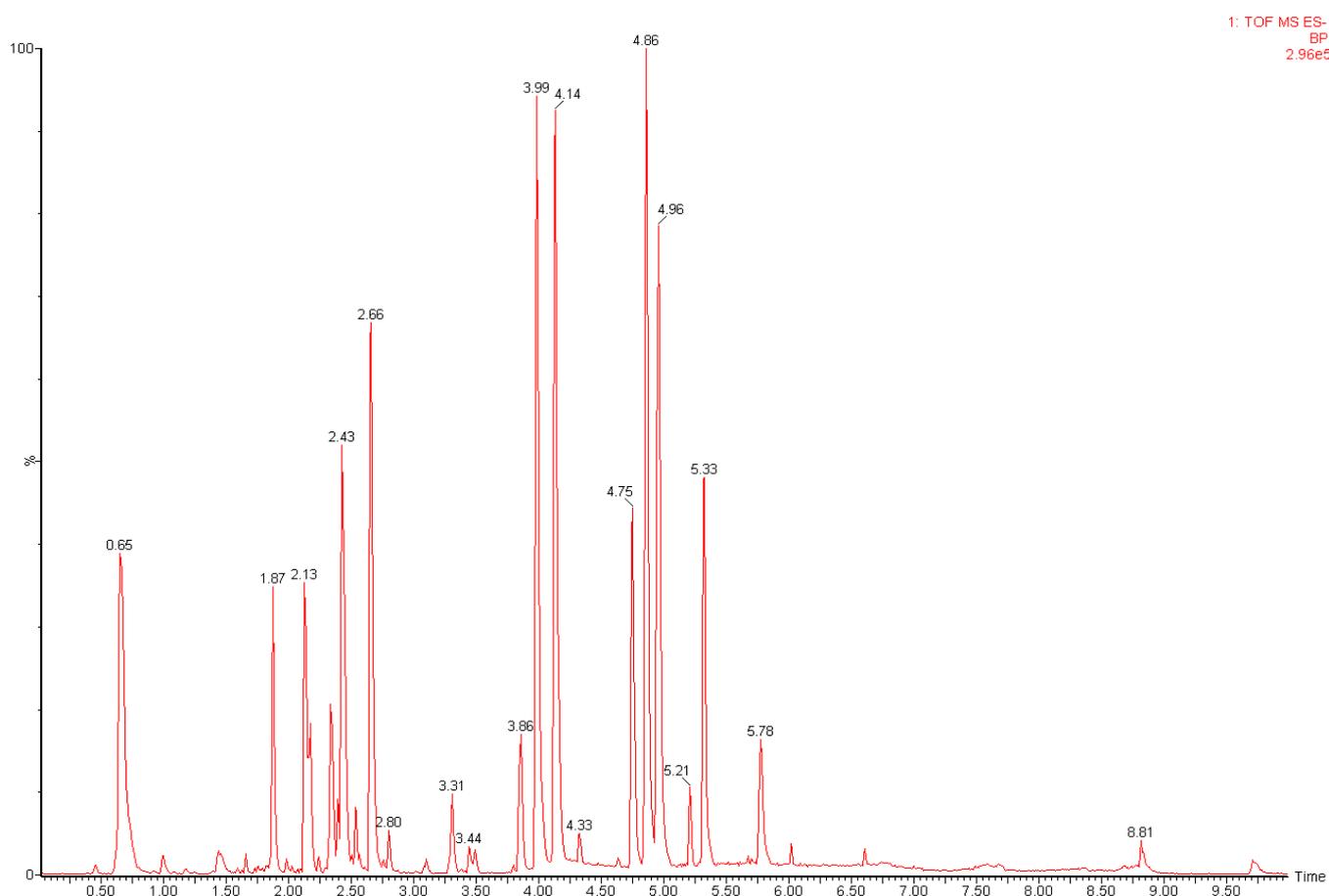
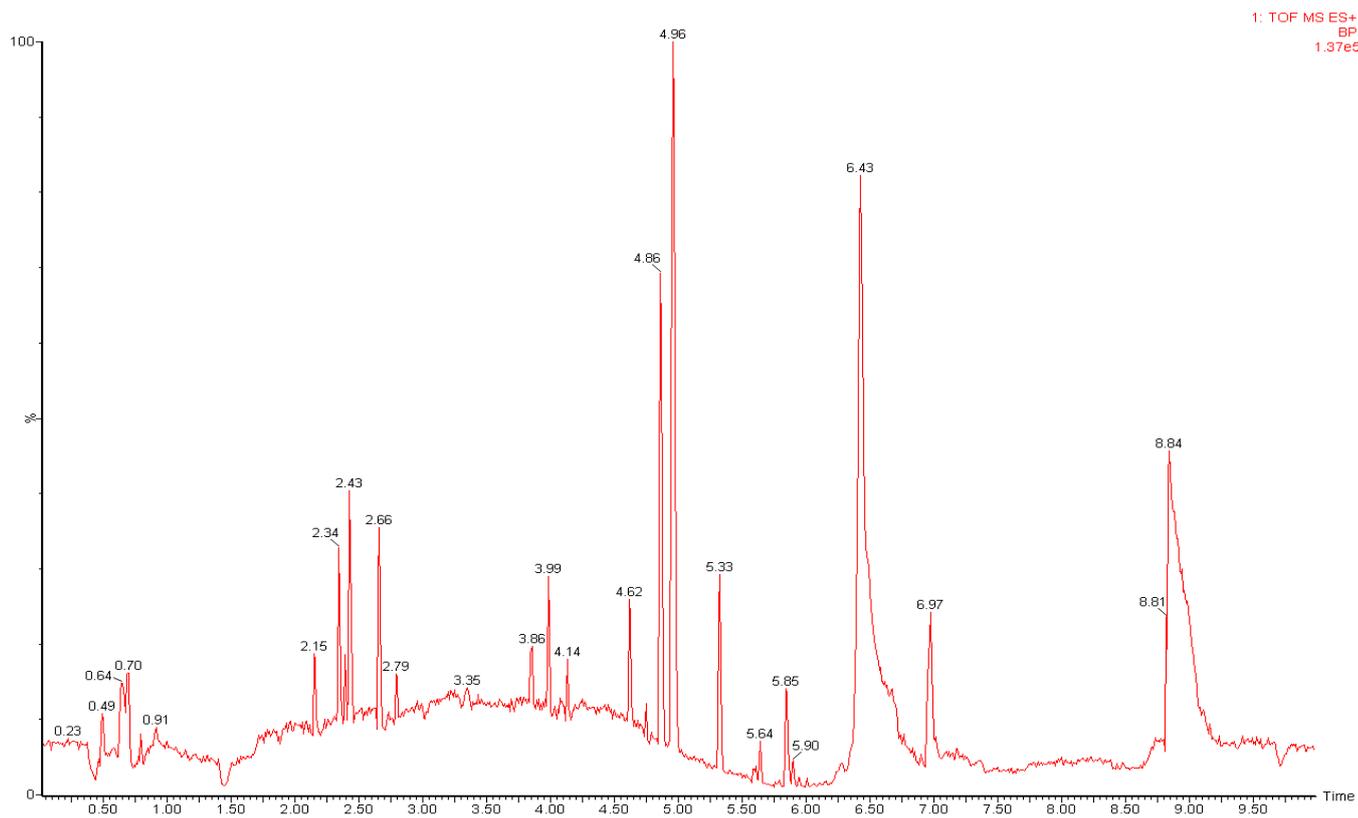


Figure 54 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait Méthanolique de *Salvia Chudaei*.

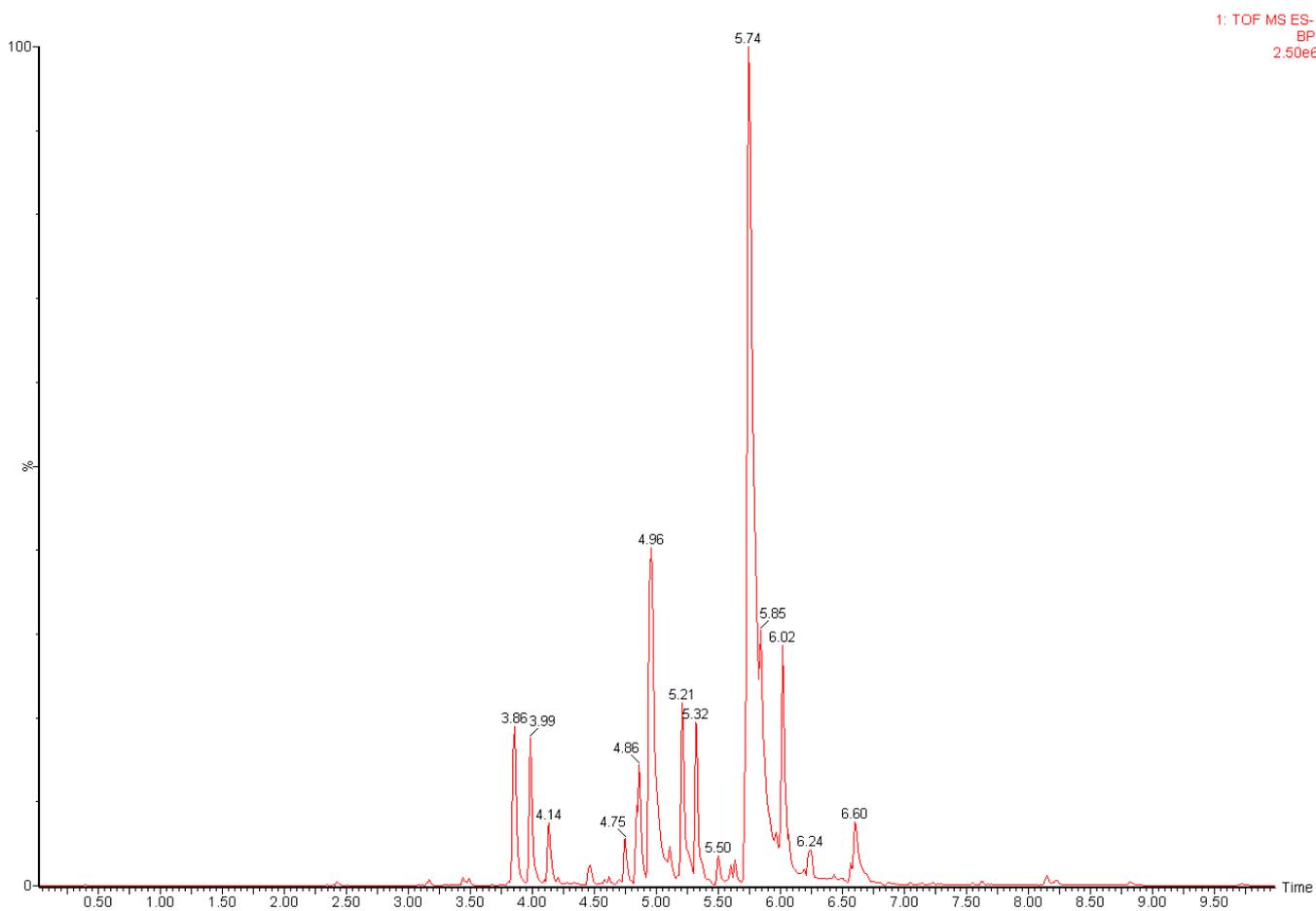
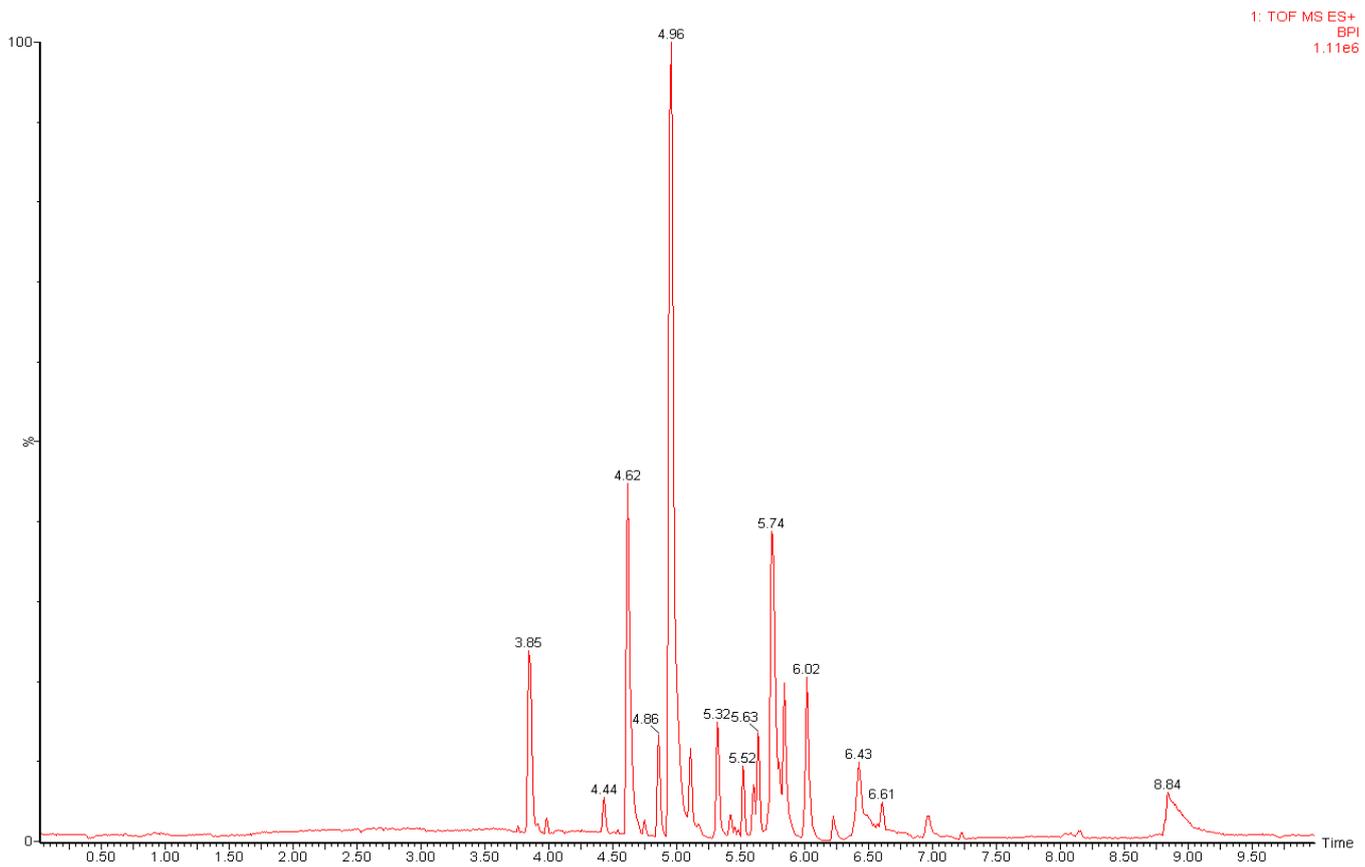


Figure 55 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait AcOEt de *Salvia Chudaei*.

Annexe 6 : Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masses ESI.

Tableau 28 : Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de la masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masse ESI positif et ESI négatif

Table 1. Monoisotopic exact masses of molecular ion adducts often observed in ESI mass spectra					Your M here: 350,00000	Your M+X or M-X 303,0958
Ion name	Ion mass	Charge	Mult	Mass	Result:	Reverse:
1. Positive ion mode						
M+3H	M/3 + 1.007276	3+	0,33	1,007276	117,673943	100,024657
M+2H+Na	M/3 + 8.334590	3+	0,33	8,334590	125,001257	92,697343
M+H+2Na	M/3 + 15.7661904	3+	0,33	15,766190	132,432857	85,265743
M+3Na	M/3 + 22.989218	3+	0,33	22,989218	139,655885	78,042715
M+2H	M/2 + 1.007276	2+	0,5	1,007276	176,007276	150,540624
M+H+NH4	M/2 + 9.520550	2+	0,5	9,520550	184,520550	142,027350
M+H+Na	M/2 + 11.998247	2+	0,5	11,998247	186,998247	139,549653
M+H+K	M/2 + 19.985217	2+	0,5	19,985217	194,985217	131,562683
M+ACN+2H	M/2 + 21.520550	2+	0,5	21,520550	196,520550	130,027350
M+2Na	M/2 + 22.989218	2+	0,5	22,989218	197,989218	128,558682
M+2ACN+2H	M/2 + 42.033823	2+	0,5	42,033823	217,033823	109,514077
M+3ACN+2H	M/2 + 62.547097	2+	0,5	62,547097	237,547097	89,000803
M+H	M + 1.007276	1+	1	1,007276	351,007276	302,088524
M+NH4	M + 18.033823	1+	1	18,033823	368,033823	285,061977
M+Na	M + 22.989218	1+	1	22,989218	372,989218	280,106582
M+CH3OH+H	M + 33.033489	1+	1	33,033489	383,033489	270,062311
M+K	M + 38.963158	1+	1	38,963158	388,963158	264,132642
M+ACN+H	M + 42.033823	1+	1	42,033823	392,033823	261,061977
M+2Na-H	M + 44.971160	1+	1	44,971160	394,971160	258,124640
M+IsoProp+H	M + 61.06534	1+	1	61,065340	411,065340	242,030460
M+ACN+Na	M + 64.015765	1+	1	64,015765	414,015765	239,080035
M+2K+H	M + 76.919040	1+	1	76,919040	426,919040	226,176760
M+DMSO+H	M + 79.02122	1+	1	79,021220	429,021220	224,074580
M+2ACN+H	M + 83.060370	1+	1	83,060370	433,060370	220,035430
M+IsoProp+Na+H	M + 84.05511	1+	1	84,055110	434,055110	219,040690
2M+H	2M + 1.007276	1+	2	1,007276	701,007276	605,184324
2M+NH4	2M + 18.033823	1+	2	18,033823	718,033823	588,157777
2M+Na	2M + 22.989218	1+	2	22,989218	722,989218	583,202382
2M+3H2O+2H	2M + 28.02312	2+	2	28,023120	728,023120	578,168480
2M+K	2M + 38.963158	1+	2	38,963158	738,963158	567,228442
2M+ACN+H	2M + 42.033823	1+	2	42,033823	742,033823	564,157777
2M+ACN+Na	2M + 64.015765	1+	2	64,015765	764,015765	542,175835
2. Negative ion mode						
M-3H	M/3 - 1.007276	3-	0,33	-1,007276	115,659391	102,039209
M-2H	M/2 - 1.007276	2-	0,5	-1,007276	173,992724	152,555176
M-H2O-H	M- 19.01839	1-	1	-19,01839	330,981610	322,114190
M-H	M - 1.007276	1-	1	-1,007276	348,992724	304,103076
M+Na-2H	M + 20.974666	1-	1	20,974666	370,974666	282,121134
M+Cl	M + 34.969402	1-	1	34,969402	384,969402	268,126398
M+K-2H	M + 36.948606	1-	1	36,948606	386,948606	266,147194
M+FA-H	M + 44.998201	1-	1	44,998201	394,998201	258,097599
M+Hac-H	M + 59.013851	1-	1	59,013851	409,013851	244,081949
M+Br	M + 78.918885	1-	1	78,918885	428,918885	224,176915
M+TFA-H	M + 112.985586	1-	1	112,985586	462,985586	190,110214
2M-H	2M - 1.007276	1-	2	-1,007276	698,992724	607,198876
2M+FA-H	2M + 44.998201	1-	2	44,998201	744,998201	561,193399
2M+Hac-H	2M + 59.013851	1-	2	59,013851	759,013851	547,177749
3M-H	3M - 1.007276	1-	3	1,007276	1051,007276	908,280124

Annexe 7 : Spectres de masse correspondant aux principaux pics observés sur les chromatogrammes UPLC-MS

Tableau 29 : Spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC- MS de l'extrait Méthanol

de *Salvia Chudaei*

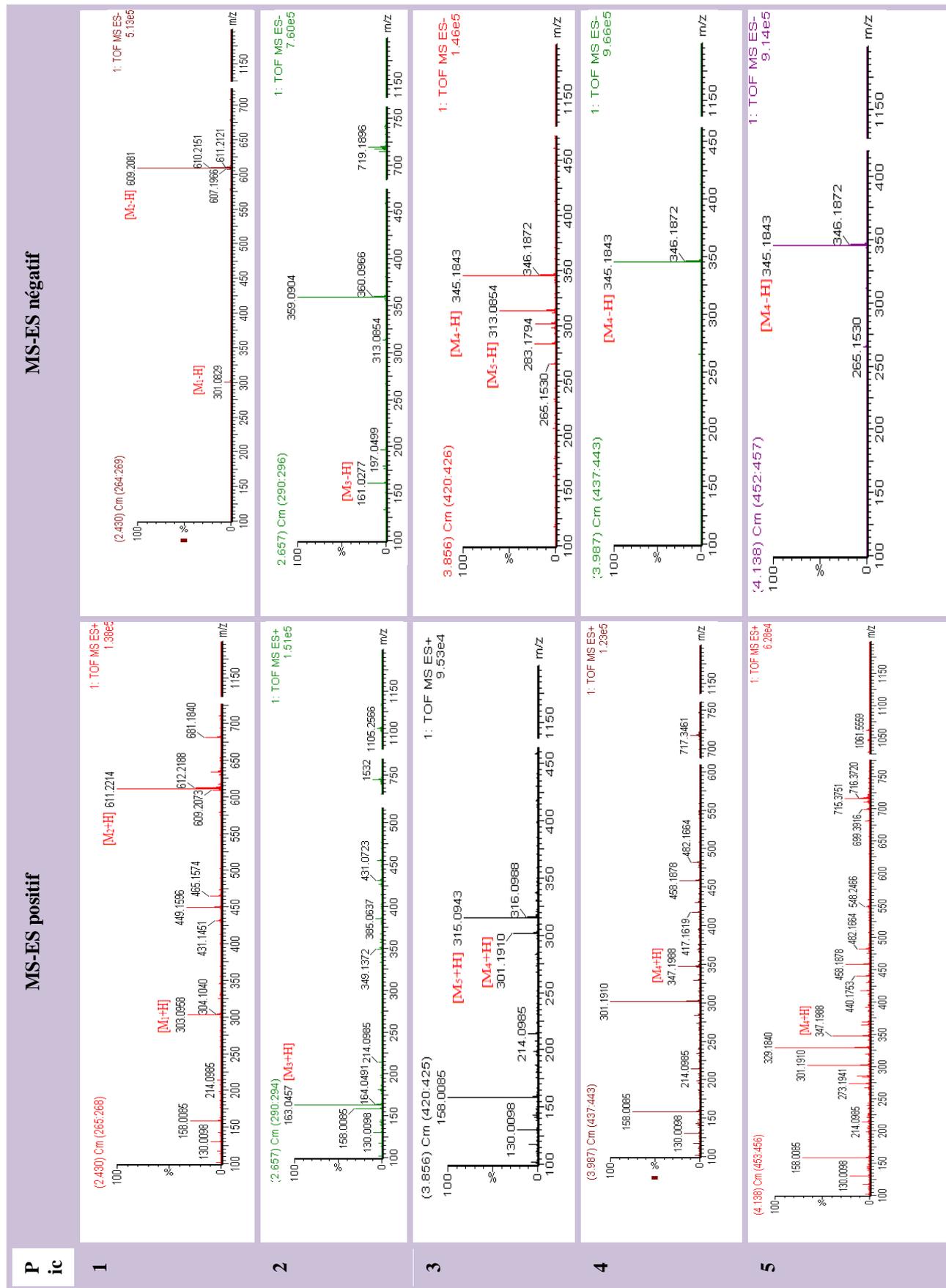
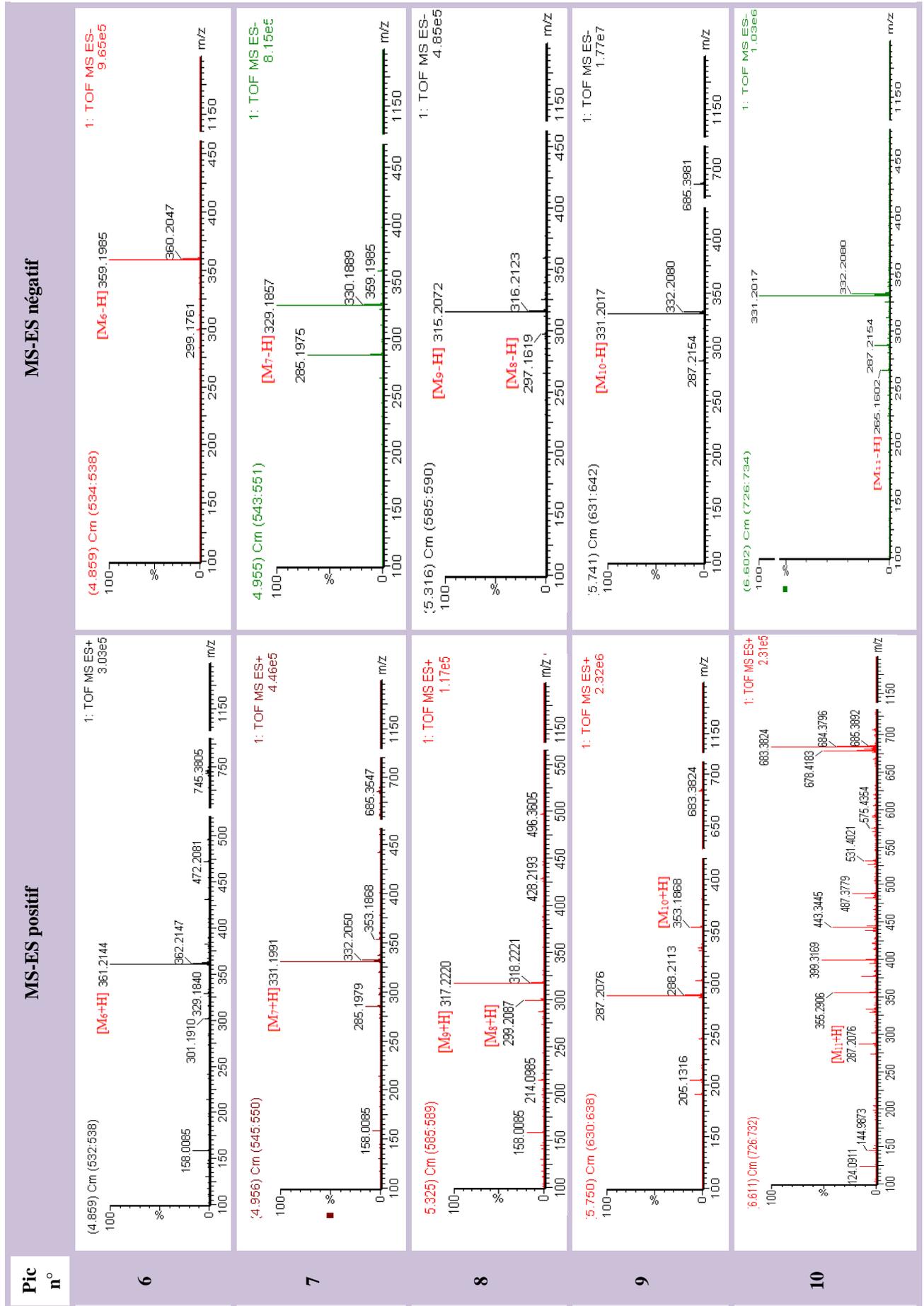


Tableau 30 : Spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC- MS de l'extrait AcOEt

de *Salvia Chudaei*.



Annexe 8 : Autorisation de l'ONPCA (ex. OPNA) pour le prélèvement d'échantillons de plante.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE LA CULTURE
OFFICE DU PARC NATIONAL DE L'AHAGGAR



وزارة الثقافة
ديوان حظيرة الأهمقار الوطنية

N° 284, D /OPNA/ 2013

Tamanrasset, le

AUTORISATION

Considérant l'autorisation n° 965/DPLBCVPC/MC/13 et n° 111/SDV/MC/13 du 19.09.2013 du Ministère de la Culture portant mission de terrain dans le Parc Culturel de l'Ahaggar,

je soussigné, le **Directeur l'Office National du Parc culturel de l'Ahaggar**, autorise MR Dali Mustapha Kamel, enseignant chercheur à la faculté de médecine de Tlemcen, à transporter des échantillons de plantes séchés, à des fins d'analyse au laboratoire. (Voir liste des plantes annexée en tableau ci-dessous)

DIRECTEUR L'OFFICE NATIONAL DU PARC CULTUREL DE L'AHAGGAR
A. AOUALI

Fait à Tamanrasset le 02/10/2013

Tableau des espèces végétales non cultivées échantillonnées
N.Scientifique observation

N.Scientifique	observation
1) <i>Artemisia campestris var glutinosa</i>	
2) <i>Artemisia judaica ssp saharensis</i>	
3) <i>Balanites aegyptiaca</i>	
4) <i>Salvia chudaevii</i>	
5) <i>Cassia italica sp</i>	
6) <i>Lavandula antinea</i>	
7) <i>Pentzia monodiana</i>	
8) <i>Pulicaria crispa</i>	
9) <i>Pulicaria undulata</i>	
10) <i>Myrtus nivellei</i>	
11) <i>Nauplius graveolens</i>	
12) <i>Teucrium polium ssp seuratianum</i>	
13) <i>Teucrium polium ssp geyrtii</i>	
14) <i>Withania adpressa</i>	



OPNA, BP 242, 11000 Tamanrasset, Algérie. E-mail: opnatam@yahoo.fr

Direction : Tél.: +213 (0)29 34 34 17 - Fax : +213 (0)29 34 41 20

Soas Directions Régionales - Tél & Fax :

Tamanrasset: +213 (0)29 34 53 26 - Idelès: +213 (0)29 35 22 89 - In Salah: +213 (0)29 36 11 51

Annexe 9 : Répartition géographique de *Salvia Chudaei*, espèce caractéristique de la souche endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes.

La souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes

Dès 1968, Gillet³² avait évoqué l'existence d'un endémisme dans les massifs sahariens, mais limité à l'Aïr, au Tibesti et à l'Ennedi. De fait, il existe un petit nombre d'espèces endémiques propres à l'ensemble des montagnes sahariennes ou à certaines d'entre elles : Hoggar, Tassili des Ajjer, Aïr, Tibesti, Ennedi, djebel Marra, djebel Elba, Sinaï (figure 29). Quelques espèces présentent des extensions en Arabie occidentale.

Citons comme espèces caractéristiques : *Salvia chudaei* Batt. et Trab. (Lamiaceae) (figure 30) ; *Senecio hoggarensis* Batt. et Trab. (Asteraceae) ; *Solenostemma oleifolium* (Nectoux) Bull. et Bruce ex Maire (Asclepiadaceae) (figure 31).

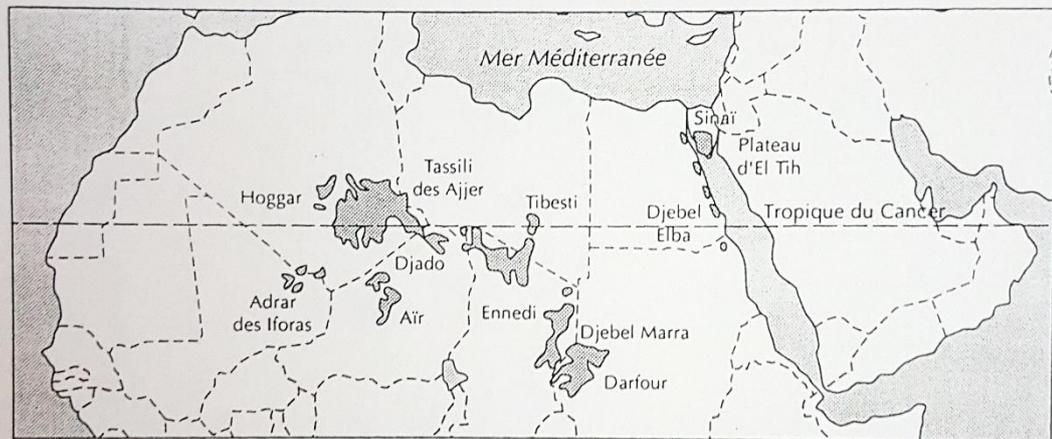


Figure 29. Souche d'endémisme insulaire des montagnes sahariennes.

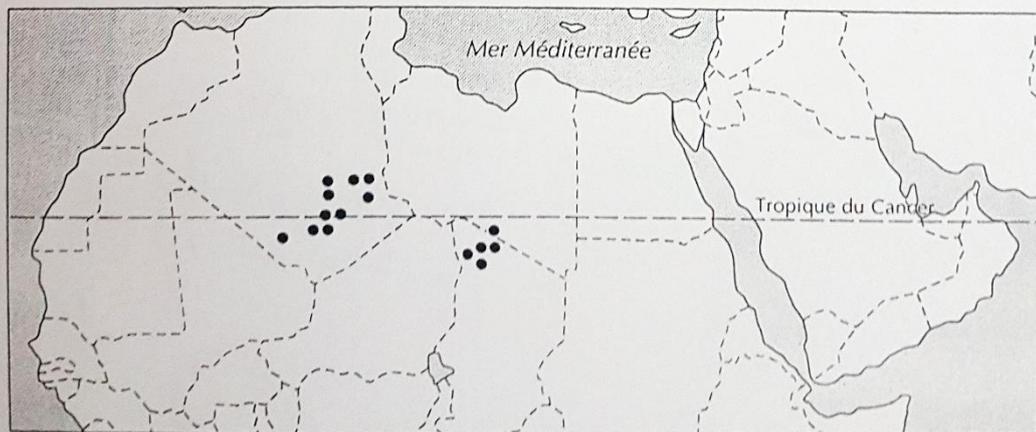


Figure 30. Répartition de *Salvia chudaei*, espèce caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes.

32. GILLET H., 1968. In : Le peuplement végétal du massif de l'Ennedi (Tchad). Mémoire du Muséum national d'histoire naturelle de Paris, nouvelle série B, n° 17, p. 147.

Résumé :

Introduction. - En pharmacie, beaucoup de médicaments majeurs ont été découvert à partir des produits naturels provenant des plantes terrestres. La flore du Sahara Algérien est riche en plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle dont certaines n'ont pratiquement jamais fait l'objet d'études phytochimiques poussées et encore moins d'études pharmacologiques, c'est le cas de *Salvia Chudaei*, espèce aromatique de la famille des lamiacées.

Objectif. - contribuer à l'étude phytochimique de cette espèce endémique de Sahara algérienne, et de confirmer l'usage thérapeutique de cette plante.

Matériels et méthodes. - Le choix de cette espèce est basé sur un critère chimiotaxonomique et l'échantillonnage n'a concerné que les parties aériennes de la plante. Il s'agit d'abord d'établir un profil phytochimique en partant de divers extraits analysés par des méthodes physicochimiques : Les réactions colorées, de fluorescence, et de précipitation utilisée en screening phytochimique ; CCM ; UPLC-MS.

Résultats. - Les résultats de screening phytochimique nous ont permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires : polyphénols, composés terpéniques, flavonoïdes, coumarines, tanins condensés et saponosides, dont la présence a été également confirmée par la CCM.

L'interprétation des spectres UPLC-MS de l'extrait de *S. Chudaei* a abouti à l'identification de composés intéressants : les diterpènes, les polyphénols et les méthoxyflavones.

Conclusion. - À l'issue de cette étude, nous avons pu mettre en évidence des composés bioactifs mentionnés dans la littérature scientifique, connus par leurs activités pharmacologiques, et qui peuvent confirmer le statut de plante médicinale traditionnelle.

Mots clés : *Salvia Chudaei*, plante médicinale traditionnelle, UPLC-MS, diterpènes.

Summary :

Introduction. - In pharmacy, many major drugs have been discovered from natural products of terrestrial plants. The flora of the Algerian Sahara is rich in aromatic plants used in traditional medicine, some of these haven't ever been the subject of an advanced phytochemical studies and even less a pharmacological studies, such as *Salvia Chudaei*, an aromatic species of the Lamiaceae family.

Objectives. -Our work aims to valorize an original species from the extreme south of Algeria (*Salvia Chudaei*) by highlighting the therapeutic quality of its metabolites and confirming its status as a traditional medicinal plant.

Materials and methods. - The choice of this species was based on a chemotaxonomic criterion and the sampling concerned only the aerial parts of the plant..At first, we establish a phytochemical profile starting from various extracts analyzed by physicochemical methods: The colored, fluorescence and precipitation reaction sused in phytochemical screening; TLC; UPLC-MS.

Results. - The results of the phytochemical screening allowed us to highlight various secondary metabolites : polyphenols, terpenes, flavonoids, coumarins, condensed tannins and saponosides, which are confirmed by the CCM. The interpretation of the UPLC-MS spectra of *S.Chudaei* extract leads to the identification of the interesting compound: diterpenes, polyphenols and methoxyflavones.

Conclusion. -At the end of this study, we were able to highlight bioactive compounds mentioned in the scientific litterature, known by their pharmacological activities, and which can confirm the status of traditional medicinal plant.

Key words : *Salvia Chudaei*, traditionnal medicinal plant, UPLC-MS, diterpenes.

ملخص:

مقدمة: في علم الصيدلة، تم اكتشاف العديد من الأدوية الرئيسية من المنتجات الطبيعية للنباتات الأرضية. تعتبر الصحراء الجزائرية غنية بالنباتات العطرية المستخدمة في الطب التقليدي، والتي لم يكن بعضها على الإطلاق موضوعاً لدراسات كيميائية نباتية متطورة أو حتى فارماكولوجية، مثل *Salvia Chudaei*، وهي نوع من النباتات العطرية، تنتمي إلى فصيلة الشفويات.

الهدف: يهدف عملنا إلى تمييز نوع نباتي أصلي من أقصى جنوب الجزائر من خلال تسليط الضوء على القدرة العلاجية لمكوناتها الأيضية وتأكيد مكانتها كنبات طبي للاستخدام التقليدي.

المواد والأساليب: اعتمدنا في اختيارنا للنباتة على معيار تصنيفي كيميائي والعينات المستخدمة اقتصر فقط على الأجزاء الهوائية. أولاً، عملنا على تحديد صورة كيميائية نباتية انطلاقاً من مستخلصات مختلفة تم تحليلها بطرق فيزيائية كيميائية مثل: تجارب التفاعل اللوني، الشعاعي و الترسيب المستخدمة في التحليل الكيميائي النباتي؛ CCM؛ UPLC-MS.

النتائج: سمحت لنا النتائج المتحصل عليها من خلال التحليل الكيميائي النباتي بتسليط الضوء على مختلف المكونات الأيضية الثانوية: البوليفينولات، مركبات التربين، الفلافونويد، الكومارين، العفص المكثف والسابونوسيدات، والتي تم تأكيدها باستخدام CCM. من خلال تحليل أطياف UPLC-MS لمستخلص *Salvia Chudaei* توصلنا إلى التعرف على مركبات مهمة: الديتربين، البوليفينول الميثوكسيفلافون.

الخاتمة: في نهاية هذه الدراسة، تمكنا من تسليط الضوء على المركبات النشطة بيولوجيا المذكورة في المؤلفات العلمية، والمعروفة بقدرتها الفارماكولوجية (الدوائية)، والتي أكدت أحقية استخدامها في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: *Salvia Chudaei*، نبات طبي تقليدي، UPLC-MS، الديتربين.