



HAL
open science

Contribution aux études ethnobotanique et phytochimique des espèces *Plectranthus neochilus* et *P.amboinicus* de l'île de La Réunion

Jessica Nakab

► **To cite this version:**

Jessica Nakab. Contribution aux études ethnobotanique et phytochimique des espèces *Plectranthus neochilus* et *P.amboinicus* de l'île de La Réunion. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02309152

HAL Id: dumas-02309152

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02309152v1>

Submitted on 9 Oct 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE

12 Septembre 2019

PAR

Melle Jessica Nakab
Née le 24/07/1993 à Briançon

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

**CONTRIBUTION AUX ETUDES ETHNOBOTANIQUE ET
PHYTOCHIMIQUE DES ESPECES *PLECTRANTHUS*
NEOCHILUS ET *P. AMBOINICUS* DE LA REUNION**

JURY :

Président : Mme Evelyne Ollivier

Membres : Mr Riad Elias
Mr Claude Marodon

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05

Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean- Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i> Mme Florence GAUREL <i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	M. Maxime LOYENS
----------------------------	------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-

Praticien hospitalier Mme Martine BUES-CHARBIT,

Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET,

Pharmacien titulaire Mme

Florence LEANDRO,

Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de

l'Assurance Maladie Mme Clémence TABELLE,

Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

Remerciements

A ma directrice de thèse, le Professeur Evelyne Ollivier,

Qui depuis le début de mes projets de recherche m'est d'une aide précieuse. Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de diriger mes travaux et d'être présente malgré les kilomètres nous séparant durant la rédaction.

Au Docteur Claude Marodon, mon mentor, et son association l'APLAMEDOM,

Merci de m'avoir soutenue et guidée de près ou de loin et ce dès mon arrivée sur l'île et pour avoir permis la naissance de ce projet, de m'avoir partagé votre passion pour les zerbaz et les plantes péi.

Au Docteur Riad Elias, membre du jury,

Je vous remercie d'avoir accepté d'être membre de ce jury ainsi que d'avoir gardé un œil sur mes travaux.

Au Professeur Anne Bialecki, directrice du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) de l'Université de La Réunion,

Pour m'avoir chaleureusement accueillie au sein de son laboratoire, et au Master Valorisations Chimique et Biotechnologiques de la Biodiversité. Pour son intérêt porté à ce projet qui a permis la réalisation d'extractions et d'analyses. Pour sa grande disponibilité, ses conseils avisés et son aide précieuse.

A toute l'équipe du LCSNSA, Mme Girard-Valenciennes, Mme Fouillaud, Mme Grondin, Mr Shum Cheong Sing, Mr Dufossé, Mr Chasseray,

Pour l'ensemble du Master 2 pour leur disponibilité tant pour les cours que pour le stage.

Au Docteur Christophe Lavergne,

Pour son expertise botanique

A Madame Marie GUSTAVE, présidente de l'APLAMEDAROM (Association pour les Plantes Médicinales et Aromatiques de la Guadeloupe),

Avec qui j'ai pu échanger sur le sujet.

A Monsieur Hermann Thomas, du Parc National de La Réunion, pour les récoltes ainsi que toutes les personnes ayant participé à mon enquête ethnobotanique.

Une pensée pour l'équipe de la Pharmacie du Moufia.

A mes parents,

Sans qui je ne serai pas là aujourd'hui. Vous m'avez toujours soutenue et guidée dans mes décisions personnelles et professionnelles, aussi bien à la maison qu'à l'autre bout du monde. Merci ne suffirait pas... je vous aime fort, mais ça vous le savez déjà.

A ma petite sœur, Elisa,

Ma championne, ma sneaky, ma freestyleuse, mon mini moi avec quelques centimètres de plus. A nos écarts de températures, nos kilomètres qui nous séparent mais qui ne changent rien si ce n'est que... en fait, du coup, je t'aime !

A mes « bros », les grands frères de cœur, Anselme et Valentin,

Je n'aurais jamais eu la PACES sans vous, alors merci ! Le reste vous le savez déjà...

A Lisa et Flora,

Mes correcteurs orthographiques ;) de Marseille à la Réunion, nos histoires ne font que commencer !

A ma deuxième famille, la fac : Mélanie, Mathilde, Arthur, Yann, Kiki, Célio, Yannis, Oli...

Merci pour ces années... Sans vous elles n'auraient pas eu la même saveur, APERO !

A mes crétins des Alpes : Lacondeseow je vous aime !

A Simon,

Mon bro de la RUN, qui me supporte dans l'acceptance...

Une pensée aux co-stagiaires du LCSNSA,

Flavia et sa thérapie par le cri. Elise, Elsa et Keshika pour leurs conseils. Alexandre poto de promo. Charifat et PEC... Merci à tous pour ses moments de convivialité et de partage d'expériences.

Sommaire

Remerciements.....	9
Sommaire	12
Abréviations.....	14
Glossaire	15
Introduction.....	16
I) Un peu de botanique.....	18
1) La famille des <i>Lamiaceae</i>	18
2) Le genre <i>Plectranthus</i> et les espèces présentes sur l'île de La Réunion	19
A) <i>Plectranthus amboinicus</i> : gros baume, ti baume.....	20
B) <i>Plectranthus neochilus</i> : Plante Doliprane® ou Plante Efferalgan®	21
3) Le problème de l'identification botanique.....	23
II) Etude ethnobotanique des espèces <i>Plectranthus neochilus</i> et <i>Plectranthus amboinicus</i>	25
1) Généralités	25
2) Etat de l'art.....	26
A) Usages traditionnels en Amérique latine.....	27
B) Usages traditionnels en Guadeloupe	29
C) Usages traditionnels en Afrique	30
3) Enquête ethnobotanique sur le <i>Plectranthus neochilus</i> à La Réunion	31
A) Enquête auprès des tisaneurs.....	31
B) Enquête auprès de la population	34
III) Etude phytochimique des espèces <i>Plectranthus neochilus</i> et <i>Plectranthus amboinicus</i> de l'île de La Réunion.....	38
1) Généralités	38
2) Travaux antérieurs sur la composition phytochimique des espèces <i>Plectranthus neochilus</i> et <i>Plectranthus amboinicus</i>	41
A) <i>Plectranthus neochilus</i>	41
B) <i>Plectranthus amboinicus</i>	43
3) Etude phytochimique des espèces <i>Plectranthus neochilus</i> et <i>Plectranthus amboinicus</i> de La Réunion	46
A) Matériels et Méthodes.....	46
B) Etude des composés volatils	52
C) Etude des composés non volatils	57
Conclusion	67

Bibliographie.....	69
Liste des photographies.....	72
Liste des figures	72
Liste des tableaux	73
Annexes	74
<i>SERMENT DE GALIEN</i>	85

Abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle

ASE : Extraction Accélérée par Solvant (acronyme anglais)

CBNM : Conservatoire Botanique National de Mascarin

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CG-SM : Chromatographie Gazeuse couplé à la Spectrométrie de Masse

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

DCM : Dichlorométhane

IRR : Indice de Rétention Relatif

EtOH : Ethanol, extrait éthanolique

PA : *Plectranthus amboinicus*

PN : *Plectranthus neochilus*

T : Tisane, extrait aqueux

Tr : Temps de rétention

Uma : Unité de masse atomique

Glossaire

ANDROCÉE, n.m. (du grec andros, homme oikia, maison) : Ensemble des pièces fertiles mâles d'une fleur (étamines).

CALICE, n.m. (du latin calyx, vase sacré) Enveloppe extérieure de la fleur, formée de pièces (sépalés) libres ou soudées entre elles.

CARPELLE, n.m. (du grec karpos, fruit) : Chacun des éléments foliacés libres, accolés ou soudés formant le pistil.

COROLLE, n.f. (du latin corolla, petite corolle) Ensemble de pièces florales libres (dialypétales) ou soudées entre elles (gamopétales), situées entre le calice et les étamines.

CYME : n.f. (du latin cyma, cime) Inflorescence définie dont l'apex est occupé par une fleur, la plus ancienne.

ÉPI, n.m. (du latin spica, pointe) Inflorescence centripète (indéfinie) dont les fleurs ou les groupes de fleurs s'échelonnent le long de l'axe rigide.

ÉTAMINE, n.f. (du latin, stamina, étamine) Organe mâle de la fleur, composé d'un filet dont une extrémité est fixée sur le réceptacle ou sur la corolle et l'autre extrémité supporte les anthères

GLOMÉRULE, n.m. (du latin glomus, -eris, boule, peloton) Inflorescence dense et globuleuse, constituée par le regroupement de fleurs sessiles fixées au même niveau sur un axe.

INFLORESCENCE : n.f. (du latin inflorescere, se couvrir de fleur) 1- Mode de groupement des fleurs sur une plante ; 2- Ensemble des fleurs d'une plante.

LOBE, n.m. (du grec lobos, lobe) 1- Division arrondie et peu profonde du limbe d'une feuille ; 2- Division de l'extrémité du calice ou de la corolle d'une fleur gamosépale et/ou gamopétale.

PÉTIOLE, n.m. (du latin petiolus, petit pied) Partie rétrécie reliant le limbe d'une feuille à la tige.

SÉPALE, n.m. (du grec skepé, couverture ; pétalon, pétale) Pièces, libres ou soudées entre elles, constituant le calice de la fleur.

SYMPODIAL, dérivés de bourgeons latéraux (bot.)

Introduction

Département français d'Outre-mer depuis 1946, l'île de La Réunion est unique par la richesse de sa biodiversité mais également par sa médecine traditionnelle pleine de métissage due à son histoire et son brassage culturel.

En effet, lorsque l'on se penche sur celle-ci on se rend vite compte du mélange culturel reflétant le vivre ensemble réunionnais : les médecines chinoises et ayurvédiques se sont adaptées à l'île et les créoles s'en sont inspirés pour élaborer leur propre médecine traditionnelle.

Ici les remèdes de grand-mères sont très présents ; une médecine familiale dont la transmission se fait par voie orale, un empirisme qui a su se transmettre et se maintenir malgré la médecine dite conventionnelle. Ici les gens se soignent avec des « zerbaz », tisanes préparées à l'aide de plantes médicinales que l'on peut trouver dans les marchés forains auprès de tisaneurs ou au fond d'un jardin...

Actuellement, l'allopathie fait l'objet de plus en plus de réticences auprès des patients, elle n'est plus en odeur de sainteté dans le paysage médical actuel, jusqu'à faire l'objet de rejet de la part des consommateurs [1]. Ses limites, mêlées à la culture réunionnaise, ont emmené la population de l'île à chercher une aide auprès des plantes locales lors de l'épidémie de Chikungunya (2005-2007) [2].

J'ai pu constater lors de mon stage de pratique professionnelle, à la pharmacie du Moufia à Sainte-Clotilde (97490), la place bien ancrée de cette médecine traditionnelle. Toutes générations confondues.

Alors que j'interrogeais mes collègues sur certaines pratiques de cette médecine, l'une me parle de la plante Doliprane. Comment ne pas être surpris en tant que futur pharmacien en entendant ce nom plutôt osé ? « Il y aussi la plante Efferalgan » surenchérit-elle... Comment une marque de médicament, un des plus consommé en France [3], peut-il être employé comme nom vernaculaire ? Ainsi se dessina mon sujet de thèse, alliant mon attrait profond pour les plantes médicinales et la chimie des substances naturelles pour mêler savoir empirique et connaissances scientifiques.

Ces travaux n'auraient pu se faire sans l'aide précieuse du Dr Claude Marodon et l'association l'APLAMEDOM, Association des Plantes Aromatiques et Médicinales de La Réunion, dont il est président. Cet organisme privé pluridisciplinaire coordonne la recherche et la valorisation des plantes de la pharmacopée traditionnelle réunionnaise. L'objectif de cette association est double. Sécuriser l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques et inciter une valorisation économique et durable de cette ressource dans différents secteurs. Elle se situe à l'interface entre la recherche scientifiques et les producteurs, transformateurs et porteurs de projets. Cette association a permis l'inscription de 22 plantes à la pharmacopée française par l'élaboration de monographies déposées à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) en partenariat avec les organismes de recherche de l'île de La Réunion, dont le LCSNSA (Pr. Jacqueline SMADJA). C'est dans cet objectif de rédaction de monographies que nous avons entrepris les recherches sur *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus*.

I) Un peu de botanique

1) La famille des *Lamiaceae*

On ne présente plus la famille des *Lamiaceae*, groupe majeur des Angiospermes parmi lesquels on retrouve les genres telle que *Salvia* (sauge), *Ocimum* (basilic) et *Mentha* (menthe) avec diverses utilisations, qu'elles soient alimentaires ou médicinales.

Classée chez les Angiospermes et faisant partie des Dicotylédones vraies, cette famille rassemble des plantes herbacées ou arbustives (très rarement des arbres). Les feuilles sont opposées, parfois verticillées ou alternes, généralement simples. Elles sont souvent dentées, velues et glanduleuses. La tige, fréquemment velue, présente une section quadrangulaire. Les fleurs sont hermaphrodites, groupées en cymes compactes ou plus rarement solitaires en position axiale. Les inflorescences, de type sympodial, forme un glomérule disposé en épi. Le calice, souvent persistant, est pentamère tout comme la corolle, possédant ainsi cinq lobes pouvant être bilabié. L'androcée est didyname car possède 2 étamines courtes et 2 longues (on parle d'hétérostémonie). [4-5].

La formule florale générale de cette famille est la suivante :

$$F = (5S) + (5P) + 4E + 2\underline{C}$$

Soit 5 sépales soudés entre eux, tout comme les pétales. 4 étamines et 2 carpelles qui sont posées sur le thalamus.

Cette famille est présente sous tous les climats, à toutes les latitudes. Très présente dans la région méditerranéenne, ces plantes aromatiques possèdent des poils sécréteurs à essence. Leur intérêt économique est multiple : elles sont aussi bien utilisées en parfumerie qu'en aromathérapie, mais également dans l'alimentation et la phytothérapie.

Dans la recherche de nouvelles molécules et de cibles pharmacologiques, les plantes médicinales occupent une belle place. Elles ont suscité beaucoup d'intérêt durant les dernières décennies. En effet celles-ci sont à la base des médecines traditionnelles et on estime à 80% la population des pays en développement ayant recours à ces pratiques pour les soins de santé primaire [6]. Les études sur le terrain sont précieuses et les seules permettant de connaître ces pratiques traditionnelles : il s'agit d'aller au contact direct des personnes qui se soignent de cette façon en espérant qu'elles acceptent de partager leur savoir... Cela ferait l'objet de la deuxième partie de cette thèse.

2) Le genre *Plectranthus* et les espèces présentes sur l'île de La Réunion

Parmi cette grande famille botanique, on retrouve le genre *Plectranthus*, appartenant à la sous-famille des *Nepetoideae*, tribu *Ocimeae*, sous-tribu *Plectranthinae*. Ce genre large contient plus de 300 espèces réparties partout dans le monde, notamment dans les régions chaudes et tropicales, allant de l'Afrique à l'Inde en passant par le Brésil et l'Australasie. Ces espèces sont prolifiques et présentent diverses utilisations, aussi bien horticole, alimentaires que médicinales. [7]

D'après l'index du Conservatoire Botanique Nationale de Mascarin (CBNM) [8], les *Plectranthus* ont été introduits par l'activité humaine, de façon fortuite ou volontaire, sur l'île de La Réunion et se propagent localement : on dit qu'ils sont sténo-naturalisés. On les retrouve sur l'ensemble de l'archipel des Mascareignes, avec des diversités d'espèces. A La Réunion, elles sont toutes exotiques.

Le CBNM possède un service de conservation de la flore et des habitats. Selon le CBNM, il existe au moins 4 *Plectranthus* à La Réunion : *P. amboinicus* Spreng, *P. neochilus* Schltr, *P. scutellarioides* R.Br, et le *P. ornatus* Codd (ce dernier ayant été signalé comme plante ornementale mais non référencé). Les deux premiers sont utilisés pour leurs vertus médicinales mais sont souvent confondus : leurs morphologies sont proches.

A) *Plectranthus amboinicus* : gros baume, ti baume



Photographie 1 : *Plectranthus amboinicus* (Jessica Nakab)

Plectranthus amboinicus est connu depuis quelques décennies déjà. Il présente diverses utilisations en médecine traditionnelle réunionnaise et est connu sous les noms vernaculaires de « Gros Thym » ou « Gros Baume » ou encore « Ti Baume » [9]. Originaire d'Asie tropicale, il est considéré comme une espèce exotique sur l'île de La Réunion. On peut la trouver également sous les noms de *Coleus amboinicus* ou *Coleus aromaticus*.

Cette plante herbacée dégage une forte odeur aromatique que certains associent au thym (d'où son nom). Sa tige peut atteindre 1m de hauteur et est charnue, ramifiée et pubescente. Ses feuilles sont attachées à la tige par un pétiole qui peut mesurer entre 1 cm à 5 cm. Elles sont épaisses, simples, opposées et charnues. Le lobe est ovale, mesure entre 4 à 10 cm de long pour 3 à 9 cm de large. La base est le plus souvent atténuée. L'apex est obtus voire arrondi. Les bords sont grossièrement crénelés voire dentés et les deux faces sont recouvertes de poils. Les poils glandulaires confèrent à la face inférieure du lobe un aspect givré. Les inflorescences sont en grappe terminale de 10 à 20 cm composées de 10 à 20 verticilles de fleurs. Les fleurs, de couleur blanchâtre, sont formées d'un calice hirsute et glandulaire mesurant entre 1,5 à 4 mm de long, et d'une corolle de 8 à 12 mm

de long. Les fruits sont des tétrakènes allongés, glabres avec une surface lisse de couleur brun pâle, de 7 mm de long et 5 mm de large.

Cette plante est rarement attaquée par les insectes ou les parasites mais elle va attirer les abeilles, les syrphes et les papillons grâce à son nectar.

Elle est peu exigeante en termes de lumière et d'eau : elle peut être cultivée à l'ombre et résister à de longues périodes de sécheresse. Elle apprécie les sols limoneux profitant d'un bon drainage. Sa croissance est relativement rapide et demande peu d'entretien. Sa reproduction peut se faire de façon sexuée ou de manière végétative par bouturage des tiges ou des racines. [10-11]

B) *Plectranthus neochilus* : Plante Doliprane® ou Plante Efferalgan®



Photographie 2 : *P. neochilus* (Jessica Nakab)

Plectranthus neochilus n'est pas référencé dans la Flore des Mascareignes (ouvrage incontournable pour l'étude la flore locale), il ne serait probablement pas présent sur l'île dans les années 1990. Selon le Dr Christophe LAVERGNE, responsable du service « Conservation de la

Flore et des Habitats » du CBNM, il serait apparu à La Réunion entre les années 2000 et 2010, notamment pendant l'épidémie de chikungunya qui sévit de 2005 à 2007. Le traitement de cette maladie, étant uniquement symptomatique, est limité. On administre du paracétamol ou d'autres antalgiques de paliers supérieurs qui peuvent causer des effets indésirables. L'utilisation de l'aspirine augmente le risque de saignement et l'utilisation de la corticothérapie est encore incertaine. Pour toutes ces raisons, la population locale a cherché une aide auprès des plantes « *pei* » (ou rapportées dans notre cas) pour soulager leurs symptômes [2].

Cette plante exotique nous vient du sud du continent Africain : de Zambie, de Namibie, du Botswana et d'Afrique du Sud. On la retrouve dans plusieurs régions tropicales et subtropicales où le climat est chaud et un peu sec, comme au Brésil ou dans les Antilles Françaises.

Elle porte des noms vernaculaires différents mais toujours dans la même idée. Selon son allégation : Plante Doliprane® ou Efferalgan®, Zeferalgan, Menthe Efferalgan®, et aussi Plante Dafalgan®... De quoi faire sourire un pharmacien ! On peut la trouver également sous les noms scientifiques de *Coleus neochilus* Schltr. Codd, ainsi que *Coleus schinzii* Gürke.

Les feuilles de cette plante herbacée dégagent une forte odeur aromatique qualifiée par certains comme peu agréable. Certains identifient l'odeur comme étant celle du cannabis, d'autres comme celle d'herbes aromatiques comme le thym, le romarin ou l'estragon.

Elle forme un tapis sur le sol, très ramifié et touffu en conditions optimales. Sa tige, finement à densément couverte de poils peut atteindre 12 à 50 cm de hauteur lorsqu'elle est moins exposée au soleil. Les feuilles charnues sont de couleur vert clair à gris vert, opposées et luisantes, elles mesurent de 2 à 5 cm de long pour 1,5 à 3,5 cm de large. Le pétiole mesure entre 0,5 à 1,5 cm de long. Le limbe est duveteux, de forme obovale avec les marges légèrement dentées à l'apex.

Les inflorescences sont rangées par grappe en épi terminal à 4 angles, composées de 4 rangées de bractées densément imbriquées. Les fleurs sont petites, tubulaires à 2 lèvres avec la lèvre supérieure relevée divisée en 2 lobes, la lèvre inférieure est plus grande. Elles sont de couleur bleu profond à violet et fleurissent de septembre à avril, par ouverture progressive de chaque verticille de fleurs avec perte de bractée entourant chaque verticille et élongation du rachis entre les verticilles ouverts. On peut voir jusqu'à 13 verticilles.

Ce *Plectranthus* est peu exigeant, il préfère les sols limoneux voir sableux bénéficiant d'un bon drainage. Ses besoins en eau sont faibles et il ne présente aucune exigence particulière concernant la lumière.

3) Le problème de l'identification botanique

En raison d'un manque de critères morphologiques clairement définis, certaines espèces du genre *Plectranthus* sont difficiles à identifier. Des problèmes taxonomiques résultent de ce manque avec pour résultat différents noms employés, aussi bien vernaculaires que scientifiques, pour désigner les mêmes espèces de *Plectranthus*. De plus, les espèces du genre les plus couramment utilisées pour leurs propriétés médicinales sont celles présentant le degré le plus élevé de synonymie [12].

Au Brésil, c'est un genre qui est utilisé en médecine traditionnelle et qui a fait l'objet de plusieurs articles scientifiques.

Une expérience a été réalisée avec des écoliers pour souligner la capacité d'adaptation du *Plectranthus neochilus*. Différentes conditions de cultures ont été testées en faisant varier l'exposition à la lumière, la composition du sol et l'altitude. La plasticité phénotypique du *P. neochilus* se vérifie facilement. Comme toutes espèces végétales, elle s'adapte à son environnement. Cette plasticité reflète la compensation physiologique s'exprimant aussi par des différences de composition métabolique [13]. En réponse à des différences environnementales, on peut observer une augmentation de la longueur internodale, c'est-à-dire la distance entre les feuilles le long des branches, ainsi qu'une augmentation de la taille des feuilles.



Photographie 3 : Différences morphologiques chez *P. neochilus* (Jessica Nakab)

Toujours au Brésil, il a été vérifié qu'avec la réduction de la disponibilité de la lumière solaire, le *P. neochilus* augmente la surface de ses feuilles et la distance entre les nœuds pour une utilisation optimale de la luminosité dans le processus photosynthétique. A contrario, exposé pleinement au soleil, la surface des feuilles est moins importante et les distances internodales sont réduites. Les feuilles vont être pratiquement superposées pour éviter un stress dû à un excès de lumière [14]. Ces phénomènes s'observent sur la photographie ci-dessus où une même bouture a été plantée à deux endroits différents d'un jardin, une exposée au soleil, à droite, l'autre très peu, à gauche. Cette plante s'adapte selon ses besoins, et ces différences pourraient laisser croire à un œil non averti qu'il s'agit de deux plantes différentes.

Une étude réalisée au Brésil publiée en 2010 [15], visait à étudier la génétique de quatre espèces de *Plectranthus* différents, dont le *P. amboinicus* (PA) et le *P. neochilus* (PN). Les chercheurs se sont aperçus que la difficulté à trouver des marqueurs morphologiques et phénotypiques pour distinguer les espèces pouvait entraîner à des utilisations inappropriées de ces plantes. Les teneurs en principes actifs peuvent varier considérablement selon les génotypes.

En utilisant une technique basée sur la PCR (Polymerase Chain Reaction), l'amplification en chaîne par polymérase, qui a l'avantage d'être une technique simple et rapide, une analyse moléculaire des plantes a été réalisée par RAPD pour Random Amplified Polymorphic DNA, soit l'amplification aléatoire d'une séquence d'ADN. Ils ont étudié l'effet de localisation pour une espèce et se sont aperçus que la similarité génétique entre les lots de sites différents était supérieure à 96%. Les 4% restant peuvent expliquer les variabilités qu'il peut y avoir au sein d'une même espèce en fonction de sa localisation. Cette différence de 4% est très importante pour deux spécimens de la même espèce.

L'information principale retenue de cet article est que le PN et le PA ont une similarité génétique élevée, atteignant 80%. Ceci peut expliquer les nombreuses confusions entre les deux mais aussi la proximité de leur profil chimique, que nous étudierons dans la troisième partie de cette thèse.

La génétique pourrait devenir un outil indispensable pour l'identification d'espèce végétale, ce qui permettrait de limiter les confusions d'espèces au sein même du monde scientifique.

II) Etude ethnobotanique des espèces *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus*

1) Généralités

L'Organisation Mondiale de la Santé définit la médecine traditionnelle comme « la somme totale des connaissances, compétences et pratiques reposant sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé, ainsi que prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales. »

L'ethnobotanique est définie comme l'étude des rapports entre un groupe ethnique et la flore de l'espace dans lequel il vit. [16]

Marc Rivière, pharmacien spécialisé en phytothérapie et auteur de nombreux ouvrages, lors d'une conférence pour l'Association des Amis de l'Université le 30 octobre 2007, définit l'ethnobotanique comme la connaissance de l'utilisation des plantes par l'Homme, qu'elles soient alimentaires, médicinales ou toxiques [17]. Cette science consiste à réunir des données provenant d'ouvrages anciens ou auprès de la population disposant d'un savoir ancestral vivant près de la nature, mais elle ne peut être appliquée réellement à La Réunion car l'empirisme qui y règne est très jeune. Il le décrit comme spécial, naissant dans des conditions particulières voire uniques au monde. Cela est dû à l'isolement quasi-total de la métropole au début du peuplement de l'île, de la présence de plantes spécifiques et de la parfaite connaissance de la nature des ancêtres malgaches.

Selon le pharmacien, l'ethnobotanique est aujourd'hui obsolète et fait place à l'étude scientifique. On parle d'ethnopharmacognosie. Elle mêle deux disciplines que sont l'ethnobotanique et la pharmacognosie pour aller à la quête des plantes qui guérissent et de leur connaissance scientifique. On procède toujours à partir d'enquêtes sur le terrain qui s'accompagnent d'une analyse chimique pour isoler les molécules actives. Puis d'une phase pharmacologique pour rechercher une éventuelle toxicité et étudier l'activité, qui peut déboucher sur une phase clinique.

C'est dans cette dynamique d'ethnopharmacognosie que j'ai réalisé mes travaux autour de la plante « Doliprane » lors de mon stage de Master 2 Valorisations Chimique et Biotechnologiques de la Biodiversité, au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) de l'Université de La Réunion. Dans un premier temps j'ai réalisé une enquête de terrain à la rencontre de la population et des experts en « zerbaz » (= tisanes) pour recenser l'utilisation qui est faite sur l'île du PN, puis dans un second temps, une étude chimique couplée à des tests d'activités et de toxicités en partenariat avec la Faculté de pharmacie de Marseille.

Ce travail s'inscrit donc dans une démarche ethnopharmacologique qui se déroule en trois étapes : travail de terrain, travail de laboratoire puis retour vers le terrain. Les deux premières étapes de cette démarche ont été réalisées durant cette étude.

2) Etat de l'art

Le genre *Plectranthus* est retrouvé aux quatre coins du monde. De l'Afrique à l'Asie en passant par l'Amérique et l'Australasie jusqu'au Pacifique. La majorité des plantes de ce genre se concentre notamment en Afrique subsaharienne. Parmi ses 300 espèces, plus de 20% sont utilisés à des fins médicinales, ornementales, alimentaires ou comme aromates, mais également pour nourrir le bétail et comme matériau. [12]

85% des utilisations sont médicinales avec comme fait intéressant qu'une même espèce peut avoir différentes allégations selon la zone géographique dans laquelle elle se situe. Elles sont recommandées souvent pour les troubles digestifs, mais aussi pour les problèmes de peau ou respiratoires, des troubles infectieux et également contre la douleur. [12]

Parmi les espèces médicinales de ce genre, *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus* présentent diverses allégations selon les régions du monde.

Une allégation de santé est le résultat de l'observation de l'usage mais ne valide pas l'efficacité de celui-ci à la différence d'une indication qui est le résultat de la validation objective de l'allégation aux travers divers essais, comme dans un dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)

A) Usages traditionnels en Amérique latine

- **Plectranthus neochilus**

Au Brésil, *Plectranthus neochilus*, connu sous les noms vernaculaires de « boldo », « boldo gamba », est utilisé pour traiter l'insuffisance hépatique et la dyspepsie.

Ses feuilles sont utilisées fraîches en infusion ou en extrait aqueux à des fins curatives. [18]

Son utilisation et ses noms peuvent varier d'une région à une autre du Brésil. On peut également la rencontrer sous le nom de « boldo mirim » pour traiter les troubles digestifs [13].

Cette plante d'origine africaine a été introduite au Brésil à l'époque coloniale [14], et est aussi connue sous le nom de Boldo Japonais. Elle présente des propriétés aromatiques et ornementales mais surtout médicinales, toujours pour traiter l'insuffisance hépatique et la dyspepsie.

Une enquête ethnobotanique, réalisée en 2017 par le Laboratoire Ecologie, Evolution, Interactions des Systèmes Amazoniens de l'Université de Guyane à Cayenne, visait à recenser l'utilisation de plantes médicinales au sein d'une population urbaine et jeune (la moitié de la population a moins de 25 ans, INSEE 2013). [19]

Dans celle-ci, l'introduction parle de l'histoire de ce territoire d'Outre-mer, proche de celle de l'île de La Réunion. Colonie pénitentiaire depuis 1852, elle est le lieu d'un brassage ethnique et culturel mêlant créoles (issue du métissage entre colons blancs ou condamnés avec des esclaves africains), Marrons (descendants d'esclaves échappés), et des immigrants originaires des Caraïbes, des Guyanes voisines, du Brésil, de l'Asie. Ces populations se rencontrent durant leurs parcours scolaires, sur les marchés... et on aperçoit que les pratiques de santé quotidiennes, bien qu'influencées par les antécédents familiaux culturels, changent rapidement. Comme sur l'île de La Réunion, voire au sein de la France, on assiste à un engouement croissant pour les médecines alternatives et complémentaires liées à un renouveau culturel. Ces phénomènes permettent aux plantes médicinales de revenir au cœur des soins de santé quotidiens : 71% des jeunes citadins guyanais font confiance aux phytothérapies locales.

Aussi, les migrations s'accompagnent de transports de plantes, ce qui a permis à la Guyane, comme à La Réunion, d'alimenter la biodiversité locale par des plantes exotiques.

C'est le cas de *Plectranthus neochilus*, qui a été déposé pour la première fois au sein de l'herbier de Cayenne lors de cette enquête de 2017. Cette plante exotique venue d'Asie, a été citée à 5 reprises lors de cette étude sur 83 personnes. Les allégations sont proches de celles tenues à l'île de La Réunion, à savoir qu'elle soigne les maux de dents et l'état grippal. Elle est utilisée par voie orale, sous forme d'infusions ou de décoctions de feuilles. Malheureusement aucun nom vernaculaire n'est cité dans l'article.

- ***Plectranthus amboinicus***

L'étude réalisée en Guyane [19] rapporte également l'utilisation du *Plectranthus amboinicus* sous forme d'infusion ou de décoction des feuilles et des branches pour soulager les symptômes de la grippe. Elle peut être également utilisée à titre préventif ou curatif pour des affections respiratoires diverses.

Dans la revue réalisée en 2006 [12], le *Plectranthus amboinicus* représente presque 70% de toutes les utilisations traditionnelles du genre pour traiter un large éventail de maladies.

Au Brésil, elle est utilisée pour le traitement des ulcérations cutanées causées par *Leishmania braziliensis*. Sous forme de sirop elle est utilisée pour le traitement de la toux [20]. Toujours en Amérique latine, on l'utilise pour faire baisser la fièvre. Les feuilles sont utilisées en Amazonie (mais aussi en Inde) pour traiter les infections urinaires.

Un peu plus au nord, dans les Caraïbes, la plante est utilisée pour traiter l'insuffisance cardiaque congestive mais également pour les infections bronchiques, l'asthme et soulager les symptômes associés tel que la toux. Une infusion ou une décoction ou encore un sirop des feuilles de *Plectranthus amboinicus* sont également utilisés pour les troubles nerveux tels que l'épilepsie et les convulsions.

Des utilisations externes de la plante ont également été rapportées : une lotion réalisée à base des feuilles est utilisée en massage pour faire baisser la fièvre, soulager les maux de têtes et pour soulager les inflammations articulaires.

B) Usages traditionnels en Guadeloupe

L'Association pour les Plantes Aromatiques et Médicinales de la Réunion (APLAMEDOM Réunion) a son homologue en Guadeloupe l'APLAMEDAROM (Association pour les Plantes Médicinales et Aromatiques de la Guadeloupe). J'ai pu échanger avec la présidente Madame Marie Gustave au sujet des *Plectranthus* qui sont retrouvés sur les deux Départements avec des noms vernaculaires et des allégations similaires.

Trois espèces du genre sont présentes sur le département antillais :

- Le *Plectranthus grandis* (non présent à La Réunion) connu sous le nom vernaculaire d' « Efferalgaan ® »
- Le *Plectranthus neochilus* appelé « Doliprane® »
- Le *Plectranthus amboinicus* qui lui est, comme à La Réunion, le « Gros Thym », ou « Gros Baume », « ti Baume » ou « Lipérou » (ce dernier spécifique à la Guadeloupe)

Madame Gustave a mené une investigation sur l'utilisation de la Plante Doliprane : sur une vingtaine de personnes interrogées elle n'a obtenu que 3 réponses. Elle est utilisée en infusion contre les céphalées mais également en inhalation de feuilles fraîches qui par leur parfum soulagent les maux de tête. Elle me signale également que la plante Doliprane fait l'objet de nombreuses erreurs et confusions d'identifications, parfois même dans de récentes publications. Ce problème d'identification représente un obstacle majeur récurrent lors de toute enquête ethnobotanique.

Tout comme à La Réunion c'est une plante exotique, ne faisant pas partie du patrimoine végétal, elle est arrivée il y a une douzaine d'année sur l'île. Peu de gens l'utilisent comme plante médicinale, mais on la retrouve en ornement pour éloigner les fourmis.

Le Gros Thym, lui, est utilisé en cuisine comme aromate. Du côté médicinal, il est utilisé en bain, associé à d'autres plantes médicinales, contre les boutons de chaleur (appelés en Guadeloupe comme à la Réunion, la « bourbouille ») et aussi en emplâtre pour les piqûres d'insectes [21].

C) Usages traditionnels en Afrique

- ***Plectranthus neochilus***

En Afrique du Sud, un article datant de 2011 [22] révèle pour la première fois l'utilisation de cette plante pour lutter contre les infections respiratoires ou les symptômes associés. Cette enquête menée au sein de la population rurale d'une région du pays a recensé les modes de préparation. « L'ibozane » est mélangé avec du *Lippia javanica* (une poignée de feuilles de chaque plante) puis, plongé dans 2 L d'eau portés à ébullition. Du sucre peut-être ajouté pour diminuer l'amertume. Il est recommandé de prendre une cuillère à soupe 3 fois par jour de ce mélange pour traiter les frissons, la toux, le nez qui coule ou le nez bouché. Il peut être consommé par les enfants, au lieu d'une cuillère à soupe, on préférera la cuillère à café.

- ***Plectranthus amboinicus* :**

En Afrique, au Nord à l'Est et au Centre Afrique, mais également en Inde [12], le *Plectranthus amboinicus* est utilisé pour traiter divers troubles digestifs (maux de ventre, nausées, vomissements, diarrhées...) la dysenterie et certaines infections buccales.

Il est également utilisé comme remède contre la fièvre et les maux de tête. On l'utilise aussi contre les morsures de serpent au Kenya et au Gabon [12].

Plectranthus amboinicus est connu depuis quelques décennies déjà à l'île de La Réunion. Il présente diverses utilisations en médecine traditionnelle réunionnaise. Les feuilles peuvent être écrasées avec celles de l'Ayapana (*Ayapana triplinervis*) et appliquées sur les blessures en compresses. Les feuilles en infusion sont également utilisées pour laver les plaies en usage externe ou alors en usage interne pour soulager un état grippal (on ajoute généralement du miel pour adoucir le goût). En cataplasme, cette plante peut être associée au camphre ou à du gingembre contre les douleurs rhumatismales. [9]

Afin de contribuer à l'étude ethnobotanique d'une espèce peu connue à La Réunion, *Plectranthus neochilus*, j'ai réalisé une enquête auprès de la population locale.

3) Enquête ethnobotanique sur le *Plectranthus neochilus* à La Réunion

A) Enquête auprès des tisaneurs

Pour avoir un avis sur l'utilisation de la plante d'étude, je suis allée à la rencontre des professionnels en « zerbaz » qu'on appelle tisaneurs sur l'île de La Réunion.

Une profession pour le moins originale, car rares sont ceux qui ont des formations en herboristerie et des diplômes. Ce fait s'inscrit au cœur du débat actuel ayant lieu en métropole sur le retour de la formation d'herboriste. Ils possèdent un savoir empirique. Leurs connaissances sont généralement transmises de génération en génération mais ils les développent également grâce à leurs propres expériences. Ils partent en récolte dans les bois, travaillent avec l'ONF, cultivent quelques plantes dans leurs parcelles ou bien font appel à des cultivateurs. On les retrouve sur les marchés forains un peu partout sur l'île. Marc Rivière définit la profession de tisaneur comme étant un homme ou une femme apportant un soin uniquement par les plantes, en suivant les principes de la médecine scientifique et moderne [17].

Les plantes médicinales bénéficient d'une législation particulière. Celles qui sont inscrites à la Pharmacopée sont réservées à la vente exclusive des pharmaciens. On parle de circuit des pharmacies. Avec l'abandon de l'herboristerie et les réticences des patients envers l'allopathie, un circuit parallèle se met en place, profitant du flou juridique autour de la législation de certaines plantes. À La Réunion, la spécificité est le circuit des plantes pays (ou pei), c'est-à-dire des plantes médicinales utilisées par la médecine populaire réunionnaise. Elles peuvent être indigènes, endémiques ou exotiques et constituent une pharmacopée populaire issue de l'empirisme. 22 plantes réunionnaises ont été inscrites à la Pharmacopée française entre mai 2012 et janvier 2016 et malgré ce statut, elles se trouvent toujours sur les étals des tisaneurs car leur inscription n'aurait pu se faire sans leur collaboration [19].

Un après-midi de février 2019, devant l'église de Saint-Anne, une branche de plante « Doliprane » à la main, j'ai pu rencontrer M. Jean-René TECHER et sa compagne Sergine, un couple de tisaneurs adeptes des marchés forains et fervents défenseurs de cette médecine naturelle qui mêle santé et bien-être du corps et de l'esprit.

« Ah la plante Doliprane, moi j'utilise plus ça, j'en avais et j'ai tout arraché. Tiens prend une feuille, frotte la dans tes mains et sens, tu sentiras tout de suite que ça te fait saliver et ça monte à la tête, ça veut dire que ça fait travailler le foie... Y'a des terpènes dedans ça se sent ». Une belle introduction, pour un monsieur qui n'est pas issu d'une formation scientifique universitaire, il a senti juste : le *Plectranthus neochilus* contient majoritairement des terpènes.

Il connaît beaucoup de personnes qui en ont abusé, à force d'en boire régulièrement, elles ont « perdu la tête ». « Tu reconnais facilement ceux qui en ont trop pris, ils ont le front frisé ». C'est une plante dangereuse selon lui, dont il ne faut pas abuser. Trois feuilles en infusion pendant 3 jours, grand maximum, car à long terme on risquerait un mal cérébral et une désorientation. C'est une plante à consommer le soir, car « Doliprane, pour O-li » : on va au lit juste après en avoir consommé.

Son autre nom « Zefferalgan » peut s'expliquer aussi bien par la similitude à l'Efferalgan® trouvé en pharmacie pour l'allégation qui est faite de la plante, à savoir douleurs, lourdeurs ou céphalées, mais également car « l'effet est rare » (effé – ra'). On peut également l'utiliser pour les troubles de la digestion. Mais comme il me l'a répété, il ne l'utilise plus. « Je connais une dame qui a fini paralysée à force d'en boire, elle a fait un AVC et depuis, son bras ne bouge plus ».

Je lui parle de l'utilisation qui en est faite en Guadeloupe, à savoir en cataplasme sous forme de pansements chinois pour les maux de têtes, car « nous sommes fous de boire ça à La Réunion » (propos rapportés par M. Marodon lors de sa rencontre avec ses homologues Guadeloupéens). M. Técher me confirme qu'il vaut mieux préférer la voie externe qu'interne pour diminuer les effets secondaires.

Il me confirme également la confusion qui est souvent faite, à cause de la ressemblance des feuilles avec le « ti baume » ou *Plectranthus amboinicus*.

J'ai également pu rencontrer et assister M. Franswa Tibère, tisaneur du Maïdo, lors du marché nocturne de Saint-Denis du mois de mars 2019. J'ai pu observer sa façon de pratiquer la médecine qui peut être surprenante voire dérangeante pour les non-initiés à ces pratiques. Il ne va pas vous vendre ce que vous voulez mais ce dont vous avez besoin, que vous en ayez conscience ou non. Cela se passe un peu comme au comptoir d'une pharmacie, le client/patient arrive, expose ses problèmes. Le praticien va ensuite poser quelques questions pour vérifier l'absence de contre-indications. Il va ensuite faire un mélange sous vos yeux, vous expliquer la façon de préparer la tisane ainsi que la posologie.

Je le questionne sur mon sujet d'étude. « Ah la plante Zefferlgan ! » Il l'a connaît peu et se méfie donc de son utilisation, il sait qu'elle est bonne pour le sommeil et la migraine en infusion. Il l'a utilisé deux ou trois fois à titre personnel. Il me signale que le goût n'est pas terrible mais que les effets sont intenses. Il a une certaine appréhension à l'égard de cette plante, son intuition lui laisse supposer que cette plante a un revers ce qui justifie l'absence de cette plante à son stand.



Photographie 4 : Etalage de Franswa Tibere, tisaneur, marché nocturne de Saint-Denis (Jessica Nakab)

Deux professionnels qui ont le même ressenti sur cette plante... cela ne peut que motiver les recherches sur la toxicité de cette plante au nom original !

B) Enquête auprès de la population

Afin de recenser les usages qui sont faits du *Plectranthus neochilus* (PN) sur l'île de La Réunion, je suis allée à la rencontre de personnes qui l'utilisent. Pour ce faire, j'ai organisé des entrevues avec ces personnes en leur demandant de me présenter un échantillon de PN afin de m'assurer qu'il s'agissait de la bonne plante. Puis je leur ai posé plusieurs questions (le questionnaire est disponible en annexe 1 page 75, le secteur de l'île ayant été rajouté à posteriori à l'oral).

Cette enquête a débuté le 20 février 2019 et s'est achevée le 31 mai 2019. Au total 26 personnes ont répondu au questionnaire. Parmi eux 12 hommes et 14 femmes de tout âge, de milieux professionnels variés avec 31% des personnes qui vivent au Sud de l'île, 27% au Nord et à l'Ouest, et 4% l'Est.

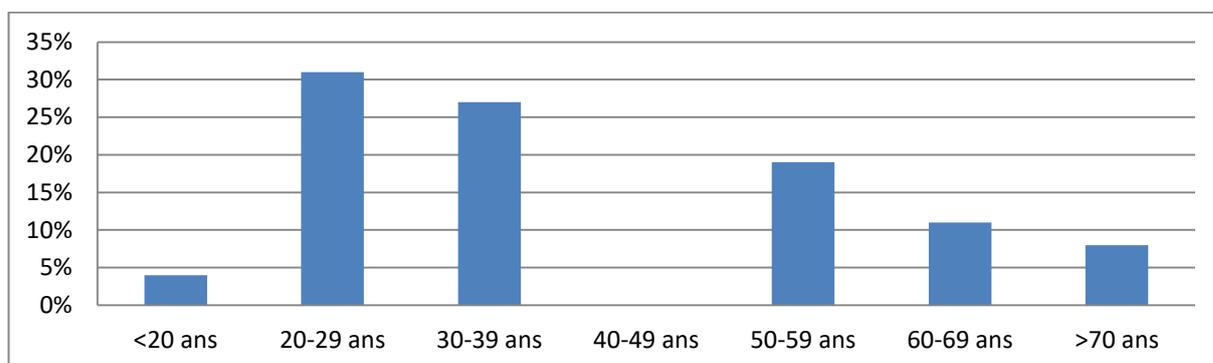


Figure 1 : Répartition en catégorie d'âge des personnes interrogées

- **Appellation**

La première question concernait le nom que les personnes interrogées utilisent pour appeler le *Plectranthus neochilus*. Les résultats sont récapitulés dans le tableau I ci-dessous. Plusieurs noms peuvent lui être attribués par une même personne. On peut voir que majoritairement on retrouve des noms en référence à des marques de médicaments comme Doliprane® (9 au total), Efferalgan® (16) ou encore Dafalgan® (3) avec des variations comme Plante Doliprane® ou Menthe Efferalgan®. Le terme « baume » est aussi employé, terme référant généralement aux plantes grasses.

Tableau I : Appellations vernaculaires du *Plectranthus neochilus*

NOM	Juxtaposition	Nombre
EFFERALGAN / ZFERALGAN	Plante	11
	Menthe	1
	Pei	2
	Baume	2
DOLIPRANE	Plante	7
	Menthe	1
	Pei	1
DAFALGAN	Plante	3
GROS THYM		1
BAUME		1
TI BAUME		2

- **Allégation**

Concernant les utilisations de celle-ci, il en ressort que les principales sont pour le soulagement des maux de tête (14 personnes), le traitement de la fièvre, de l'état grippal et des douleurs (6 personnes respectivement). Une personne m'a indiqué manger directement une feuille fraîche pour soulager les douleurs dentaires. Une autre la prépare en cataplasme pour les tendinites. De façon plus originale, une personne l'utilise à visée diététique car « c'est bon pour ses reins ».

Tableau II : Allégations retrouvées pour le *Plectranthus neochilus*

Allégation	Nombre	Allégation	Nombre
Maux de tête	14	Sommeil	1
Fièvre	6	Tendinites	1
Etat grippal	6	Maux de dents	1
Douleur	6	Soulager les courbatures	1
Digestion	5	Rhume	1
Même que le médicament	1	Diététique, « bon pour les reins »	1
Migraine	1	Plaisir	1

- **Préparation :**

Parmi les personnes questionnées, une seule l'utilise parfois séchée. L'utilisation de feuilles fraîches reste la plus commune.

Les quantités utilisées sont assez variables et peu précises. Le cœur correspond au sommet de la tige avec un groupement de feuilles.

Tableau III : Parties et quantités utilisées pour la préparation de PN

Partie de la plante	Nombre	Partie de la plante	Nombre
1 ou 2 feuilles	1	« Quelques feuilles »	8
1 branche (avec un nombre variable de feuilles)	3	Nombre de feuilles « au hasard »	1
Cœur	2	Nombre de feuilles « variable »	1
3 feuilles	5	5 feuilles	1
4 feuilles	3	15 feuilles	1

24 personnes la préparent sous forme d'infusion, 3 en cataplasme, 2 mâchent directement les feuilles et une façon plutôt originale de l'utiliser est de mettre les feuilles en couronne sur la tête car « l'odeur enivre et va soulager le mal de tête ».

On retrouve 27 associations lors de la préparation du remède à base de PN.

8 sont avec de la verveine citronnelle (*Aloysia triphylla*), 4 avec de l'Ayapana (*Ayapana triplinervis*), 4 avec du thym (*Thymus vulg.*), 2 avec des « cœurs » de cerise (*Eugenia uniflora*), 2 avec du citron (*Citrus limon*). Le basilic sacré (*Ocimum sanctum*), le gingembre (*Zinziber off.*), le miel (surtout pour le goût), la menthe (*Mentha x piperita*) et le romarin (*Rosmarinus off.*) peuvent également être ajoutés. Une association a retenu mon attention : l'infusion est associée à quelques gouttes d'huile essentielle d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) pour soulager les maux de tête.

Concernant les posologies, il a été plus laborieux d'obtenir des réponses précises. 10 personnes m'ont répondu qu'elles en buaient une bonne tasse le soir lorsqu'elles en sentaient le besoin. 3 personnes l'utilisent à raison de 3 fois par jour, 2 personnes l'utilisent 2 fois par jour. 6 m'ont répondu qu'elles l'utilisaient très rarement, de façon occasionnelle.

- **Recommandations**

Au sujet de la toxicité, cinq des personnes interrogées m'ont fait des remarques. Ce qui est le plus souvent répété, c'est de ne pas en abuser, avec pour explication que « toute plante à haute dose devient toxique ». Une personne a été mise en garde par rapport au dosage utilisé. Une personne ne recommande pas l'association avec d'autres plantes. Une autre m'a signalé que si la feuille était

abimée ou qu'elle dégagait une mauvaise odeur il ne fallait pas s'en servir. Mais aucune toxicité réelle n'est connue du grand public.

En commentaires libres, deux personnes m'ont signalé leur préférence pour le *Plectranthus amboinicus* à cause de son goût. Une personne qui mâche les feuilles pour les maux de tête a conseillé cette pratique à une amie migraineuse : en quinze minutes les symptômes avaient disparu. Il a été rapporté à une personne enquêtée que la plante serait efficace contre les règles douloureuses mais elle ne l'a jamais consommée pour cette allégation. Une autre a trouvé son utilisation très efficace pour faire tomber la fièvre, elle en a bu une tasse le soir, elle a transpiré toute la nuit et le lendemain s'est réveillée en pleine forme.

Au sujet de la plante en elle-même, une personne la qualifie de « mauvaise herbe » poussant partout, et une trouve sa multiplication « anarchique ». En effet cette plante robuste demande peu d'entretien.

Trois remarques ont été faites concernant la précaution d'emploi : deux expriment une certaine méfiance, « à ne pas en abuser », à cause de son odeur et de son goût, qualifiés de forts et la dernière ne l'utilise pas « à tort et à travers ».

Une personne qui la nomme Plante Efferalgan® me signale qu'il ne faut pas la confondre avec la Plante Doliprane®. Remarque qui souligne les confusions d'espèces surtout lorsque des noms aussi proches leurs sont donnés.

Pour résumer, cette enquête a permis de constater qu'à La Réunion l'usage principal du P. neochilus est pour le soulagement des maux de tête, ce qui peut expliquer son nom vernaculaire à savoir la Plante Efferalgan® ou Doliprane®. La plante est généralement utilisée à l'état frais, à raison de trois feuilles en infusion. On ressent cependant une certaine réticence de la part des consommateurs qui, de façon consciente ou non, s'en méfient et la consomment comme un médicament, de manière raisonnée et ponctuelle, ce qui laisse penser à une éventuelle toxicité de la plante.

Afin de vérifier ces allégations en identifiant la présence de principes actifs retrouvés dans les espèces *Plectranthus neochilus* et *P. amboinicus*, nous avons réalisé au LCSNSA diverses extractions qui seront par la suite couplées à des tests biologiques à partir des extraits bruts. Si les réponses sont positives nous pourrions envisager ultérieurement des fractionnements et des isollements dans le but d'identifier ces principes actifs.

III) Etude phytochimique des espèces *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus* de l'île de La Réunion

1) Généralités

La Phytochimie, ou chimie des substances naturelles, consiste en l'étude du métabolisme, de la structure et du rôle des substances produites par les végétaux. Cette science est étroitement mêlée à la Pharmacognosie, axe diagonal de la pharmacie qui traite tous les aspects allant de la plante au médicament. Elle permet la connaissance des matières premières végétales possédant des propriétés médicamenteuses.

Cette chimie entremêle plusieurs méthodes :

- Méthodes extractives : techniques d'extraction « classique » (solide-liquide ; liquide-liquide) et les nouveaux procédés d'extraction (micro-ondes par exemple)
- Méthodes séparatives (purification, isolement) : chromatographie, cristallisation
- Méthodes analytiques : techniques chromatographiques (sur couche mince, liquide haute performance, en phase gazeuse) et techniques structurales (spectrométrie par résonance magnétique ou spectrométrie de masse)

Les plantes sont de véritables « usine chimique ». Elles sont capables de synthétiser une grande variété de métabolites (produits intermédiaires du métabolisme) qui ont diverses fonctions : énergétique, structural, signalisation, stimulation ou inhibition d'enzymes...

On les classe en deux catégories :

- Les métabolites primaires : retrouvés dans toutes les cellules de l'organisme végétal pour assurer sa survie, répartis en quatre grandes catégories (glucides, lipides, acides aminés et acides nucléiques)
- Les métabolites secondaires : de structures chimiques souvent complexes, très dispersés et très variables selon les espèces, jouant un rôle dans la survie et la propagation de l'espèce. Ils sont également répartis en quatre catégories : les composés phénoliques, les saponines, les alcaloïdes (et dérivés azotés) et les composés terpéniques. (Tous possédant des sous catégories)

Les métabolites secondaires peuvent être des substances hétérosidiques ou non hétérosidiques, c'est-à-dire lié à un ou plusieurs sucres (oses) par liaison osidiques à la partie non sucrée (aglycone ou génine).

Parmi les métabolites secondaires, on retrouve les terpènes. Ce sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones appelé isoprène. On parle également de terpénoïdes ou d'isoprénoïdes. Ils regroupent à la fois des composés de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires. On les classe selon le nombre d'unités terpéniques. L'unité monoterpène correspond à une molécule à 10 carbones formée à partir de deux unités isoprènes.

La phytochimie du genre *Plectranthus* est encore mal connue. Abdel-Mogib et al ont présenté en 2000 une revue regroupant les constituants phytochimiques du genre *Plectranthus* rapportés jusqu'en 1999 [24]. Les principaux sont les diterpénoïdes, les huiles essentielles et les composés phénoliques.

Environ 140 diterpènes ont été identifiés dans les feuilles du genre. En majorité on retrouve des abiétanes pouvant être hautement modifiés. Des labdanes et des kauranes sont également présents.

- **Les abiétanes [25] :**

Parmi les diterpènes d'origine naturelle, les abiétanes sont isolés à partir d'une grande variété de plantes terrestres. Ces composés possèdent un large éventail d'activités biologiques : antimicrobiennes, antiulcéreuses, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, cardiovasculaires et cytotoxiques. Ces propriétés ont suscité un intérêt considérable de la part des milieux pharmaceutique et médical. En effet avec l'émergence de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques présents sur le marché, la nécessité de trouver de nouvelles molécules devient une priorité en santé publique. Les recherches se tournent vers les molécules issues du vivant car elles présentent des diversités structurales très intéressantes et le fait que certaines plantes soient utilisées depuis des dizaines d'années (voir plus) dans les médecines traditionnelles, poussent les scientifiques à extraire, isoler et analyser ces métabolites issus du métabolisme végétal.

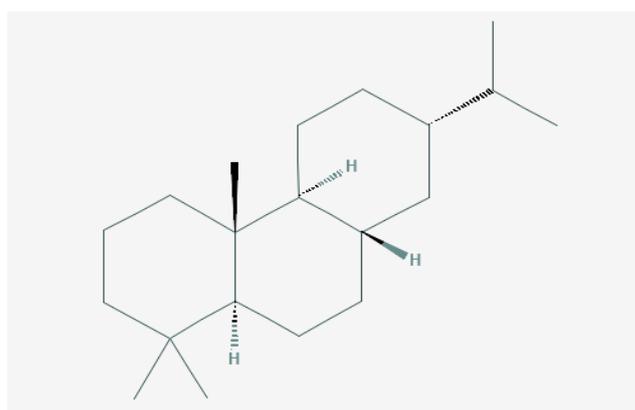


Figure 2 : Abietane, structure en 2D
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/abietane#section=Top>)

Ces molécules possèdent un squelette carboné caractéristique à 20 atomes de carbones. Certains dérivés possèdent un cycle aromatique, d'autres vont avoir des fonctions hydroxyliques ou carboxyliques. Chez les *Plectranthus*, ce sont majoritairement les abiétanes aromatiques qui sont retrouvés. Ils sont caractérisés par un cycle aromatique C avec un degré d'oxygénation pouvant varier de positions.

Deux voies de biosynthèses sont possibles. La première étant la voie de l'acide mévalonique connue aussi sous le nom de voie de l'HMG-Co A reductase menant à la synthèse notamment du cholestérol. La seconde est celle de la voie du méthylérythritol phosphate, appelée aussi « voie non mévalonique ». Les deux impliquant des réactions de cyclisation et/ou d'arrangement du diphosphate de géranylgeranyle. [26]

Parmi toutes les espèces du genre *Plectranthus*, certaines ont fait l'objet d'extraction et d'isolation d'abiétanes. Quelques-uns de ces composés ont été testés pour leur activité antimicrobienne ce qui pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles en particulier pour le traitement des infections, de la fièvre et d'état inflammatoire.

2) Travaux antérieurs sur la composition phytochimique des espèces *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus*

A) *Plectranthus neochilus*

La phytochimie de cette espèce a été peu étudiée. De par son appartenance au genre *Plectranthus*, les diterpénoides sont largement présents. On trouve également des composés phénoliques, notamment des flavonoïdes. Ceux-ci ont été retrouvés dans les extraits aqueux lors d'une étude qui visait à tester la capacité de phyto-remédiation de la plante [27].

En tant que genre de la sous-famille des Nepetoideae, le *Plectranthus* est riche en huile essentielle, c'est-à-dire plus de 0.5% d'huile volatile en poids sec.

L'huile essentielle de *Plectranthus neochilus* a fait l'objet de diverses études dans différents lieux géographiques. Les constituants principaux retrouvés dans ces huiles sont les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C20). Les fractions majoritaires varient d'une espèce à l'autre mais aussi au sein d'une même espèce selon le lieu de récolte du spécimen. On retrouve en annexe 3 page 79 un tableau comparant la composition des huiles essentielles de spécimens d'Afrique du Sud [28] du Brésil [29] et du Portugal [30]. D'autres classes sont aussi présentes dont des alcools, des aldéhydes non aromatiques, des hydrocarbures et des acides gras. [30]

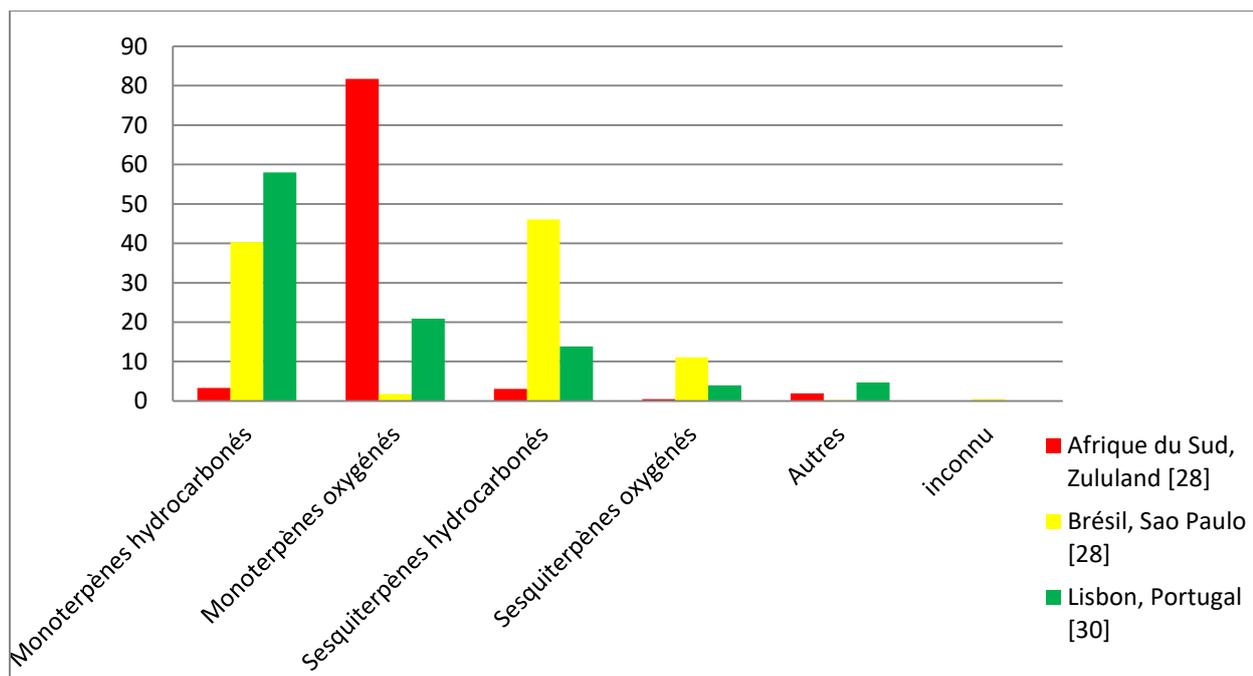


Figure 3 : Histogramme de la composition (en%) des huiles essentielles retrouvée dans la littérature

Pour le spécimen d’Afrique du Sud et du Portugal, ce sont les monoterpènes qui prédominent alors que pour celui du Brésil, ce sont les sesquiterpènes. Ces différences peuvent être attribuées à des facteurs géographiques et climatiques. Certains éléments sont bien connus pour faire varier les profils chimiques : le stade de développement de la plante, l’organe étudié, les conditions géographiques, climatiques, agronomiques, le moment de la récolte et les méthodes d’extraction. Ces dernières sont similaires, mais il y a un manque de données sur les quantités de matières utilisées. Au Portugal, les feuilles et souches étudiées sont à tous stades végétaux et floraux alors que dans les autres études le stade de développement n’est pas précisé.

On peut voir des différences assez importantes au sein de la composition de l’huile essentielle qui traduisent le fait que la plante adapte son métabolisme en fonction du biotope et des pathogènes qu’elle va rencontrer. Ces différences peuvent expliquer les différences d’utilisations au sein des médecines traditionnelles.

En Afrique du Sud [28] on retrouve majoritaire du citronellol (29%), du formiate de citronellyle (11%), du linalol (9,8%) de l’isométhone (9,2%) et du propionate de citronellyle (3,4%).

Au Brésil [29] les composés majoritaires de l'huile essentielle sont dans l'ordre des structures chimiques suivantes : β -caryophyllène (1; 28,2%), α -thujène (2; 12,2%), α -pinène (3 ; 2,6%), β -pinène (5 ; 6,2%), germacrène D (5 ; 5,3%) et l'oxyde de caryophyllène (6 ; 5,3%)

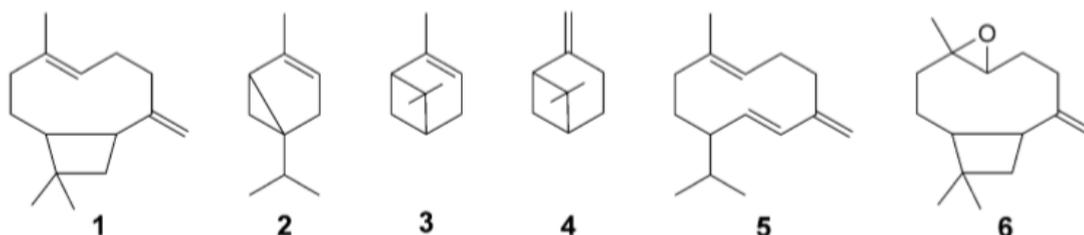


Figure 4 : Structures chimiques des constituants majoritaires identifiés dans l'huile essentielle des feuilles de *P. neochilus*

Au Portugal [23], 67 composés ont été identifiés au sein d'un mélange complexe d'une huile jaune pâle dont les chercheurs ont qualifié l'odeur comme désagréable. Majoritairement sont présents : acétate d' α -terpényl (traces -> 48%), α -thujène (2 -> 28%), β -caryophyllène (2->28%), β -pinène (1->25%), α -pinène (1->19%).

B) *Plectranthus amboinicus*

Une analyse des composés de son huile essentielle a été réalisée en 1992 à l'Université de La Réunion par le professeur Vera et son équipe [31] dans le but d'identifier les composés terpéniques contribuant aux effets pharmacologiques de la plante.

Après une hydrodistillation type Clevenger pendant 3 heures des tiges et des feuilles, on obtient une huile essentielle de couleur jaune avec un rendement de 0.07%. L'analyse a été réalisée par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. 95% des composés ont été identifiés avec pour fraction majoritaire les monoterpènes hydrocarbonés (45%), viennent ensuite les mono et sesquiterpènes oxygénés.

Les composés majoritaires ont également été identifiés :

- 16,3% : Δ -3-carène
- 12,3% : camphre
- 13,4% : carvacrol
- 11,9% : γ -terpinène

Cette étude visait également à identifier certains composés volatils contribuant à l'odeur très caractéristique de la plante. Elle peut être assimilée à celle du thym (dû au carvacrol) et au camphre.

Cette plante a fait l'objet de plusieurs screening dans le but de trouver de nouveaux candidats médicaments. Des terpènes isolés de ce *Plectranthus* ont présenté une activité antimicrobienne : on peut citer le limonène, le linalol le myrcène et le thymol [12].

Utilisée comme anti-inflammatoire dans certaines régions du monde, des chercheurs de Taïwan [32] ont tenté d'identifier les principes actifs de la plante justifiant cette allégation. Des extraits aqueux ont été préparés puis fractionnés en fonction de leur activité inhibitrice envers une cytokine, TNF- α . Quatre composés ont retenu leur attention : le premier, cependant incertain, est un lignane, l'acide 2- (3,4-dihydroxybenzylidényl) -3- (3,4-dihydroxyphényl) -4-hydroxypentanedioïque (1). Les composés 2 à 4 sont respectivement l'acide shimobashirique C, l'acide salvianolique L et l'acide rosmarinique.

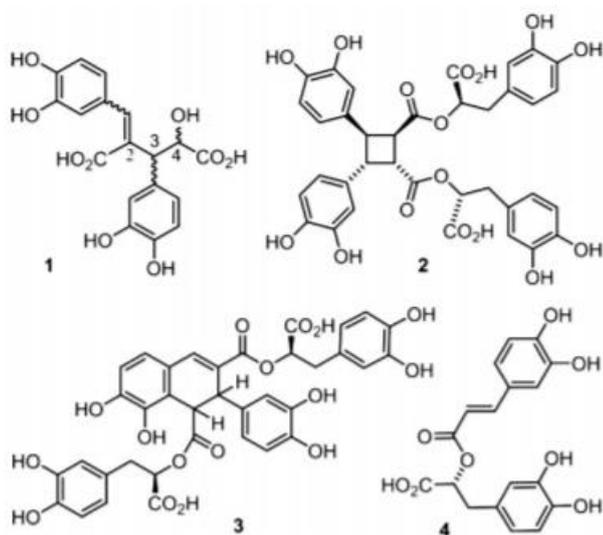


Figure 5 : Composés 1 à 4 retrouvés dans *Plectranthus amboinicus* étudié à Taïwan

L'acide rosmarinique de formule $C_{18}H_{16}O_8$ est un acide phénolique bien connu, notamment pour ses propriétés puissantes en tant qu'antioxydant, retrouvé dans de nombreuses Lamiacées comme le romarin, *Rosmarinus officinalis*, d'où il tient son nom. L'acide C shimobashirique ($C_{36}H_{32}O_{16}$), isolé de *Collinsonia japonica*, plante japonaise, est un dimère de l'acide rosmarinique probablement formé par cyclo-addition. L'acide salvianolique L ($C_{36}H_{30}O_{16}$) qui tient son nom de *Salvia officinalis*, dérive également de l'acide rosmarinique et présente un squelette de dihydro-naphtalène.

De façon plus générale, des composés de nature phénolique ainsi que des alcools sont également retrouvés dans le PA.

3) Etude phytochimique des espèces *Plectranthus neochilus* et *Plectranthus amboinicus* de La Réunion

Cette étude a été réalisée durant mon stage de Master 2 Valorisations Chimique et Biotechnologique de la Biodiversité, au sein du Laboratoire de Chimie de Substances Naturelles et de Sciences des Aliments, sous la direction du Professeur Anne Bialecki. Nous avons réalisé un profilage chimique sur trois lots de *Plectranthus neochilus* et un lot de *Plectranthus amboinicus*. L'objectif étant d'une part, d'étudier l'influence du lieu de récolte sur la composition chimique de *P. neochilus*, et d'autre part de comparer les compositions chimiques des deux espèces *P. neochilus* et *P. amboinicus*.

Les manipulations ont été réalisées au sein du LCSNSA. Pour les extraits la notation est la suivante : 001 réfère au lot du secteur Nord, 002 pour le secteur Sud, 003 pour le secteur Est ; PN pour *Plectranthus neochilus*, PA pour *P. amboinicus*.

Deux grands types d'extractions ont été réalisés pour obtenir d'un côté les composés volatils et de l'autre les composés non volatils des différents lots.

A) Matériels et Méthodes

i) Matériel végétal

Les plantes ont été collectées dans trois lieux différents de l'île avec l'aide de deux collecteurs différents. Elles ont été déposées à l'herbier de la faculté de Saint-Denis de la Réunion.

Le premier lot de *Plectranthus neochilus* a été collecté et identifié le 11/03/2019 par le Dr Claude Marodon à Montgaillard (latitude $-20,908840^{\circ}$; longitude $55,4666287^{\circ}$) pour le secteur Nord de l'île. Nommé PN1.

Le deuxième lot provient de Manapany-les-Bas (latitude $-21,3697222$; longitude $55,57694^{\circ}$), collecté et identifié le 15/03/2019 par Mr Hermann Thomas. Nommé PN2, pour le secteur Sud.

Le troisième lot pour le secteur Est a été collecté et identifié par Dr Claude Marodon le 21/03/2019 à Saint-André (latitude $-20,971210^{\circ}$; longitude $55,665971^{\circ}$), nommé PN3.

Le lot de *Plectranthus amboinicus* provient de Vincenzo (latitude -21,3697222° ; longitude 55,69444°), collecté et identifié le 15/03/2019 par Mr Hermann Thomas, nommé PA2.

Tableau IV : Masse en gramme des matières végétales

	<i>P. neochilus</i>			<i>P. amboinicus</i>
	PN-HE-001	PN-HE-002	PN-HE-003	PA-HE-002
Masse végétale totale	1530	1018	1300	1058
Masse pour l'étude des composés volatils	862	478	958	688
Masse pour l'étude des composés non volatils (fraiche)	668	540	250	370
Masse pour l'étude des composés non volatils (sèche)	40	46	56	28
Pourcentage d'humidité	94	91,5	77,6	92,4

ii) Les solvants

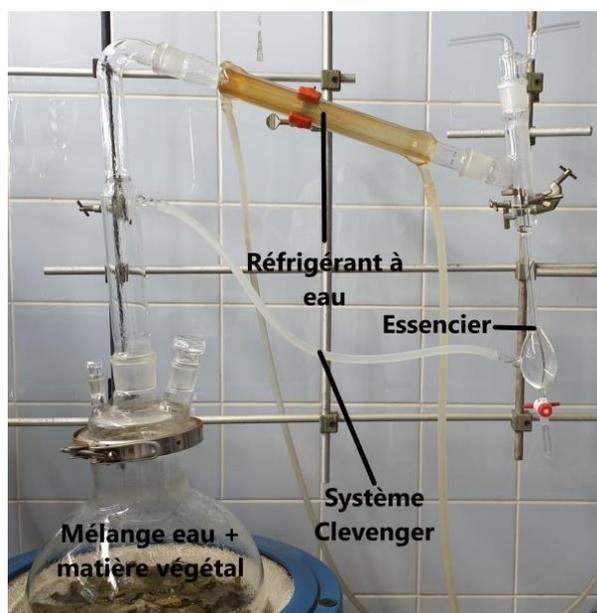
Pour l'extraction des composés volatils et l'extrait type tisane l'eau du robinet a été employée. Pour les composés non volatils, les solvants utilisés (Fisher Scientific et Acros solvants) sont l'acétate d'éthyle et l'éthanol. Pour les chromatographies sur couche mince, acétate d'éthyle, méthanol, cyclohexane et dichlorométhane ont été employés. Tous les solvants utilisés sont de grade analytique.

iii) Hydrodistillation type Clevenger

Pour l'étude des composés volatils nous avons réalisé une extraction des huiles essentielles par hydrodistillation type Clevenger. Cette technique consiste à mettre la matière végétale directement en contact avec de l'eau dans un ballon rodé. Le mélange est ensuite porté à ébullition. La chaleur va entraîner l'éclatement et la libération des composés odorants. Les molécules volatiles sont ainsi entraînées par les vapeurs d'eau qui contiennent l'huile. Au contact des parois froides du réfrigérant celles-ci se condensent. On récupère ainsi de l'eau et de l'huile essentielle dans un essencier de type Clevenger. Ce système permet de travailler en circuit fermé pour limiter les pertes et assurer un recyclage de l'eau.

Quatre hydrodistillations ont été réalisées dans les mêmes conditions pour les 4 lots. Le jour de la réception des lots, un tri a été réalisé pour n'avoir que les feuilles et les pétioles pour l'hydrodistillation programmée le lendemain.

En fonction des quantités de matière, les lots en provenance de Montgaillard (PN-1) et de Saint-André (PN-3) ont subi deux hydrodistillations simultanées dans deux ballons différents, obtenant ainsi deux extraits.



Photographie 5 : Montage d'hydrodistillation (Jessica Nakab)

iv) Extraction aqueuse mimant l'usage traditionnel

Le premier extrait pour l'étude des composés non volatils est un extrait aqueux mimant l'usage traditionnel à savoir l'infusion, ou tisane, nommé T. 10 grammes de matière végétale séchée et broyée ont été mis en contact avec 100mL d'eau portée à ébullition. Le tout est laissé à infuser pendant 30 minutes puis filtré sous vide à l'aide d'un Büchner. Les extraits aqueux ont été placés au réfrigérateur puis au congélateur à -80°C avant d'être placés au lyophilisateur pendant 48H.

v) Lyophilisation

Les extraits types tisanes ont été lyophilisés à l'aide du lyophilisateur Cosmos -80°C CRYOTEC.

vi) Extraction Accélérée par Solvant ASE

Deux extraits plus apolaires ont été réalisés pour l'étude des composés non volatils. Le premier réalisé à l'acétate d'éthyle (AE) et le second éthanolique (OH). Les deux ont été réalisés à l'aide de l'ASE 300 (Accelerated Solvent Extractor Dionex). Les cellules ASE sont remplies avec la matière sèche broyée. Les solvants utilisés sont l'AE préalablement filtré ainsi que l'éthanol.

Cette méthode d'extraction permet une économie de temps et de solvants tout en améliorant les rendements d'extractions.

La programmation a été la même pour les deux types d'extraits, le seul paramètre variable étant le solvant. Les extractions ont été réalisées pour épuiser la matière végétale. Les cellules ont été mises en contact cinq fois pendant cinq minutes avec le solvant. A la fin de l'extraction, le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Les paramètres de l'ASE sont les suivants :

- Solvants : AcOEt ou EtOH
- Température : 40°C
- Pression : 100 bar
- Nombre de cycles : 5
- Temps de pause : 5min/cycles
- Temps de purge : 120s

vi) Outils analytiques

• **Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CG-SM)**

L'association d'une méthode séparative, la chromatographie gazeuse, à une méthode d'identification, la spectrométrie de masse, permet l'étude de mélange complexes et l'identification de composés à l'état de trace. Cette technique a permis l'analyse des huiles essentielles.

Le chromatographe est un Hewlett Packard HP 6890 series GC method équipée d'une colonne capillaire SPB-5 de longueur 60m, diamètre 0,32mm et une épaisseur de phase de 0,25 µm. Le gaz vecteur employé est de l'Hélium avec un débit de 0,7ml/min. Le four est programmé pour aller de 60°C jusqu'à 250°C à raison de 4° par minute.

Le spectromètre de masse, Hewlett Packard 6890 à impact électronique, a permis une détection de masse allant de 20 à 400 UMA avec un courant d'ionisation de 70eV et une température de la source de 200°C.

• **Chromatographie sur Couche Mince CCM**

Utilisation de plaque de silice en phase normale (SI60-F254, Merck), pour les révélations une lampe UV émettant à deux longueurs d'ondes différents : 254 et 365nm, ainsi que de la vanilline sulfurique préparés de la façon suivante : 1g de vanilline (Fluka) dissoute dans 100ml d'éthanol absolu (Merck) supplémenté de 2mL d'acide sulfurique concentré (Fisher Scientific). Après pulvérisation les plaques sont chauffées quelques minutes à 105°C.

• **Chromatographie Liquide à Haute Performance CLHP**

La chromatographie en phase liquide à haute performance, abrégée sous le nom anglais HPLC pour High Performance Liquid Chromatography, est une technique analytique permettant la séparation de molécules présentes dans un mélange.

Les analyses ont été réalisées sur une chaîne analytique Dionex Ultimate 3000 (Thermo scientific), pilotée par le logiciel Chroméléon couplée en série à 2 détecteurs :

- Un détecteur d'aérosols chargés CAD (de l'anglais Charged Aerosol Detector) équipé d'un générateur de diazote de type Alliance (Thermo scientific). Son fonctionnement est basé sur le principe de nébulisation d'un solvant et des analytes pour ensuite les charger

de façon positive grâce au gaz et de les analyser à l'aide d'un électromètre. C'est un détecteur universel permettant la détection d'analytes non volatils à semi volatils, idéal pour les molécules dépourvues de chromophore ou faiblement ionisables.

- Et d'un détecteur UV à barrette de diodes DAD (Thermo scientific). Ce détecteur spectroscopique UV-visible permet de mesurer de manière simultanée l'absorbance des composés sur l'ensemble du spectre UV-visible soit de 200 à 800 nm. Il permet la détection d'une large gamme de chromophores.

Les échantillons ont été préparés à une concentration de 10mg/ml dissous dans leur solvant d'extraction c'est à dire de l'eau pour les extraits aqueux type tisanes (T), dans l'acétate d'éthyle pour les extraits organiques (AE), et dans l'éthanol pour les extraits alcooliques (OH), préalablement filtrés avant d'être introduits dans les vials CLHP.

Les solvants pour l'analyse :

- A : eau milli Q (ultra pure) + 0,1% d'acide formique (AF)
- B : Acétonitrile HPLC + 0,1 % d'acide formique

Conditions d'analyse : (pour l'extrait à l'AE, OH et T) :

Colonne : Gemini C18 (3 µm), 150*4,6 mm

Eluant : ACN+0,1% AF/H₂O+0,1%AF

Gradient : 10%B : 90%A à 90%B : 10%A (30 min) ; 90%B : 10%A à 100%B : 0%A (20 min) ; 100%B : 0%A (20 min)

Débit : 0,7 ml/min

Détection : DAD/CAD

NB : - Bien conditionner la colonne avant chaque analyse

- Après chaque utilisation, nettoyer la colonne à 100 % d'ACN (environ 30mn) puis conditionner pour le stockage (à 65 % ACN).

B) Etude des composés volatils

i) Principe de l'étude

Pour étudier les composés volatils de ces plantes nous avons réalisé une extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation type Clevenger.

L'analyse de la composition des huiles essentielles obtenues a été réalisée par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Cette technique associe une méthode séparative, la chromatographie gazeuse, à une méthode d'identification la spectrométrie de masse, et permet l'étude de mélange complexes et l'identification de composés à l'état de trace.

ii) Résultats

Le tableau V ci-dessous présente la couleur, le rendement et la masse obtenue des extractions réalisées. On note une différence de rendement entre les différents extraits pour un même lot, notamment dans le premier où une fuite d'hydrolat a entraîné une perte de matière due à un mauvais retour d'eau dans le Clevenger. Un manque de répétabilité dû aux extractions peut expliquer ces différences (en plus des pertes de matières).

Tableau V: Caractéristiques principales des huiles essentielles obtenues

	<i>P. neochilus</i>				<i>P. amboinicus</i>	
	PN-HE-001		PN-HE-002	PN-HE-003		PA-HE-002
Extraits	1	2		1	2	
Couleur de l'huile essentielle	Jaune foncé		Jaune orangé	Jaune foncé voir orange		Jaune clair (aspect plus liquide que les autres)
Rendement (en %)	0,04	0,1	0,01	0,01	0,02	0,24
Masse de l'huile essentielle obtenue	171,6mg	411,8mg	25,2mg	25,7mg	128,1mg (possible reste d'eau)	1,6297g

On note que le *Plectranthus amboinicus* est plus riche en huile essentielle que le *Plectranthus neochilus*. On associera cet écart à la variabilité d'espèce. Des différences sont observées au sein des trois lots de PN, ce qui nous indique déjà un premier effet de localisation sur le profil chimique de la plante.

Les extraits ont ensuite été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) selon la même méthode pour tous les extraits. Le tableau disponible en annexe 4 page 81 regroupe les résultats.

- **PN-HE-001 (*Plectranthus neochilus* – huile essentielle – 1er lot) :**

Pour le premier extrait, 106 composés ont été détectés, 59 ont été identifiés. Dans le second, 69 composés ont été détectés, 45 identifiés. Pour les deux extraits, le composé majoritaire est le carvacrol, un monoterpène avec une fonction phénol connue pour ses propriétés carminatives et antiseptiques [21], à raison de 24,5% pour le premier extrait, et 21,8% pour le second. Ensuite, on retrouve le camphre, un monoterpène oxygéné, dont la teneur varie entre 11,2% et 12,7% pour les extraits 1 et 2 respectivement. Par la suite des différences se font entre les deux extraits. Pour le premier, on retrouve en troisième composé majoritaire le caryophyllène à 5,7% (4,3% pour le second) puis l' α -bergamotène à 5,1% (3,8% dans le second extrait). Pour le second extrait nous avons le γ -terpinène à 6,8% puis le 3-carène à 4,3%

Deux composés non identifiés sont à noter : le premier retrouvé dans les 2 extraits avec des indices de rétention relatif (IRR) respectifs de 1797 et 1795 à 2,7% et 1,3% avec des spectres de masses similaires. Le deuxième non identifié retrouvé uniquement dans le premier extrait avec un IRR de 1505 à 5,3%.

- **PN-HE-002 (*Plectranthus neochilus* – huile essentielle – 2^{ème} lot) :**

88 composés ont été détectés en CG-SM, dont 48 identifiés. On retrouve majoritairement du caryophyllène à 14,1%, le zonarène à 7,8% (non détecté dans le premier lot), l'oxyde de caryophyllène à 7,7% et le terpinén-4-ol à 3,1%. Contrairement au premier lot on ne retrouve ni le carvacrol ni l' α -bergamotène.

Un composé majeur, 12%, n'a pas été identifié, pour un IRR de 2566 et une masse molaire de 316 uma (spectre de masse disponible en annexe 5 p. 84).

- **PN-HE-003 (*Plectranthus neochilus* – huile essentielle – 3^{ème} lot) :**

Pour le premier extrait, 88 composés ont été détectés dont 51 identifiés, 78 détectés dont 38 identifiés pour le deuxième. Le composé majoritaire est ici aussi le caryophyllène avec respectivement 9,0% et 8,8%. Vient ensuite l'oxyde de caryophyllène à hauteur de 7,0% et 8,0%. L'épi- α -cubénol est retrouvé uniquement dans le premier extrait à 5,6%. Le δ -cadinène est présent à 4,1% pour le premier et 4,7% dans le second. Le carvacrol quant à lui est retrouvé à un très faible pourcentage (0,4 et 0,5) et le camphre absent.

Dans les deux extraits, un composé majeur n'a pas été identifié, pour des IRR respectifs de 2570 et 2566 à 19,1% et 16,6%. Leurs spectres sont similaires entre eux mais également avec celui non identifié de PN-HE-002, la masse moléculaire est la même soit de 316 UMA (spectres de masse disponibles en annexe 6 et 7 page 84 respectivement pour les extraits 1 et 2)

- **PA-HE-002 (*Plectranthus amboinicus* – huile essentielle – lot du Sud) :**

64 composés ont été détectés dont 44 identifiés. Le composé majoritaire est le carvacrol à 16,3% puis le camphre à 9,2%, comme dans PN-HE-001. Vient ensuite le γ -terpinène à 6,5% (retrouvé dans les autres huiles mais à des pourcentages plus faibles), le 3-carène à 7,1% et l'*ortho*-cymène à 4,9%.

Tableau VI : Différentes classes chimiques retrouvées dans les huiles essentielles (en %)

	<i>P. neochilus</i>					<i>P. amboinicus</i>
	PN-HE-001		PN-HE-002	PN-HE-003		PA-HE-002
	1	2		1	2	
Monoterpènes	44,1	69,0	7,5	1,9	1,3	56,0
Monoterpènes hydrocarbonés	5,4	32,7	1,2	0,1	0	28,8
Monoterpènes oxygénés	38,7	36,3	6,3	1,8	1,3	27,2
Sesquiterpènes	31,1	21,1	50,2	40,3	43,0	19,8
Sesquiterpènes hydrocarbonés	23,6	18,3	33,8	21,4	20,7	16,9
Sesquiterpènes oxygénés	7,4	2,8	16,4	18,9	22,3	2,9
Diterpènes	0,1	0	0	0,2	0	0
Acides gras	tr	0	0	0,5	0	0
Autres	1,8	1,6	0,9	1,3	0,1	1

Tableau VII : Composés majoritaires retrouvés dans les huiles essentielles

<i>P. neochilus</i>					<i>P. amboinicus</i>
PN-HE-001		PN-HE-002	PN-HE-003		PA-HE-002
1	2		1	2	
Carvacrol (24,5%)	Carvacrol (21,8%)	Caryophyllène (14,1%)	Composé non identifié (19,1%)	Composé non identifié (16,6%)	Carvacrol (16,3%)
Camphre (11,2%)	Camphre (12,7%)	Composé non identifié (12%)	Caryophyllène (9%)	Caryophyllène (8,8%)	Camphre (9,2%)
Caryophyllène (5,7%)	γ -terpinène (6,8%)	Zonarène (7,8%)	Oxyde de caryophyllène (7%)	Oxyde de caryophyllène (8%)	3-carène (7,1%)
α -bergamotène (5,1%)	3-carène (4,3%)	Oxyde de caryophyllène (7,7%)	Δ -cadiène (4,1%)	Δ -cadiène (4,7%)	γ -terpinène (6,5%)

iii) Discussions

En accord avec les résultats retrouvés dans la littérature, on retrouve majoritairement des mono et des sesquiterpènes.

Pour PN-HE-001, ce sont les monoterpènes, de 44,1 à 69,0%, majoritairement les oxygénés (38,7 et 36,3%) qui sont dominants. Viennent ensuite les sesquiterpènes hydrocarbonés, à 23,6 et 28,3%, puis les monoterpènes hydrocarbonés, de 5,4 à 32,7%.

La tendance est différente pour PN-HE-002 : la famille dominante est celle des sesquiterpènes (50,2%), majoritairement les hydrocarbonés (33,8%), puis les oxygénés (16,4%), devant les monoterpènes oxygénés (6,3%).

Cette tendance est retrouvée pour PN-HE-003 avec comme famille dominante les sesquiterpènes, de 40,3 à 43,0%, les hydrocarbonés similaires aux oxygénés. Les monoterpènes sont quant à eux très peu présents, de 1,3 à 1,9%.

Pour PA-HE-002, ce sont les monoterpènes (comme PN-HE-001) qui dominent à 56,0%, avec une similitude entre les oxygénés et les hydrocarbonés. Les sesquiterpènes oxygénés sont très peu représentés au profit des hydrocarbonés. Ces résultats sont accord avec ceux de la littérature.

Au sein d'une même espèce les pourcentages diffèrent : pour le premier lot les monoterpènes dominant comme pour le *Plectranthus amboinicus*, tandis que pour les lots du Sud et de l'Est de PN ce sont les sesquiterpènes qui dominant. De plus, lorsque l'on regarde la composition des huiles, on remarque une similitude entre PN-HE-001 et PA-HE-002 plus qu'entre les lots de PN.

Des différences sont observées au sein de la même espèce. La localisation a un impact sur le profil chimique des composés volatils sécrétés par la plante. En effet les conditions environnementales sont variables d'un côté à l'autre de l'île.

L'analogie entre PN-HE-001 et PA-HE-002 permet d'émettre l'hypothèse d'une éventuelle confusion d'espèce lors de la collecte du premier lot.

Concernant le composé majeur non identifié dans les lots deux et trois, nous supposons qu'il s'agit d'un diterpène éventuellement oxygéné. Un isolement suivi d'une analyse par Résonance Magnétique Nucléaire est à envisager pour identifier sa structure.

C) Etude des composés non volatils

i) Principe de l'étude

Le principe de cette étude consiste en un premier temps à la réalisation de trois extraits différents pour chaque lot afin de réaliser une extraction la plus exhaustive possible.

Un extrait aqueux a été réalisé en mimant l'usage traditionnel de la plante, à savoir la tisane (nommée T), les deux autres plus « classiques » à l'aide d'acétate d'éthyle (AE) et d'éthanol (OH), obtenus par ASE. Les trois extraits ont été réalisés avec de la matière végétale préalablement séchée et broyée.

Dans un second temps, un criblage chimique a été réalisé sur les extraits bruts en utilisant différentes techniques chromatographiques : la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) et la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

Tableau VIII : Rendements (en %) des extractions

	P. neochilus			P. amboinicus
	PN-1	PN-2	PN-3	PA-2
Tisane (T)	23,0	22,5	20,3	33,1
Acétate d'éthyle (AE)	6,7	6,1	5,4	2,2
Ethanol (OH)	6,2	5,0	7,7	5,5

L'écart du rendement des extraits acétate d'éthyle et éthanolique pour le PA est dû à une fuite de solvant pendant l'extraction alcoolique survenue à mi extraction, celle-ci a été reprise depuis le début.

ii) Criblage chimique par CCM

La réalisation de CCM permet de nous donner une idée sur le profil chimique des extraits. Les extraits ont été testés avec différents éluants afin d'optimiser la séparation. Les CCM qui sont présentées sont celles dont les résultats étaient les plus satisfaisants.

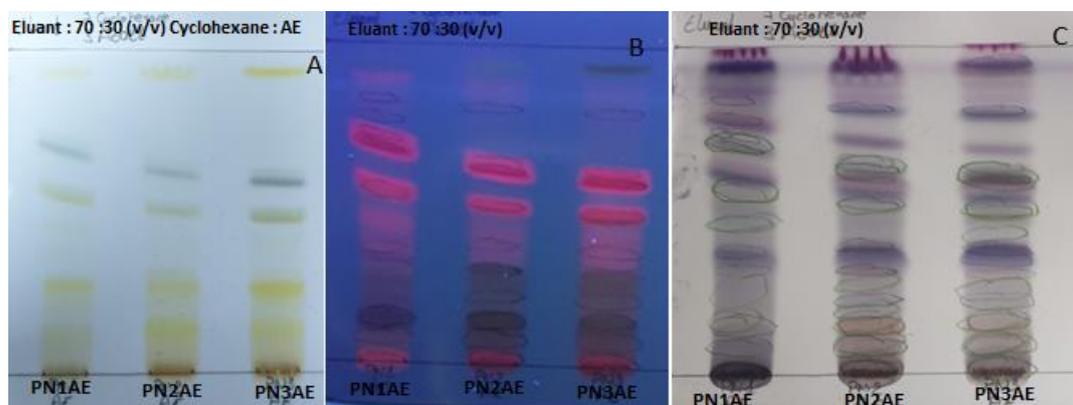
- **PN-T :**

L'éluant donnant une séparation satisfaisante est un mélange de cyclohexane et d'AcOEt 40:60 (v/v), cependant pour ces extraits les images des plaques ne permettent pas une visualisation correcte.

Cet éluant est de nature plutôt apolaire, lors des essais précédents avec des plus polaires aucune séparation n'était visible. Quelques points communs apparaissent entre les trois lots de PN. Des composés très polaires restent « accrochés » en bas de la plaque mais les lots 2 et 3 présentent des composés plus apolaires qui migrent avec le solvant. Ces composés absorbent dans l'UV à 254nm.

L'utilisation de la vanilline sulfurique a permis la révélation de composés de saveur amers ainsi que des terpènes par une coloration allant du rouge au bleu. L'apparition de taches violacées sur les trois lots nous laisse supposer une dominance de composés terpéniques mais également de substances amères. Celles-ci peuvent expliquer le goût souvent caractérisé comme fort ou amer, qui poussent les consommateurs à ajouter du miel dans l'infusion pour l'adoucir.

- **PN-AcOEt :**

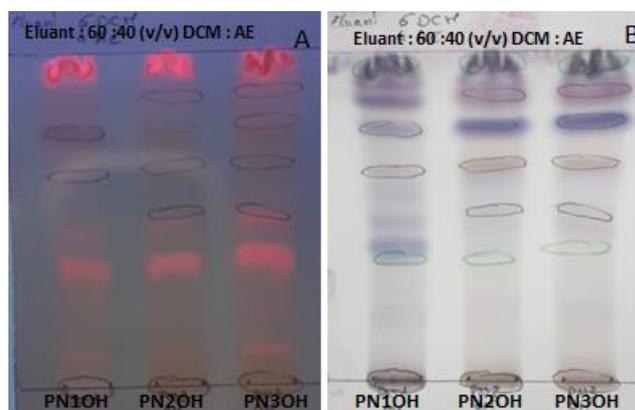


Photographie 6 : Plaques CCM pour les extraits AcOEt de PN ; en A en visible; en B sous UV 365nm; en C après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

L'éluant est une nouvelle fois un mélange de cyclohexane et d'AcOEt 70:30 (v/v), plutôt apolaire. La migration est satisfaisante et nous montre des composés avec des polarités diverses : de nature polaire restant accroché en bas de plaque, à apolaire proche de la ligne de front de solvant. Les trois lots ont des composés communs colorés, qui absorbent tantôt dans l'UV 245nm, tantôt dans l'UV 365nm et certains dans les deux longueurs d'ondes. La révélation à la vanilline sulfurique nous montre une nouvelle fois la présence de nombreux composés terpéniques et amers à travers les colorations violettes.

Les profils chimiques sont assez proches entre les trois lots mais certaines différences sont observées laissant suggérer un effet de localisation.

- **PN-OH :**



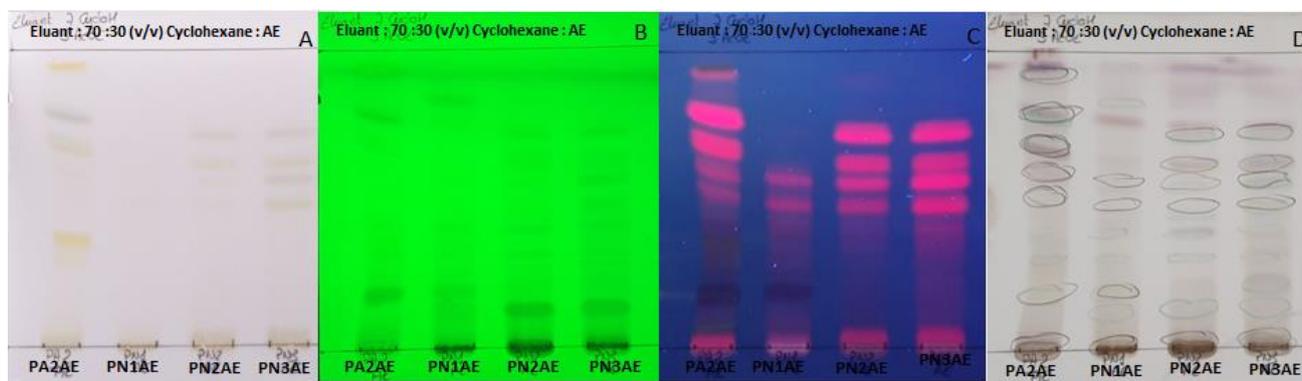
Photographie 7 : Plaques CCM pour les extraits OH de PN ; en A sous UV 365nm; en B après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

L'éluant choisi est un mélange de dichlorométhane (DCM) et d'AcOEt à 60 :40 (v/v), de polarité moyenne. La migration est satisfaisante et nous montre une large gamme de polarité dans les trois lots. Comme aperçu pour l'extrait AcOEt, des composés colorés apparaissent, certains absorbent à 254nm, certains à 365nm et d'autres dans les deux longueurs d'onde.

Les profils entre les trois lots sont assez ressemblants, mais des différences apparaissent : des composés se détachent dans le premier lot mis en évidence à l'aide de la vanilline sulfurique.

Ces CCM réalisées sur les trois extraits nous permettent de voir une similitude des profils chimiques mais avec quelques nuances. Le premier lot se détache des deux autres qui sont plus proches. On note également des variations d'intensité entre les spots qui peuvent être associés à des concentrations variables d'un lot à l'autre pouvant une fois de plus nous montrer un effet de localisation sur le métabolisme de la plante.

- **PA versus PN :**



Photographie 8 : Plaques CCM pour les extraits AcOEt de PN ; en A en visible; en B sous UV 254nm ; en C sous UV 365nm; en D après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

L'espèce *Plectranthus amboinicus* présente elle aussi un profil chimique couvrant une large gamme de polarités. Tout comme le PN, elle présente des bandes qui absorbent tantôt dans l'UV 254nm, tantôt 365nm et parfois dans les deux. Après révélation à la vanilline sulfurique, on distingue également des taches violacées correspondant à des composés terpéniques ou des substances amères.

On note cependant la présence de composés plus polaires non retrouvés dans PN.

On voit également des similitudes entre PA et PN-1 mais aussi avec PN-2 et PN-3.

La localisation entre PA et PN-2 étant proche, cela peut laisser penser que l'environnement influe sur le métabolisme de la même façon malgré qu'elles soient d'espèces différentes

iii) Criblage chimique par CLHP

Les extraits bruts ont ensuite été analysés par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) couplée à deux détecteurs (CAD et DAD).

Les chromatographies ont été réalisées en phase inverse, c'est-à-dire avec une phase stationnaire apolaire et hydrophobe, les composés les plus polaires sortent au début. Le gradient utilisé est un gradient d'acétonitrile (solvant B) à 10% au début d'analyse, qui monte à 90% à 30minutes, à 100% à la 50^{ème} minute, pour rester à 100% jusqu'à la fin soit 65minutes. L'autre

solvant est de l'eau ultra pure. Les deux solvants ont été mélangés à 0,1% d'acide formique. Le code couleur est le même pour les trois extraits de PN : noir pour PN1, bleu pour PN2 et rose pour PN3.

- **Extraits T :**

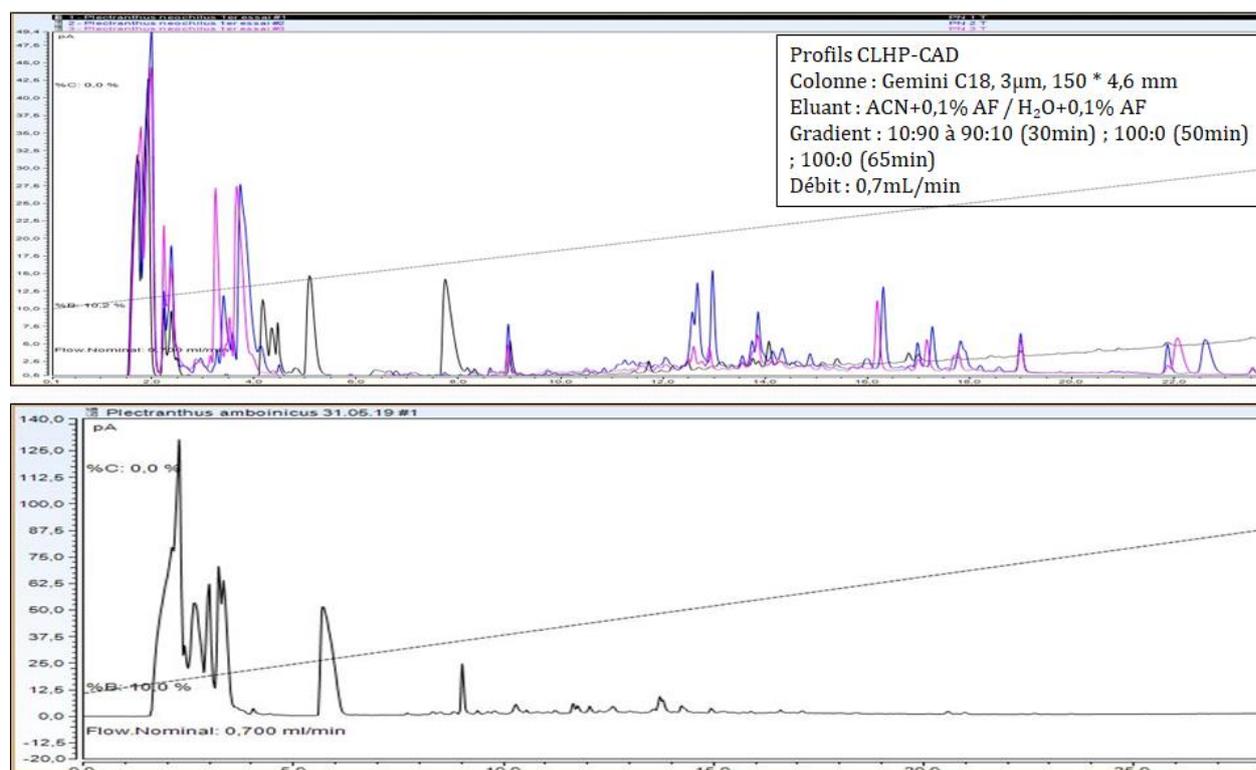


Figure 6: Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits aqueux

A première vue, la séparation des composés est convenable pour un premier essai, on arrive à distinguer des pics correspondant à des composés, ce que l'on avait du mal à apercevoir en CCM.

Pour le premier lot, les composés sont majoritairement polaires : ils sortent en début d'analyse majoritairement sous les 50% d'acétonitrile (atteint au bout de 18min).

Pour le deuxième lot, on voit également la majorité des composés sortant sous les 50% d'acétonitrile, soit des composés plutôt polaires. A la différence du premier lot, des composés à polarité moyenne sont détectés jusqu'à environ 70% d'acétonitrile. Une première différence entre ces deux lots apparaît.

La majorité des composés sont polaires pour le troisième lot. On voit cependant quelques composés de polarités moyennes.

En se fondant sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou la quantité de produit analysé en détection CAD, on peut dire que l'effet de localisation influence non seulement les types de composés présents mais également leurs concentrations. En effet, certains composés moyennement polaires sont plus importants dans les lots 2 et 3 par rapport au premier.

Ces résultats sont en accord avec les observations faites en CCM, à savoir la présence de composés de nature très polaire pour les trois lots, et aussi la présence de composés plus apolaires dans les lots 2 et 3. Le premier lot présente un profil plus polaire.

Pour le PA, la majorité des composés sont polaires, tous sortent bien en dessous des 50% d'acétonitrile. Peu de composés sont détectés au-delà.

En comparant les quatre profils on peut s'apercevoir que les PA-2-T et PN-1-T sont plus ressemblants, il en va de même pour PN-2-T et PN-3-T. Pour c'est deux derniers, nous pouvons attribuer les différences d'aires sous les pics à l'effet de localisation.

- **Extraits AcOEt :**

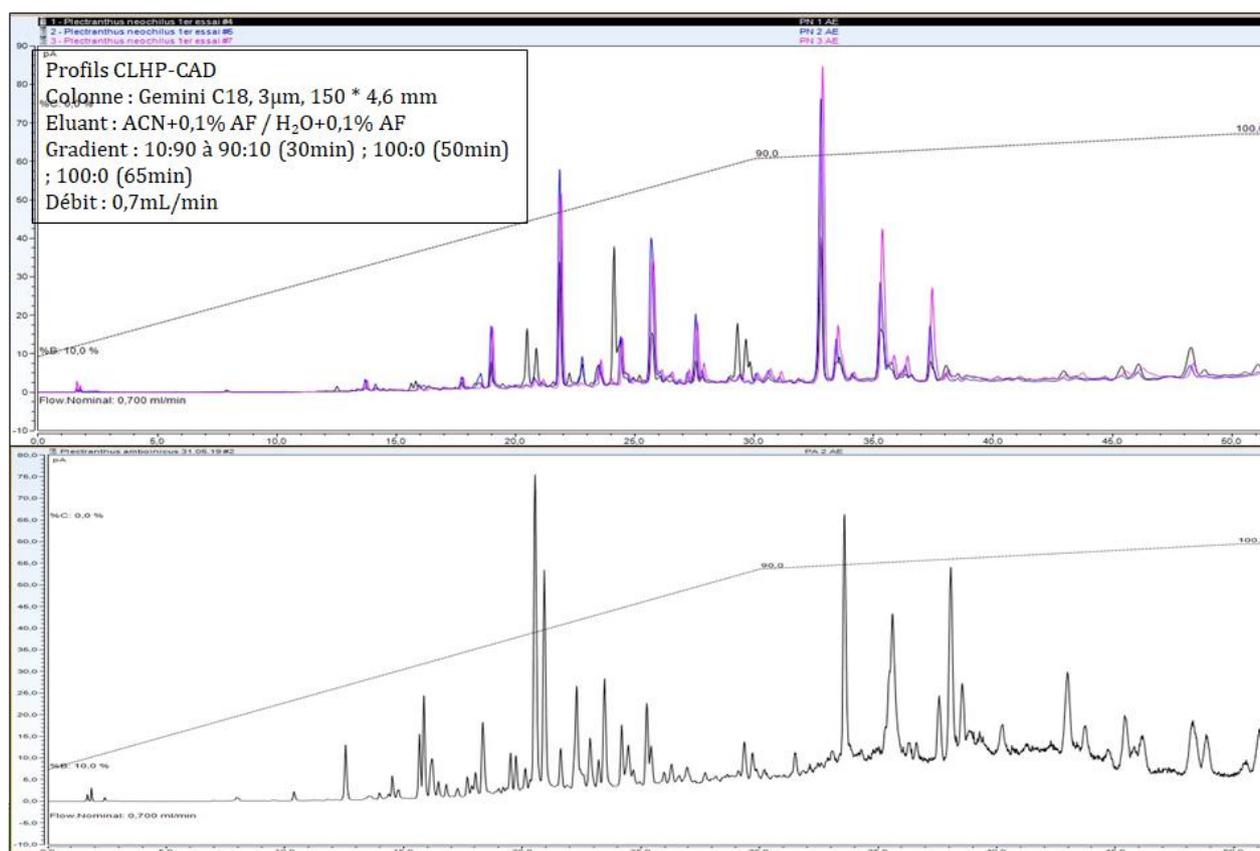


Figure 7 : Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits AcOEt

Pour les trois lots de PN, les composés polaires sont moins présents par rapport aux extraits aqueux, différence due à l'emploi de deux solvants de différentes polarités pour les extractions. La majorité des composés sont de polarité moyenne. Lorsque l'on compare les trois lots entre eux on peut voir que les profils sont relativement proches mais le premier lot se différencie une nouvelle fois des deux autres par l'apparition de pics en fin d'analyses de nature plutôt apolaire plus intensément que dans les deux autres lots. Ces derniers sont assez similaires, on note une nouvelle fois une différence au niveau de l'aire des pics entre les lots 2 et 3, nuance que l'on peut expliquer par la différence de localisation.

Le PA présente un panel de polarité un peu plus varié que le PN. Des composés plus polaires mais aussi apolaires sont présents dans celui-ci. Si on superpose les profils des quatre extraits entre eux, on s'aperçoit une fois de plus que le PN-1-AE est plus proche du PA-2-AE que les deux autres.

Ces observations rejoignent celles faites en CCM, on retrouve une large gamme de polarité avec la présence de composés un peu plus polaires chez PA non retrouvés chez PN.

- **Extraits EtOH :**

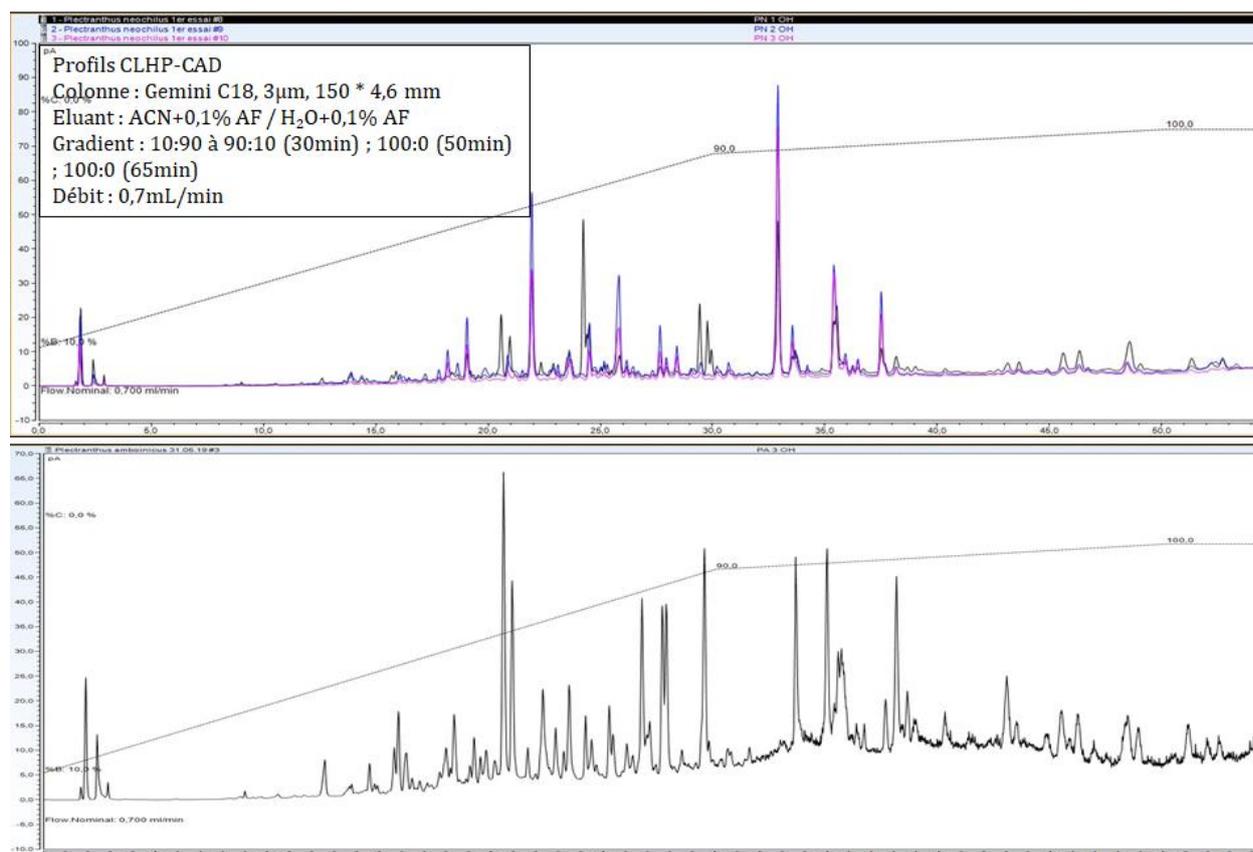


Figure 8 : Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits OH

A première vue, les extraits alcooliques sont très proches de ceux à l'acétate d'éthyle. On retrouve un panel de polarité assez large avec une dominance de composés de polarité moyenne. Cependant des composés polaires sont plus présents dans l'extrait alcoolique pour les trois lots, d'intensité variable selon le lot. Des points communs se retrouvent dans les trois lots avec une nuance d'aire de pic qui peut être associé à un effet géographique.

La large gamme de polarités apparait de manière plus évidente sur cet extrait éthanolique : des composés très polaires sortant en début d'analyse comme des très apolaires sortant à la fin. Les composés les plus importants sont, comme pour les trois lots de PN, de polarité moyenne. Ces analyses sont en accord avec les résultats des CCM.

Une fois de plus on note la ressemblance entre les lots PN-1 et PA-2 vis-à-vis des lots 2 et 3 de PN.

Ces premiers profils nous ont permis de voir que le PN et le PA offraient des composés couvrant une large gamme de polarités. Au vu des résultats, un fractionnement et des isolements sont envisageables pour identifier les composés présents dans ces extraits afin de discerner les différences et les points communs. Celles-ci peuvent être attribuées à la variabilité d'espèce mais aussi à la variation de localisation.

Comme pour les huiles essentielles, l'analogie entre PN-1 et PA-2 nous laisse penser à une éventuelle confusion d'espèce.

Concernant la nature des composés présents, au vu des profils de polarités, nous pouvons émettre l'hypothèse à des composés plutôt hétérocycliques, des alcaloïdes ou des polyphénols type flavonoïdes. Une analyse par CLHP couplé à la spectrophotométrie de masse nous permettrait de confirmer ou non ces hypothèses.

Conclusion

Cette étude a contribué aux connaissances ethnobotaniques et phytochimiques de deux espèces de *Plectranthus*, le *P. neochilus* et le *P. amboinicus*, présentes à l'île de La Réunion.

Concernant le premier aspect, les deux plantes sont utilisées aux mêmes fins médicinales. Toutes les deux sont recommandées contre les douleurs et pour le traitement de l'état grippal, par l'administration d'infusion réalisée à base des feuilles.

L'enquête ethnobotanique a permis de voir l'utilisation qui est faite du *P. neochilus*, notamment auprès de la population. Elle est employée en grande majorité pour le soulagement des maux de têtes, ce qui peut expliquer son nom vernaculaire à savoir la Plante Efferalgan® ou Doliprane®. Elle est généralement utilisée à l'état frais, à raison de trois feuilles en infusion. Une certaine méfiance ressort de la part des consommateurs mais également auprès des professionnels en « zerbaz » ce qui laisse penser à une éventuelle toxicité de la plante.

En ce qui concerne la phytochimie, les profils chimiques des deux espèces sont assez similaires. Toutes les deux contiennent des métabolites de polarité très différente. Les composés terpéniques prédominent dans les huiles essentielles. Cependant, on note une différence entre les deux espèces au niveau de la classe terpénique dominante ainsi qu'au niveau des composés majoritaires.

A propos des huiles essentielles, on note que le PA possède un rendement plus élevé que le PN. Nous pouvons associer cet écart par la variabilité d'espèce. Les différences de rendements entre les lots de PN peuvent être expliquées par l'effet du lieu de récolte.

De plus, nous suspectons une confusion des deux espèces lors de la récolte du premier lot : que ce soit pour le profil chimique des composés non volatils ou bien pour les huiles essentielles, ce lot a plus de points communs avec le PA qu'avec les deux autres lots du même genre

En effet les composés majoritaires retrouvés dans les huiles essentielles sont similaires entre le PN-1 et le PA-2. Les différences entre les lots 2 et 3 peuvent être expliquées par l'effet de localisation.

Des tests d'activités et de toxicités sur les extraits bruts sont en cours de réalisation à la Faculté de Pharmacie d'Aix-Marseille. En fonction des résultats, un fractionnement suivi d'une analyse par des méthodes spectroscopiques pourraient permettre une identification des principes

actifs présents dans les différents extraits. Des premiers résultats toxicologiques nous ont été adressés, le test des micronoyaux a été réalisé et dans les conditions expérimentales les extraits aqueux de PN n'ont montré aucune activité clastogène ou aneugène. On peut dire que le *Plectranthus neochilus* est sans effet génotoxique, et d'autres recherches de toxicités (aigue et chronique) restent à entreprendre pour rassurer les consommateurs de la Plante Doliprane, ce qui encourage la poursuite des essais.

Bibliographie

- [1] : Bureau L. La phytothérapie pertinente. ALTAL Éditions; 112 p.
- [2] : Morant O. Epidémie de Chikungunya à la Réunion 2005-2007 Place des plantes médicinales dans la maladie. 2007.
- [3] : Paracétamol : l'ANSM lance une consultation publique pour sensibiliser les patients et les professionnels de santé au risque de toxicité pour le foie en cas de mésusage - Point d'Information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 31 janv 2019]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Paracetamol-l-ANSM-lance-une-consultation-publique-pour-sensibiliser-les-patients-et-les-professionnels-de-sante-au-risque-de-toxicite-pour-le-foie-en-cas-de-mesusage-Point-d-Information>
- [4] : Description botanique des Lamiaceae | BOTANIQUE.ORG [Internet]. [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.botanique.org/description-botanique-lamiaceae-article24366/>
- [5] : [BIOECO] - Famille des Lamiacées. [Internet]. [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: <http://bioeco.free.fr/photos/familles/lamiac.htm>
- [6] : Rijo P, Batista M, Matos M, Rocha H, Jesus S, Simões MF. Screening of antioxidant and antimicrobial activities on *Plectranthus* spp. extracts: Pesquisa das actividades antioxidante e antimicrobiana em extractos de plantas do género *Plectranthus*. Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research. déc 2018;9(2):225-35.
- [7] : Rice LJ, Brits GJ, Potgieter CJ, Van Staden J. *Plectranthus*: A plant for the future? South African Journal of Botany. oct 2011;77(4):947-59
- [8] : Index de la flore [Internet]. [cité 7 févr 2019]. Disponible sur: https://mascarine.cbnm.org/index.php/flore/index-de-la-flore/nom?code_taxref=445720
- [9] : Lavergne R, Véra R. Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à La Réunion. : 225
- [10] : *Plectranthus amboinicus* | TRAMIL [Internet]. [cité 7 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.tramil.net/fr/plant/plectranthus-amboinicus>
- [11] : *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. [Internet]. [cité 7 mai 2019]. Disponible sur: http://www.mi-aime-a-ou.com/plectranthus_amboinicus.php
- [12] : Lukhoba CW, Simmonds MSJ, Paton AJ. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. Journal of Ethnopharmacology. janv 2006;103(1):1-24.
- [13] : Sodré GA, Ferah PC, Lima HRR, Campos LV, Delou CMC, Wille Lima NR. Phenotypic Plasticity of Boldo Mirim (*Plectranthus neochilus* Schlechter) within Rach of Children from Second Degree of Elementary School. Creative Education. 2018; 09(09):1359-76.

- [14] : Lima NRW, Sodré GA, Lima HRR, de Sá Mancebo SS, Campos LV, Gibson A, et al. The Efficacy of a Practical Activity in the Construction of Knowledge of the Concepts of Species and Phenotypic Plasticity Using the Boldo Mirim (*Plectranthus neochilus*; Schltr.). Creative Education. 2017; 08(13):2036-48.
- [15] : Bandeira JM, Bianchi VJ, Rubin S, Peters JA, Braga EJB. Genetic similarities among four species of the *Plectranthus* (L'Hér.) genus. Acta Scientiarum Biological Sciences [Internet]. 1 janv 2010 [cité 11 juin 2019];32(1). Disponible sur: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/880>
- [16]: Définitions : ethnobotanique - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [Cité 27 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/ethnobotanique/31403>
- [17] : plantes médicinales de La Réunion [Internet]. [Cité 19 févr. 2019]. Disponible sur: http://lansiv-kreol.net/environ_plantesmed.htm
- [18] : Duarte M do R, Lopes JF. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., *Lamiaceae*. Revista Brasileira de Farmacognosia. Déc. 2007;17(4):549-56.
- [19]: Tareau MA, Palisse M, Odonne G. As vivid as a weed... Medicinal and cosmetic plant uses amongst the urban youth in French Guiana. Journal of Ethnopharmacology. Mai 2017; 203:200-13.
- [20]: De Albuquerque U.P. The Use of Medicinal Plants by the Cultural Descendants of African People in Brazil. : 6.
- [21] Longuefosse J-L. Le guide de phytothérapie créole : Bien se soigner par les plantes créoles. Orphie. Broché; 2006.
- [22] York T, de Wet H, van Vuuren SF. Plants used for treating respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. Journal of Ethnopharmacology. juin 2011;135(3):696-710.
- [23] : Smadja J, Marodon C. Le grand livre des plantes médicinales de l'île de La Réunion t.1 ; inscrites à la Pharmacopée Française. Orphie; 2016. 232 p.
- [24] : Abdel-Mogib M, Albar H, Batterjee S. Chemistry of the Genus *Plectranthus*. Molecules. 28 févr 2002;7(2):271-301
- [25] : Neto Í, Faustino C, Rijo P. Antimicrobial abietane diterpenoids against resistant bacteria and biofilms. 2015;13
- [26] : González MA. Aromatic abietane diterpenoids: their biological activity and synthesis. Natural Product Reports. 2015;32(5):684-704.

- [27] : Ramborger BP, Ortis Gularte CA, Rodrigues DT, Gayer MC, Sigal Carriço MR, Bianchini MC, et al. The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. *Chemosphere*. déc. 2017;188:231-40.
- [28] : Lawal OA, Hutchings AH. Chemical Composition of the Leaf Oil of *Plectranthus neochilus* Schltr. :3.
- [29] : Caixeta SC, Magalhães LG, de Melo NI, Wakabayashi KAL, de P. Aguiar G, de P. Aguiar D, et al. Chemical Composition and in vitro Schistosomicidal Activity of the Essential Oil of *Plectranthus neochilus* Grown in Southeast Brazil. *Chemistry & Biodiversity*. nov. 2011;8(11):2149-57
- [30] : Mota L, Figueiredo AC, Pedro LG, Barroso JG, Miguel MG, Faleiro ML, et al. Volatile-Oils Composition, and Bioactivity of the Essential Oils of *Plectranthus barbatus*, *P. neochilus* and *P. ornatus* Grown in Portugal. *Chemistry & Biodiversity*. mai 2014;11(5):719-32.
- [31]: Vera R, Mondon J.M. Extract of *Plectranthus amboinicus*. : 2
- [32] : Chen Y-S, Yu H-M, Shie J-J, Cheng T-JR, Wu C-Y, Fang J-M, et al. Chemical constituents of *Plectranthus amboinicus* and the synthetic analogs possessing anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. mars 2014;22(5):1766-72

Liste des photographies

Photographie 1 page 20 : *Plectranthus amboinicus* (Jessica Nakab)

Photographie 2 page 21 : *Plectranthus neochilus* (Jessica Nakab)

Photographie 3 page 23 : Différences morphologiques chez *P. neochilus* (Jessica Nakab)

Photographie 4 page 33 : Etalage de Franswa Tibere, tisanneur, marché nocturne de Saint-Denis (Jessica Nakab)

Photographie 5 page 48 : Montage d'hydrodistillation (Jessica Nakab)

Photographie 6 page 59 : Plaques CCM pour les extraits AcOEt de PN ; en A en visible; en B sous UV 365nm; en C après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

Photographie 7 page 60 : Plaques CCM pour les extraits OH de PN ; en A sous UV 365nm; en B après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

Photographie 8 page 61 : Plaques CCM pour les extraits AcOEt de PN ; en A en visible; en B sous UV 254nm ; en C sous UV 365nm; en D après révélation à la vanilline sulfurique (Jessica Nakab)

Liste des figures

Figure 1 page 34 : Répartition en catégorie d'âge des personnes interrogées

Figure 29 page 40 : Abietane, structure en 2D

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/abietane#section=Top>)

Figure 310 page 42: Histogramme de la composition (en%) des huiles essentielles retrouvée dans la littérature

Figure 4 page 43: Structures chimiques des constituants majoritaires identifiés dans l'huile essentielle des feuilles de *P. neochilus*

Figure 5 page 4411 : Composés 1 à 4 retrouvés dans *Plectranthus amboinicus* étudié à Taïwann

Figure 6 page 6212: Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits aqueux

Figure 713 page 64: Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits AcOEt

Figure 814 page 65: Chromatogramme des trois lots de PN (en haut) et PA (en bas), extraits OH

Liste des tableaux

Tableau I page 35 : Appellations vernaculaires du *Plectranthus neochilus*

Tableau II page 35: Allégations retrouvées pour le *Plectranthus neochilus*

Tableau III page 36 : Parties et quantités utilisées pour la préparation de PN

Tableau IV page 47 : Masse en gramme des matières végétales

Tableau V page 52: Caractéristiques principales des huiles essentielles obtenues

Tableau VI page 55: Différentes classes chimiques retrouvées dans les huiles essentielles (en %)

Tableau VII page 55: Composés majoritaires retrouvés dans les huiles essentielles

Tableau VIII page 57: Rendements (en %) des extractions

Annexes

Annexe 1 : Fiche enquête ethnobotanique

Annexe 2 : Résultats de l'enquête ethnobotanique

Annexe 3 : Comparatif des huiles essentielles retrouvées dans la littérature

Annexe 4 : Comparatif des huiles essentielles étudiées

Annexe 5 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-002

Annexe 6 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-003 du premier ballon

Annexe 7 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-003 du deuxième ballon

FICHE ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

A PROPOS DE VOUS

- 1) Vous êtes : un homme une femme
- 2) Quel âge avez-vous ? <20 ans 20-29ans 30-39ans 40-49ans
 50-59ans 60-69ans >70ans
- 3) Profession ?

.....

A PROPOS DE LA PLANTE

- 1) Sous quel nom connaissez-vous cette plante ? (nom latin en plus si connu)

.....

- 2) Pour quelles maladies ou troubles de la santé l'utilisez-vous ?

.....

- 3) Comment l'utilisez-vous ?

- Plante fraîche Plante séchée

Quelle partie de la plante ?

.....
.....

En quelle quantité ?

.....
.....

Comment la préparez-vous ?

.....
.....
.....

Associez-vous d'autres plantes à la préparation ?

.....
.....
.....

4) A quel posologie utilisez-vous cette plante ? (combien par jours, durée traitement)

.....
.....
.....
.....

5) Connaissez-vous d'éventuelles toxicités, ou contre-indication, ou précautions à prendre avec cette plante ?

.....
.....
.....
.....

6) Commentaires libres

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

En vous remerciant pour avoir pris le temps de répondre à cette enquête

Jessica NAKAB

Annexe 2 : Résultats de l'enquête ethnobotanique

Sexe	Age	Secteur	Profession	Nom plante	latin	Indications	Fraiche/sèche	Partie	Quantité	Préparation	Autres plantes	Posologie	Toxicités	Commentaires
H	30-39ans	S	Professeur	Plante Doliprane		mal de tête, curatif ou préventif (apero)	fraiche	feuilles	1 ou 2	mange direct		le soir après l'apero, une fois de temps à autre		A testé auprès d'amies migraineuses, une a maché la feuille, en 15min symptômes disparues
H	>70ans		Retraité	Plante Doliprane		meme que le doliprane	fraiche	branche avec feuilles	une branche 10-15cm /casserole	infusion	verveine citronnelle	3 à 4 tasses / jour selon symptômes		Préfère le ti baume (P.amboinicus) par rapport au gout
F	>70ans		Retraité	Plante Doliprane		meme que le doliprane	fraiche	branche avec feuilles	une branche 10-15cm /casserole	infusion	verveine citronnelle	3 à 4 tasses / jour selon symptômes		Préfère le ti baume (P.amboinicus) par rapport au gout
H	20-29ans	S	Employé Jardin St Philippe	Plante Dafalgan		Mal de tête	fraiche	feuilles (cœur)	un cœur	infusion, décoction ou cataplasme		pas souvent		"Même m'en a fait quand j'étais petit" (possible confusion avec l'amboinicus...)
H	20-29 ans	S	Employé Jardin St Philippe	Plante Dafalgan		Mal de tête	fraiche	feuilles (cœur)	un cœur ou 3 feuilles	infusion				
H	60-69ans	S	Employé Jardin St Philippe	Efferalgan		meme que l'effarigan	fraiche	feuilles	3 feuilles	infusion ou décoction (plus de molécules)				mauvais herbe, grasse, pousse partout
F	30-39ans	S	Gynécologue	Efferalgan ou Gros Thym		Digestion	fraiche	feuilles	4 feuilles	infusion	fleurs de thym ou ayapana	de temps en temps le soir		Voisine de 80ans qui lui a donné, on lui a parlé d'une utilisation culinaire
H	60-69ans	O	Tisaneur	Efferalgan		Migraine/sommeil	fraiche	feuilles	quelques feuilles	infusion		2/3 fois		Usage personnel, appréhension intuitive qu'elle a un revere, il ne faut pas en abuser
F	50-59ans	O	Jardin	Menthe Efferalgan Doliprane pei		meme que le doliprane (douleurs musculaires, digestion)	fraiche	feuilles	3 ou 5	infusion ou cataplasme de feuilles écrasées		1 ou 2/jour		Usage personnel, jamais en plante sèche car elle a trop d'eau
H	20-29 ans	N	Post Doctorant de chimie	Efferalgan ou ti baume		Maux de tête et digestion	fraiche	feuilles	quelques feuilles	tisane, quelques feuilles pour 1L d'eau	Basilic sacré et verveine citronnelle	une fois par jour le soir, pas plus de 2 ou 3 jours de suite	Non	
H	30-39 ans	O	Chomage	Efferalgan ou ti baume		Mal de tête	fraiche	feuilles	"au pif"	infusion				"Paraît que ça marche même pour les règles douloureuses"
F	50-59 ans	O	Chomage	Plante Efferalgan		Fièvre, maux de tête, grippe	fraiche	feuilles	4 petites pour une casserole d'eau	infusion	Peut être mélangée avec le cœur de cerises	N'importe quel moment, dit que les gramounes disent qu'il faut prendre ça 2 fois/jour sur une semaine	Il ne faut pas abuser de la quantité de feuilles, pas mettre plus de doses requises parce que toutes les plantes à haute dose deviennent toxiques	On peut le boire jusqu'à 3 fois par jour

Sexe	Age	Secteur	Profession	Nom plante	latin	Indications	Fraiche/sèche	Partie	Quantité	Préparation	Autres plantes	Posologie	Toxicités	Commentaires
F	20-29 ans	O	Etudiante	Plante Doliprane		Fièvre, maux de tête, grippe	fraiche	feuilles et tige	2 tiges pour 1L	tisane	Aucune	1 verre matin et soir, pas de nombre spécifique tant que la douleur est présente je prend	Ne pas la mélanger avec d'autres plantes, e pas boire plus de 2 verres/jour	
F	20-29 ans	E	Ingenieure en Energies renouvelables	Efferalgan pei		Douleur, fièvre, fatigue	fraiche	feuilles et tiges	quelques feuilles	infusion	citronnelle, thym, gingembre, citron et miel !	une tasse le soir		
F	50-59 ans	E	Assistante sociale	Efferalgan pei ou baume		douleur, état grippal	fraiche	feuilles	quelques feuilles	infusion	non	une tasse le soir		
F	20-29 ans	O	Etudiante	Doliprane		état grippal, grosse fièvre	fraiche	feuilles	3-4 feuilles (variable selon intensité de la maladie)	infusion	citron et cœur de cerise	une tasse le soir	non	"Je ne sais pas si elle est utilisée pour d'autres troubles mais pour la fièvre très efficace. J'ai transpirée toute la nuit sûrement la tisane faisait effet, le lendemain j'étais en pleine forme ! Tres efficace"
H	30-39 ans	N	Technicien de labo	Efferalgan/D afgang		Maux de tête et digestion	fraiche	cœur	variable selon humeur	infusion ou décoction	basilic pour la digestion, HE de tea tree pour les maux de tête	une tasse le soir avant ou après repas		Jamais une plante seule, toujours mélanger. Et ne pas la confondre avec la plante Doliprane !
F	20-29 ans	S	Masseuse	Baume Efferalgan		maux de tête	fraiche	feuilles	plusieurs	"couronne sur la tête"		rarement		
						tendinites	fraiche	feuilles	3	cataplasme				très rarement en infusion
F	30-39 ans	S	Masseuse	Baume Efferalgan		maux de tête	fraiche	feuilles	plusieurs	"couronne sur la tête"		rarement		"L'odeur envivre et soulage le mal de tête"
H	30-39 ans	E	Agriculteur	Efferalgan		pas pour des problèmes en particulier, plus par plaisir, rarement grippe, douleurs, fièvre	fraiche	feuilles	quelques feuilles	infusion	verveine citronnelle, menthe, thym, etc...	rare, 3 ou 4 x par an	non	jamais seul toujours en association
H	<20 ans	S	Etudiant	Efferalgan		Mal de tête, digestion, douleur	fraiche	feuilles	5 feuilles	infusion	ayapana, citronnelle, +/- romarin pour la digestion	une bonne tasse le soir	Si les feuilles sont abimes, troués... mauvaise odeur donc à ne pas utiliser	Seul pour les maux de tête ou les douleurs. Plante a multiplication anarchique, résistante et robuste.
F	60-69 ans	N	Retraîtée	Efferalgan		Etat grippal, rhume, maux de tête	fraiche	feuilles	1 ou 2	infusion	thym citronné ou verveine citronnelle ou géranium	rarement, le soir		ne l'utilise pas a tord et à travers
F	50-59 ans	O	Institutrice	Efferalgan		Mal de tête, digestion, douleurs	fraiche	feuilles	3 feuilles	infusion	ayapana si pour la digestion	une bonne tasse le soir		gout amer, ajoute du miel pour adoucir
H	20-29 ans	E	ouvrier	Menthe Doliprane		Douleurs, fièvre, maux de dents	fraiche	feuilles	petite poignée	infusion		2-3 jours uniquement	pas de toxicité connue tant que la prise n'est pas importante	
								feuilles	1	directement macher pour les maux de dents				
F	50-59 ans	N	agent d'entretien	Doliprane		diététique, ça aide les fonctions rénales. Bon aussi pour les migraines fièvre, grippe...	fraiche	feuilles	30g	infusion				
							seche	feuilles	15g	infusion				
F	30-39 ans	N	chargé de mission	Doliprane		migraine, maux de tête ou soulager les courbatures	fraiche	feuilles	3 bourgons (1=5feuilles)	infusion	citronnelle	une bonne tasse le soir	"on m'a dit de faire attention aux doses"	certaine méfiance car forte en gout "tu sens qu'il ne faut pas en abuser"

Annexe 3 : Comparatif des huiles essentielles retrouvées dans la littérature

	Composition (%)		
	Afrique du Sud, Zululand [21]	Brésil, Sao Paulo [22]	Lisbon, Portugal [23]
Monoterpènes			
Monoterpènes hydrocarbonés	3,3	40,36	43 - 73,05
camphène		0,13	
δ-3-carène			0,2 - 1,7
<i>p</i> -cymène			0,65 - 1,5
<i>o</i> -cymène		0,33	
2,5-dimethylstyrène			0,05 - 0,15
limonène	1,9	0,33	0,5 - 2,8
β-myrcène		0,28	0,125 - 0,65
(<i>E</i>)-β-ocimène	0,4	2,66	1,6 - 4,55
(<i>Z</i>)-β-ocimène	0,3	0,41	0,175 - 1,8
α-phellandrène			0,15 - 0,45
β-phellandrène			0,3 - 2,8
α-pinène		12,63	9,9 - 18,1
β-pinène		6,19	4,7 - 19,05
sabinène		2,7	2,3 - 5,85
α-terpinène		0,69	0,3 - 0,95
γ-terpinène		1,32	0,525 - 1,8
α-terpinolène	0,7	0,28	
thuja-2,4(10)-diène		0,19	
α-thuyène		12,22	10,55 - 26,3
Monoterpènes oxygénés	81,7	1,78	6,45 - 35,35
acétate de bornyle			0,05 - 0,8
acétate de citronellyle	0,7		
acétate d'α-terpinyle			1,6 - 27,6
butyrate de citronellyle	1,3		
butyrate de géranyle	0,8		
carvacrol			0,05 - 0,1
citronello	29		
formate de citronellyle	11		
formate de géranyle	0,7		
géraniol	3,1		
isobutyrate de géranyle	0,3		
isomenthone	9,2		
linalol	9,8		
oxyde de <i>cis</i> -linalol (furanoïde)	0,9		
menthone	1,2		
<i>p</i> -menth-1,5-diène-8-ol			0,05 - 1,1
oxyde de <i>cis</i> - rose	0,8		
oxyde de <i>trans</i> - rose	3,3		
propionate de citronellyle	3,4		
terpinén-4-ol			1,85 - 3,85

α -terpinéol	4,5	1,78	0,375 - 2,45
<i>trans</i> - thujone			0,075 - 0,8
tiglate de géranyle	1,5		
valérate de citronellyle	0,2		
Sesquiterpenes			
Sesquiterpenes hydrocarbonés	3,1	46,12	8,05 - 19,7
allo-aromadendrène	0,1		
α -amorphène		0,37	
aromadendrène	0,2		
<i>trans</i> - α -bergamotène			0,075 - 0,4
β -bourbonène	0,6	1,32	0,25 - 1
δ -cadinène	0,4	2,5	0,05 - 0,45
γ -cadinène			0,125 - 0,8
β -caryophyllène	0,4	28,23	3,4 - 8,9
α -copaène	0,1	1,2	0,75 - 1,75
β -copaène			0,125 - 0,5
α -cubébène		0,65	0,45 - 1,4
β -cubénène		0,5	0,45 - 1,2
β -élemène	0,1		0,075 - 0,25
eremophilène		4,5	
germacrène D	0,5	5,36	1,75 - 4
α -guaiène	0,1		
α -humulène	0,1	1,49	0,075 - 0,5
iso- α -cedrène	0,1		
lédène	0,4		
α -muurolène			0,125 - 0,75
γ -muurolène			0,075 - 0,45
β -sélinène			0,05 - 0,3
sesquisabinène			0,05 - 0,1
Sesquiterpenes oxygénés	0,5	11,08	2,3 - 5,6
α -cadinol		2,42	0,3 - 1,55
δ -cadinol		0,68	
T-cadinol			0,25 - 1,1
cédrol			0,05 - 1
épi- α -cadinol		2,02	
kessane			0,05 - 0,5
T-muurolol	0,5		
(<i>E</i>)-nérolidol		0,59	
oxyde de caryophyllène		5,37	0,65 - 3,35
Autres	1,9	0,2	3,55 - 5,75
octan-3-ol		0,2	2,5 - 4,8
2-pentylfurane			0,05 - 0,6
tiglate 2-phenyléthyle	1,9		
Inconnu		0,47	

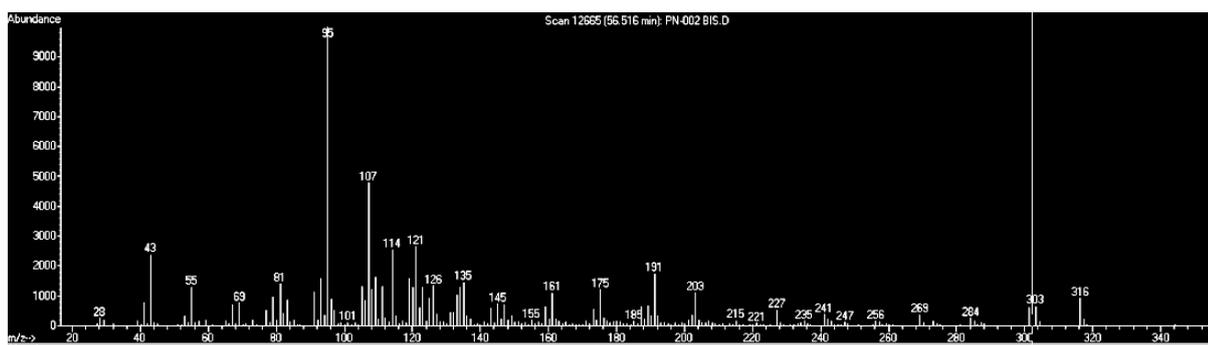
Annexe 4 : Comparatif des huiles essentielles étudiées

		PLECTRANTHUS NEOCHILUS					P.AMBOI NICUS
		LOT 1 (PN- HE-001)		LOT 2 (PN- HE-002)	LOT 3 (PN- HE-003)		PA-HE- 002
Nom	IRR	1	2		1	2	
Monoterpènes		44,1	69	7,5	1,9	1,3	56
Monoterpènes hydrocarbonés		5,4	32,7	1,2	0,1	0	28,8
camphène	955		0,6				0,7
3-carène	1017		9,7				7,1
δ-3-carène	1010				tr		
(+)-4-carène	1022	0,5	4,1				4
p-cymenène	1094				tr		
limonène	1034	0,3	1,6				1,6
myrcène	992	tr	0,9				
α-ocimène	1049/1048	tr	0,2				
E-β-ocimène	1049			0,3	tr		0,1
(Z)-β-Ocimène	1037	tr	0,2	0,1			
ortho-cymène	1029	1,5	5,3	0,4	0,1		4,9
para-cymène	1026						0,4
α-phellandrène	1010	0,1	1				0,9
α-pinène	939		0,6	tr	tr		0,6
β-pinène	984		0,1	0,1	tr		0,9
sabinène hydrate	1074	tr					
α-terpinène	1017/1021	1,1		tr			
β-terpinène	1060	tr	0,4				
γ-terpinène	1063	1,7	6,8	0,2			6,5
terpinolène	1094	0,2	0,6				0,5
thuja-2,4(10)-diène	949				tr		
α-thujène	930		0,6	0,1	tr		0,6
Monoterpènes oxygénés		38,7	36,3	6,3	1,8	1,3	27,2
camphre	1160/1156 /1154	11,2	12,7	0,2			9,2
carvacrol	1310	24,5	21,8		0,4	0,5	16,3
cymen-8-ol	1191			0,4	0,3		
para-cymen-8-ol	1192	0,2				0,2	
fenchone	1096	0,4	0,4				0,4
linalool	1101				0,1	tr	0,4
linalyl (oxyde de)	1174	0,1					
menth-2-en-1-ol	1130	0,1			tr		
cis-menth-2-en-1-ol	1128			0,1			
trans-menth-2-en-1-ol	1146			0,1	tr		
α-phellandrène-8-ol	1168/1167	0,1	tr				
roséfuran (epoxyde de)	1177	tr					
terpinèn-4-ol	1186/1185	1,3	1	3,1	0,8	0,5	0,9
α-terpinéol	1198	0,3	0,2		0,2	0,1	

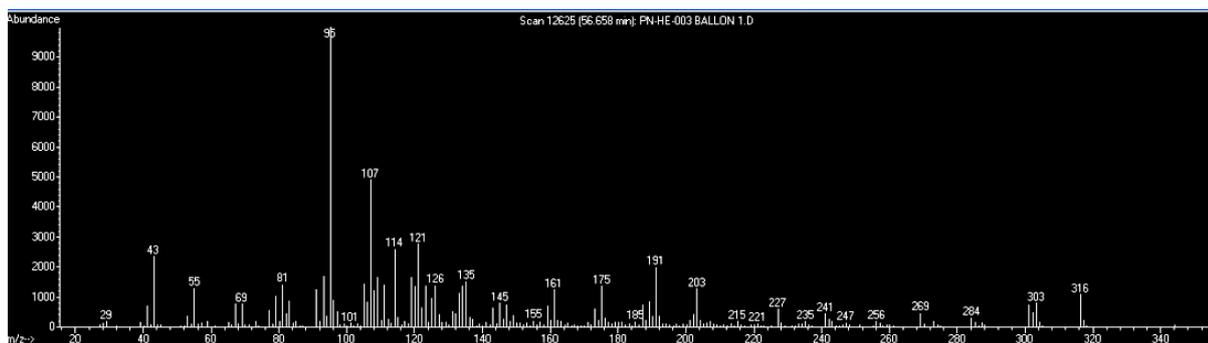
γ-terpinéol	1206/1198	0,2		0,9			
thymol	1296/1306	0,3	0,2	1,5			tr
thymoquinone	1254				tr		
Sesquiterpènes		31	21,1	50,2	40,3	43	19,8
Sesquiterpènes hydrocarbonés		23,6	18,3	33,8	21,4	20,7	16,9
aromadendrène	1457			0,2			
α-bergamotène	1447	5,1	3,8				3,3
bisabolène	1515	0,6	0,3				0,3
bourbonène	1396			2,6			
β-bourbonène	1398	0,1			0,7	0,8	
α-bulnesène	1512	1,9	1				
<i>trans</i> -cadinène-ether	1558	0,2	tr				0,1
cadina-1(2),4-diène	1544						0,2
cadina-1(6),4-diène	1475			0,2	0,2	0,2	
<i>trans</i> -cadina-1,4-diène	1544			0,2	0,1	0,1	
<i>trans</i> -cadina-1(6),4-diène	1477	tr					
α-cadinène	1550	0,1		0,1	0,1	0,1	
δ-cadinène	1535	3	1,4		4,1	4,7	1,6
α-calacorène	1556	tr		0,2	0,2	0,2	
β-calacorène	1576	tr		0,1	0,2	0,1	
α-caryophyllène (=humulène)	1471	2,5	1,6	1,5	1	0,8	1,6
caryophyllène	1438	5,7	4,3	14,1	9	8,8	3,8
<i>cis</i> -caryophyllène	1419			0,3	0,1	0,1	
α-copaène	1388	1,8	1,2	1,2	0,9	0,7	
β-copaène	1442			0,6	0,2		
α-cubebène	1359	0,2	0,1	0,7	0,5	0,4	0,1
β-cubebène	1399		0,3	0,7	0,4	0,6	1
β-elemène	1400						0,3
epizonarène	1539	0,2					
farnesène	1457	0,3	0,1				0,1
germacrène D	1485	0,4	tr			0,1	
α-gurjunène	1423						0,1
β-gurjunène	1441					0,2	
β-longipinène	1401	0,6					
muurola-4(14),5-diène	1494				1,1		
<i>cis</i> -muurola-4(15),5-diène	1465	tr					
<i>trans</i> -muurola-4(14),5-diène	1496	0,9	0,5	2,8		0,9	
α-muuroloène	1510			0,3	0,3	0,3	
γ-muuroloène	1484		0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
α-selinène	1500				0,1		1
β-selinène	1501		3,5				3,1
zonarène	1527			7,8	1,9	1,3	0,1
Sesquiterpènes oxygénés		7,4	2,8	16,4	18,9	22,3	2,9
α-acoréol	1643			1			
α-bisabolol	1692	0,3					
bisaboladien-4-ol	1615					0,2	
α-cadinol	1671	1,3	0,6	2,4	4,1	3,6	0,7
calamenen-10-ol	1682					0,1	

caryophyllène (oxyde de)	1602	1,9	0,9	7,7	7	8	0,6
caryophylla-4(14) ,8(15)-dièn-5- α -ol	1651				0,4		
caryophylla-4(12) ,8(13)-dièn-5 β -ol	1650					0,6	
<i>cis</i> -cadin-4-en-7-ol	1643	0,7	0,3				
cubébol	1528		0,2	0,5			0,1
cubénol	1656						0,9
driménone	1812				0,2		
1- <i>epi</i> -cubénol	1643				0,3	1,2	0,3
<i>épi</i> - α -cadinol	1656				5,6		
1,10-di- <i>épi</i> -cubenol	1630			0,3	0,4		
10,10-Dimethyl-2,6-diméthylènebicyclo [7.2.0] undecan-5 β -ol	1651			0,7			
eudesma-4(15) ,7-dièn-1- β -ol (impure)	1699	0,1		1,4		0,3	
germacrène D-4-ol	1591	0,1	tr				
germacra-4(15), 5,10(14)-trien-1- α -ol	1692				0,3	1,4	
14-hydroxy-9- <i>épi</i> -caryophyllène	1679			0,1			0,3
E-14-hydroxy-9- <i>épi</i> -caryophyllène	1687	0,9					
α -muurolol	1654					5,3	
nérolidol	1566			1,8		1	tr
β -nérolidol	1566	0,2					
β -oplopénone	1624			0,4	0,4	0,4	
valérianol	1658	1,9	0,8				
salvia-4(14)-en-1-one	1610			0,1	0,2	0,2	
Diterpènes		0,1	0	0	0,2	0	0
cembrène A	1983	tr			0,2		
phytol	2113	0,1					
Alcool		0,2	0,6	0,4	tr	0	0
octen-3-ol	979	0,2	0,6	0,4	tr		
Acides gras		tr	0	0	0,5	0	0
Hexanoate d'éthyle	997	tr					
Acide palmitique	1960				0,5		
Autres		1,8	1,6	0,9	1,3	0,1	1
acétate de carvacrol	1375						tr
asarone	1709			0,7			
damascenone	1391			0,2	0,1	tr	
méthyl éther carvacrol	1248	1,8	1,6			1	1
phytol-acétate	2218				1,2		
α -térpinyl acétate	1353			tr	tr	0,1	

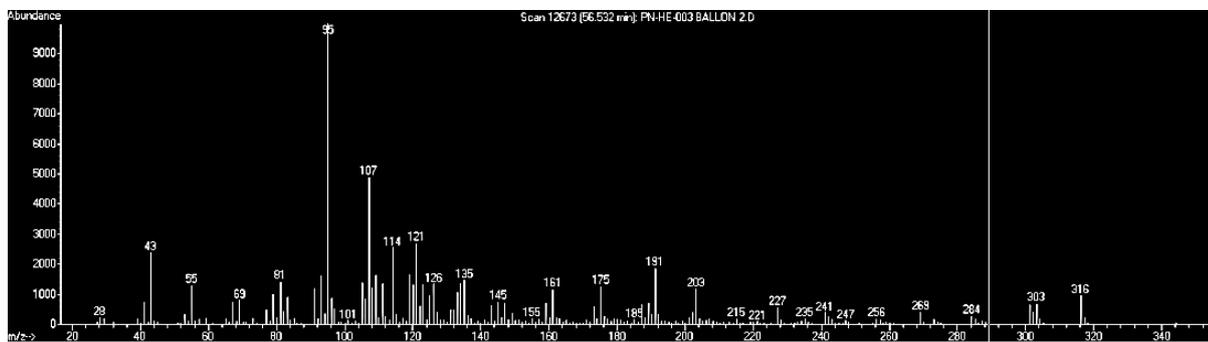
Annexe 5 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-002



Annexe 6 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-003 du premier ballon



Annexe 7 : Spectre de masse du composé non identifié de PN-HE-003 du deuxième ballon



SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.