

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**  
**Université Saad Dahleb -Blida**  
**Faculté des Sciences Agronomiques et Biologiques**  
**Département de Biologie**



**Mémoire de fin d'études**  
**En vue de l'obtention du Diplôme de Master II en Biologie**  
**Option : Phytothérapie et santé**

## Thème

Extraction et analyse physico-chimique de l'huile essentielle de  
*Salvia officinalis* L. (la sauge)  
Et étude de leurs activités biologiques et l'activité antioxydante in vitro

**Présenté par :**

Melle CHABOU Nefissa

Melle KOUACI Ihcene

**soutenu le :**

22 Septembre 2013

**Devant le jury :**

Mme SAIDI F.	Professeur	USDB	Présidente
Mme KARATOUMI F.Z	MAA	USDB	Examinatrice
Mme CHAABANE D.	MAB	USDB	Examinatrice
Mme CHERIF H.	MCA	USDB	Promotrice
Mr AIT YAHIA A.	MAA	USDB	Co-promoteur

**Année Universitaire 2012/2013**

## **Remerciements**

*En premier lieu, on remercie Dieu le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.*

*On tient à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à notre promotrice Mme Cherif H. Ses encouragements et sa disponibilité durant toutes les étapes de ce travail.*

*Nos remerciements vont à Mme Saïdi F. pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.*

*On tient à remercier Mme Kara toumi Fz. et Mme Chaabane D. qui ont bien voulu examiner et évaluer ce travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre Co-promoteur Mr Ait yahia A. qui n'a pas cessé de me diriger et de me transmettre tout son savoir jusqu'à la fin de ce travail.*

*Nos profonds remerciements vont également à M<sup>elle</sup> Nekkab I., Mr Khireddine, Mr Boukhatem R. et Mme Ait yahia K., pour nous avoir autorisé à accéder à leurs laboratoire ainsi que pour leurs gentillesse, aide, conseils tout au long de notre stage.*

*Nos sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. On ne saurait remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail on cite spécialement Mr Guedioura A. et M<sup>elle</sup> Amedjkouh H., pour leur aide, leur disponibilité, leur soutien sans faille et leur sympathie.*

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle.....	10
Tableau II : Micro organismes utilisés dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	15
Tableau III : Teneur en eau de la plante.....	34
Tableau IV : Rendement des huiles essentielles.....	34
Tableau V : Caractère organoleptique des HE.....	35
Tableau VI : Résultats des analyses physiques.....	35
Tableau VII : Résultats des analyses chimiques.....	36
Tableau VIII : Les composés majoritaires de l'HE.....	37
Tableau IX : Résultats de screening phytochimique.....	38
Tableau X : Résultats de la toxicité aigue des huiles essentielles.....	38
Tableau XI : Résultats de l'effet anti-inflammatoire du témoin .....	Annexe III
Tableau XII : Résultats de l'effet anti-inflammatoire du médicament.....	Annexe III
Tableau XIII : Résultats de l'effet anti inflammatoire à 2%.....	Annexe III
Tableau XIV : Résultats de l'effet anti-inflammatoire à 4%.....	Annexe III
Tableau XV : Résultats statistiques de l'activité anti-inflammatoire.....	Annexe III
Tableau XVI : Résultats obtenue de l'activité hypoglycémiante.....	Annexe III
Tableau XVII : Résultats de l'activité anti microbienne.....	47



## Listes des figures

Figure 1 : Structure morphologique de <i>Salvia officinalis</i> L. ....	05
Figure 2 : Structure de la feuille (Face supérieure).....	06
Figure 3 : Structure de la feuille (Face inférieure) .....	06
Figure 4 : structure de la fleur.....	06
Figure 5 : Balance de précision.....	Annexe I
Figure 6 : Echantillon de l'huile essentielle .....	17
Figure 7 : Huile essentielle de la sauge .....	17
Figure 8 : Réfractomètre.....	Annexe I
Figure 9 : pH mètre.....	Annexe I
Figure 10 : La solution DPPH.....	Annexe I
Figure 11 : Spectrophotomètre.....	Annexe I
Figure 12 : Centrifugeuse.....	Annexe I
Figure 13 : Gavage des souris.....	Annexe I
Figure 14 : Dispositif pour l'activité anti-inflammatoire.....	30
Figure 15 : Injection de caragénine.....	Annexe I
Figure 16 : Mesure des pattes.....	Annexe I
Figure 17 : Glucomètre (Accu Check Active).....	Annexe I
Figure 18 : Résultats de l'analyse de la composition chimique de l'HE par CG/MS.....	Annexe VI
Figure 19 : Résultats de test antioxydant par DPPH.....	40
Figure 20 : Résultats du test antioxydant par $\beta$ -carotène.....	41
Figure 21 : Résultats de l'absorbance des huiles essentielles.....	42
Figure 22 : Résultats de l'absorbance des antioxydants de références.....	42
Figure 23 : Résultats du pourcentage d'augmentation de la patte des souris.....	43



Figure 24 : Résultats du pourcentage d'inhibition d'œdème dans les pattes des souris.... 44

Figure 25 : Résultats de l'activité hypoglycémiant des HE de *Salvia officinalis*.....45

Figure 26 : Résultats de l'activité anti microbienne de l'huile essentielle de *Salvia* .....48



**Liste des abréviations :**

**OMS:** organisation mondiale de la santé.

**UV-VIS :** ultra violet visible.

**CG/MS:** chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**FRAP:** Ferric Reducing Activity Power.

**BHT:** butylated hydroxytoluene.

**BHA:** butylated hydroxyanisole.

**VIT C:** acide ascorbique.

**HE:** huile essentielle.

**DPPH :** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil.

**Nbr :** nombre.

**ATCC:** American Type Cultur Colection.

**NMRI:** Naval Medical Research.

**ONAB:** Office National des Aliments et du Bétails.



## *Glossaire*

---

- **Elliptique** : qualifie un organe en forme d'ellipse.
- **Calice** : verticille externe du périanthe d'une fleur, c'est l'ensemble des sépales
- **Corolle** : ensemble de pétales d'une fleur.
- **Verticille** : ensemble d'organe de même nature inséré en cercle et au même niveau.
- **Emménagogue** : C'est un remède qui facilite l'écoulement des règles ou qui aide à régulariser le flux menstruel.
- **Stomachique** : facilite le travail de l'estomac et le fortifie.
- **Pouvoir Antioxydant** : Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant.
- **Le  $\beta$ - carotène** : possède la capacité de capter l'oxygène singulet, on le retrouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye et les autres fruits jaunes.
- **Hypoglycémie** : diminution de la concentration de glucose dans le sang.
- **Inflammation** : L'inflammation est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression par une infection pathogène, ou par un traumatisme. Le but de l'inflammation est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : chaleur, rougeur, douleur et tuméfaction.
- **Produit anti-inflammatoire** : Un produit est dit anti-inflammatoire lorsqu'il aide à combattre les processus inflammatoires liés à une infection ou un rhumatisme ou autre.
- **Œdèmes** : accumulation anormale de liquide séreux dans les espaces intercellulaires du tissu conjonctif.

## *Table des matières*

---

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux .....	III
Glossaire .....	IV
Résumé.....	V
Abstract .....	VI
ملخص.....	VII
Introduction.....	VIII

### **Partie I : Partie bibliographique**

I.1. La phytothérapie .....	02
I.2. Les plantes médicinales.....	02
I.3. Etude de la plante :	
I.3.1. Description de la famille des lamiacées.....	03
I.3.2. Historique de la sauge.....	04
I.3.3. Présentation de la plante :	
I.3.4. répartition géographique de la plante.....	07
I.3.5. Exigence édaphique.....	08
I.3.6. La récolte.....	08
I.3.7. Propriétés thérapeutiques.....	08
I.3.8. Indications et usages.....	09
I.3.9. Composition chimique de la plante.....	10
I. 4. Les huiles essentielles :	
I.4.1. Définition.....	11
I.4.2. Origine et lieu de sécrétion.....	11



## Table des matières

---

I.4.3. Caractéristiques.....	11
I.4.4. Bioactivité de quelques principes.....	12
I.4.5. Les méthodes d'extraction.....	12

### **Partie II : Matériel et méthodes :**

#### **II.1. Matériel :**

II.1.1. Matériel biologique.....	14
II.1.2. Matériel non biologique.....	15

#### **II.2. Méthodes expérimentales :**

II.2.1. Traitements préliminaires des parties utilisées.....	16
II.2.2. Détermination de la teneur en eau.....	16
II.2.3. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	16
II.2.4. Analyses physico-chimiques des huiles essentielles.....	17
II.2.5. Analyses de la composition chimique de l'huiles essentielle par CG/MS.....	22
II.2.6. Screening phytochimique.....	23
II.3. Etude de la toxicité aigue de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	24

#### **II.4. Etude des activités biologiques**

II.4.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par : .....	25
II.4.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	29
II.4.3. Etude de l'activité hypoglycémiant.....	31
II.4.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	32
II.5. Outils statistiques.....	33

### **Partie III : résultats et discussions**

#### **III.1. Résultats :**

III.1. Etude phytochimique.....	34
III.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des HE.....	35

## *Table des matières*

---

III.1.2. Analyses de la composition chimique de l'HE par CG/MS.....	37
III.1.3. Screening phytochimique de la plante.....	37
III.1.4.5. Résultats de l'étude de la toxicité aigue.....	38
III.1.4. Résultat de l'étude des activités biologiques :	
III.1.4.1. Résultats de l'activité antioxydante.....	39
III.1.4. 2. Résultats de l'activité anti-inflammatoire.....	43
III.1.4.3. Résultats de l'activité hypoglycémiante.....	44
III.1.4.4. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	46
III.2. Discussions générales.....	49
Conclusion.....	IX
Références bibliographiques.....	X
Annexes.....	XI

## Résumé

Notre travail porte sur l'extraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. et l'étude de leurs activités biologiques notamment anti-inflammatoires, antioxydantes, hypoglycémiantes, antimicrobiennes afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un clevenger, suivie d'une analyse de la composition chimique par CG/MS dont les composés majoritaires sont les sesquiterpènes.

Par ailleurs, une étude de la toxicité aiguë menée sur des souris a montré que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est relativement considérée toxique à forte dose.

L'effet anti-inflammatoire a révélé que l'huile essentielle réduit significativement l'œdème de la patte de la souris induit par la carragénine à 1%, suite à une comparaison avec le traitement standard (Diclofénac).

En outre, l'évaluation de l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle chez des lapins rendus diabétiques par l'induction de surcharge du D-glucose a montré clairement que l'administration orale provoque une diminution significative de taux du glucose dans le sang.

L'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH a révélé un pouvoir antioxydant faible de l'huile essentielle suite à une comparaison avec les antioxydants de synthèse (BHA, BHT, Vit C), modéré par le test du FRAP et élevé par le test du blanchissement de  $\beta$ -carotène.

En ce qui concerne, le pouvoir antimicrobien de l'HE par la méthode de diffusion en milieu gélosé, les résultats obtenus montrent que l'HE possède un pouvoir antibactérien sur la souche *Bacillus subtilus* (27mm) et *Escherichia coli* (20mm), par contre, il s'est révélé inactif sur *Salmonella sp.*

**Mots clés :** *Salvia officinalis* , huile essentielle , toxicité, activités biologiques , activité antioxydante.



## Abstract

Our work concerns the extraction of essential oils of *Salvia officinalis* L. and study their biological in particular anti-inflammatory drugs, antioxydant activities, hypoglycémiantes, antimicrobial in order to develop its use in traditional medicine.

The extraction of essential oils was subjected by hydrodistillation using a Clevenger, followed by analysis of the chemical composition by GC/MS whose majority compounds are sesquiterpenes.

In addition, a study of the acute toxicity carried out on mice showed that the essential oil of *Salvia officinalis* is relatively considered toxic with high amount.

The study of the antioxydant activity by the test of the DPPH revealed the weak antioxydant capacity of essential oil following a comparison with antioxydants of synthesis (BHA, BHT, Vit C), moderate by the test of the FRAP and raised by the test of the  $\beta$ -carotene whitening.

The anti-inflammatory drug effect raised that essential oil significantly reduced the edema of the leg of the mouse induced by the carragénine to 1%, following a comparison with the standard treatment (Diclofénac).

Moreover, the evaluation of the hypoglycémiant effect of essential oil in returned rabbits diabetics by the induction of overload of D-glucose showed clearly that the oral administration causes a significant reduction in rate of glucose in blood.

With regard to, the antimicrobial capacity of HE by the method of diffusion in gélosé medium, the results obtained show that HE has a capacity antibactérien on the stock *Bacillus subtilus* (27mm) and *Escherichia coli* (20mm), on the other hand, it appeared inactive on *Salmonella sp.*

**Key words:** *Salvia officinalis* , essential oil , toxicity , activities biological , antioxidant activity.



## ملخص

تحاول هذه الدراسة تسليط الضوء على استخراج الزيوت الاساسيه لـ "*Salvia officinalis* L." و دراسته بعض الأنشطة البيولوجية بما فيها المضادة للالتهابات و المضادة لداء السكري والأكسدة وكذلك مضادة الميكروبات لتعزيز استخدامه في الطب التقليدي.

استخراج الزيوت الاساسيه عن طريق الهيدروديستيليا، ابرز اجراء تحليل عن طريق الكروماتوغرافيه للبحث عن العناصر الكيميائيه المتفاوته هي ثلاثي التربين.

من جهة أخرى، كشفت دراسة التسمم الحاد للفئران بأن الزيت الاساسيه لـ "*Salvia officinalis*" سامة نسبيا اذا كانت الكمية عاليه.

كشفت نتائج اختبار الخاصية المضادة للالتهاب أن الزيت الاساسيه ، يخفض بنسبة كبيرة التهاب كف الفأرة الناجم عن حقن الكاراجينين 1% بالمقارنة مع العلاج القياسي (ديكلوفيناك).

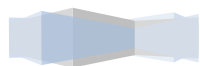
في هذا السياق ، تم تقييم تأثير الزيت الاساسيه للنبته على نسبة السكر في الدم عند الأرانب المصابة عمداً بداء السكري ، و ذلك باستهلاك كميته جد متفاوتة لمادة الجلوكوز. أظهرت النتائج بوضوح أن تناول المستخلص عن طريق الفم تسبب انخفاض لتركيز الجلوكوز في الدم.

و كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار DPPH القدرة المضادة للأكسدة للزيت الاساسيه ضعيفه مقارنة مع المواد الاصطناعية المضادة للأكسدة (BHT، BHA، فيتامين C) ، متوسطه عن طريق اختبار FRAP و مرتفعه فيم يخص اختبار بياض  $\beta$ - carotène .

فيما يخص النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الاساسيه باستخدام أسلوب الانتشار على الجيلوز المغذي ، فقد بينت النتائج أن الزيوت الاساسيه للنبات تتميز بقدرة مضادة للبكتيرية بالخصوص على *Bacillus subtilis* ب 27مم و سلالة المكورات *Escherichia colia* ب 20مم . بالمقابل لم يسجل أي نشاط على المبيضات البيضاء *Salmonella sp*.

**الكلمات الرئيسية :**

*Salvia officinalisa* ، الأنشطة البيولوجية ، الزيوت الاساسيه ، السمية الحادة، النشاط المضاد للاكسده.



A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre de la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**).

Actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plante en tant que soins de santé primaire (**Bérubé, 2006**).

La région méditerranéenne d'une manière générale, et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatique et médicinales. Parmi eux, appartiennent la famille des lamiacées, qui est une famille très importante dans la flore de l'Algérie (**Quezel et Santa, 1963**).

La sauge officinale (*salvia officinalis* L.), appartenant à la famille des labiées, est formée de petits arbustes aux fines feuilles duveteuses, à l'odeur camphrée caractéristique.

C'est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle, cette plante et surtout ses huiles essentielles, sont utilisées par les industries de la parfumerie et de la cosmétologie, par l'industrie alimentaire et enfin par l'industrie pharmaceutique (**Maatoug, 1990**).

Notre travail sera donc répartie en trois chapitres, initié par une recherche bibliographique, suivi avec un deuxième chapitre explique la partie pratique qui présente les méthodes et les techniques utilisées, intéressé par les objectifs suivants :

- Obtention et analyse des caractères physicochimiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, et identification de leurs composés chimiques par la méthode de Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectromètre de masse (CG-MS).
- Etude de la toxicité aigue de l'huile essentielle de la sauge.
- Etudes de quelques activités biologiques de l'huile essentielle, telle que : antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et hypoglycémiantes.



### I.1. La phytothérapie :

Depuis la nuit des temps, les hommes ont su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes, dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique basée sur l'analyse et l'observation s'appelle *la phytothérapie* (**Dellile, 2007**).

*La phytothérapie* du grec *Phuton* et *therapeuiein* est l'art de se soigner par les plantes ; précisément, les plantes médicinales (**Ollier, 2000**). C'est le traitement des pathologies par les plantes médicinales ; celles-ci sont consommées en l'état (tisanes) ou après une simple transformation (poudre, extrait, teinture) (**Rubain et Messalin, 1990**).

Les médicaments utilisés pour le traitement des maladies étaient des produits naturels, dérivés ou non de la matière vivante, le plus souvent des plantes ou des fragments de plantes séchées mais parfois fraîches. Celles-ci peuvent renfermer des substances exerçant une action thérapeutique mais aussi des composés toxiques (**Lullmann et al., 2001**).

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. A l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Iserin, 2001**).

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies (**Roulier, 1992**).

### I.2. Les plantes médicinales :

On appelle plante médicinale, un végétal dont un (ou plusieurs) organe possède des activités pharmacologiques de nature à permettre son emploi en thérapeutique (**Boullard, 2001**).

l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques de la plante que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux (**Fouché et al., 2000**).

Dans les plantes médicinales, on trouve les plantes aromatiques qui sont constituées par des organes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante ou d'un organe particulier (**Teuscher et al., 2005**).



Des plantes médicinales ont été employées pendant les siècles comme remède pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutiques. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de sante et de développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles, a amené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (**Nostro et al., 2000**), et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes (**Schnaubelt, 1998**).

D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti et al, 2005**). Elles ont constitué la source majeure des médicaments grâce à la richesse de se qu'on appelle le métabolite secondaire (**Fouché et al., 2000**).

Les plantes avec leur nombre illimité, constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (**Teuscher et al, 2005**).

### **I.3. Etude de la plante**

#### **I.3.1. Description de la famille des lamiacées :**

La famille des Lamiaceae comprend 187 genres et 3000 espèces. Elle est la plus homogène de la sous classe des Gamopétales, la plupart des Genres sont riches en huiles essentielles (**Atlan, 1987**). L'ancien nom des Lamiaceae : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (**Figueredo, 2007**).

La famille des lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal. C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique ; C'est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant, antibactérien, antifongique, et anti-inflammatoire (**Hilen, 2006**). Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés pharmacologiques. De nombreuses propriétés sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...les huiles essentielles par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (**Bakali, 2008**).





Il s'agit d'une des principales familles, avec 258 genres et 6900 espèces plus en moins cosmopolites, mais particulièrement répandus depuis le bassin méditerranée jusqu'en Asie centrale. Les principales genres sont *Salvia*, avec 800 espèces ; *Clerodendrum*, avec 400 espèces ; *Scutellaria*, avec 400 espèces ; *Stachys*, avec 300 espèces ; *Nepeta* avec, 250 espèces, *Vitex* avec, 250 espèces ; *Tencrium*, avec 200 espèces ; *Premna* avec, 200 espèces ; *Callicarpa* avec, 140 espèces... ; *Lamium* avec 40 espèces (**Botineau, 2010**).

D'après **Quezel et Santa, (1963)**, les lamiaceae sont des arbustes, sous-arbrisseaux ou plantes herbacées, en général odorants, à tiges quadrangulaires, des feuilles en général opposées sans stipules, fleurs en général hermaphrodites et avec des fruits constitués par 4 akènes plus en moins soudés par leur face interne et diversement ornés.

### I.3.2. Historique sur la sauge :

La sauge est une labiée et, par là même, possède toutes les vertus que l'on reconnaît à cette famille. Un vieux proverbe disait : « celui qui veut vivre à jamais doit manger la sauge en mai. » (**Messegué, 1975**).

Dans la Rome antique, on la considérait comme sacrée et donc capable de sauver et donner la vie. Les femmes qui n'arrivent pas à être enceintes devaient boire des infusions de sauge pour pouvoir espérer une grossesse (**Bartels, 1998**).

Les médecins grecs et romains, connaissaient déjà les effets hémostatiques, diurétiques et carminatifs des feuilles de la sauge. Elles sont antibactériennes, antispasmodiques et réduisent la transpiration (**Molfgang, 2008**).

La sauge est utilisée depuis l'antiquité, elle possède des propriétés : stimulantes, tonique, digestive, fébrifuge, et vulnéraire c'est donc un remède à haut degrés (**Beloued, 2005**).

Dans l'antique Egypte, on faisait boire le jus de sauge aux femmes pour les rendre fertiles, et cet usage est maintenu à Rome où l'on affirmait que la sauge « retenait ce qui avait été conçu et le vivifiait » (**Sijelmassi, 2008**).

Les andalous la nomment *essalma* d'après Ibn-el-baytar qui ajoute qu'elle est appelée *salbia* par les botanistes d'Espagne (**Baba-aissa, 2011**).



### I.3.3. Présentation de la plante :

#### I.3.3.1. Description botanique de la plante :

La sauge est une plante à racines ramifiées, à tige quadrangulaire dressée, blanche, tomenteuse, peut atteindre de 20 à 60 cm de haut (**Dellile, 2007**) [fig 01]; vivace, buissonnante et herbacée ; certaines deviennent ligneuse en climat doux (**Graham, 2007**).

La sauge a une odeur forte, aromatique, balsamique (**Mahmoudi, 2003**), avec une saveur chaude, aromatique, légèrement amère et brûlante et astringente (**Eberhard et al., 2005**).

**La tige** : est ligneuse, légèrement velue, quadrangulaire dressées et très ramifiées, blanches, tomenteuses. (**Beloued, 1998**) [Fig 04].

**Feuilles** : persistantes, opposées, ridées, de forme ovale (**Djerroumi et Nacef, 2004**) elliptiques, verts blanchâtres, finement crênelés (**Baba-aissa, 2011**) avec une face supérieure grise verte est finement granuleuse et une face inférieure blanche, pubescente et présente un réseau dense de petites nervures (**Moyse, 1976**) [Fig 02, Fig 03].

**Fleurs** : en verticilles 5 – 10 fleurs à pédoncule court, calice campanulé, bilabié ; pubescent ; ponctué glanduleux souvent teinté de rouge ; corolle 2 – 3.5 cm de long ; violet clair rarement blanches ; lèvre supérieure presque droite ; lèvre inférieure trilobées (**Bartels, 2008**) [Fig 04].

**Fruits** : est un tetrakène ovale, sphérique avec un diamètre du 3mm (**Bartels, 1998**), de couleur brun foncé chaque akène est de forme globuleuse (**Eberhard et al., 2005**).

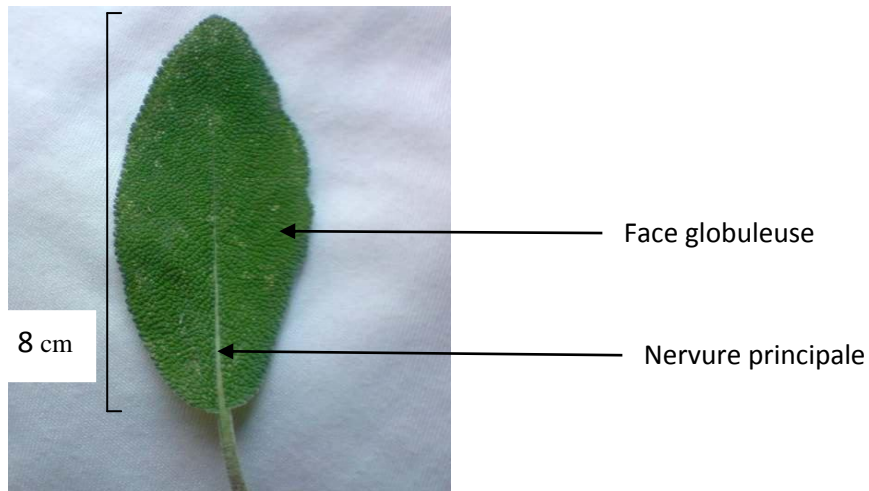




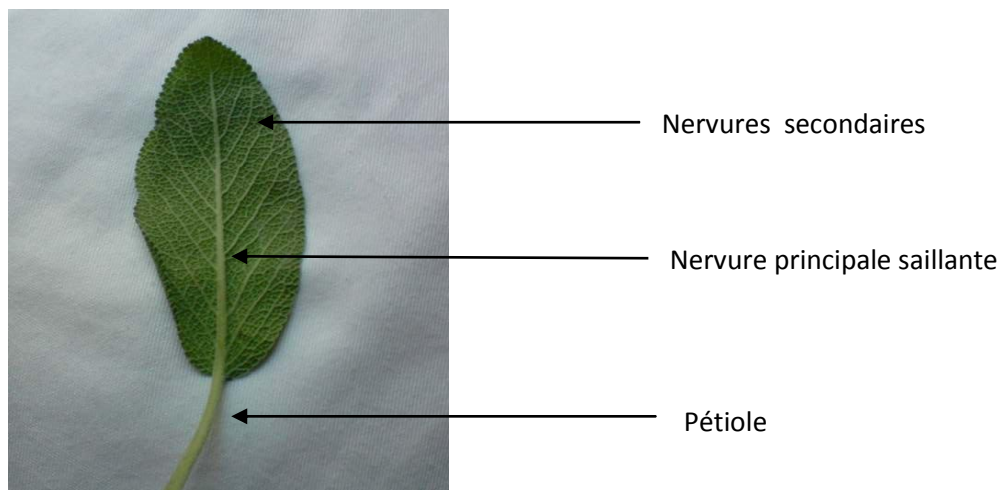
**Figure01** : structure morphologique de (*Salvia officinalis* L.)

(Original, 2013).





**Figure 02** : Structure de la feuille (face supérieure) (Original, 2013)



**Figure 03** : Structure de la feuille (face inférieure) (Original, 2013)



**Figure04** : Structure de la fleur de *Salvia officinalis* (original, 2013).



### I.3.3.2. Systématique et classification :

Cette espèce polymorphe se subdivise en plusieurs sous- espèces, mais la taxonomie moderne les considère comme des espèces à part entière, on comptabilise plus de 600 espèces différentes de *Salvia* (Eberhard et al., 2005).

D'après Quezel et Santa, (1963) et Eberhard et al., (2005) la sauge est sous le classement suivant :

Règne : Plantae  
Embranchement : Spermaphyte  
Sous embranchement : Angiosperme  
Classe : Dicotylédone  
Sous classe : Gamopétales  
Ordre : Labiales  
Famille : Lamiaceae  
Genre : *Salvia*  
Espèce : *salvia officinalis* L.

### I.3.3.3. Etymologie :

L'étymologie de *Salvia* tirée du verbe latin *salvare*, qui veut dire sauver (Yves rocher, 1976).

Nom arabe : siwak ennabi ; salema (Kaddem, 1990) ; mofaça, kheyet ledjreh, naama, houbiget el-sedr (Dellile, 2007).

Nom Tergui ou Berbère : Agourrim imeksaouen ; Tazzourt (Beloued, 2005).

Nom français (français): grande sauge, sauge officinale, sauge commune, herbe sacré, thé de France, thé de Grèce, thé d'Europe (Eberhard et al., 2005).

### I.3.4. Répartition géographique de la plante :

➤ Dans le monde :

Elle pousse principalement dans les pays relativement chauds. Elle est très abondante en Grèce, Yougoslavie, Italie, et en France (Messegué, 1975).



D'après (**Bartels, 1998**), elle est répartie dans le Nord et Centre d' Espagne, le Sud de la France, l'Ouest des Balkans, en outre, naturalisée au sud et Centre de l'Europe ainsi qu'au proche- orient.

Cette plante est très présente dans tout le bassin méditerranéen (**Laurent, 2007**).

➤ En Algérie:

C'est une plante cultivée un peu partout (**Beloued, 2005**), et à l'ouest du pays (**Nacef et djerroumi, 2004**) précisément sur les terrains secs (**Dellile, 2007**).

### I.3.5. Exigences édaphiques de la plante :

La sauge affectionne les sols légers, calcaires, secs et bien drainés, garrigues et pâturage rocheux. (**Laurent, 2007**). Elle aime le soleil, a une belle longévité, la florescence doit être pendant l'été et l'automne dans les jardins de climat froid et doux (**Graham, 2007**).

### I.3.6. La récolte :

Prélever les plus jeunes rejets ainsi que les feuilles et les fleurs avant leur épanouissement. Le tout est séché à l'ombre et conservé dans des sacs en papier, la récolte peut faire deux fois par an (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

La récolte doit se faire au soleil par une journée sèche, de préférence vers midi, car c'est à ce moment que la plante développe un maximum d'huiles essentielles (**Trében, 1985**).

### I.3.7. Propriétés thérapeutiques de la sauge :

Les feuilles de la sauge sont indiquées en gargarisme pour ses vertus anti- inflammatoire ; désinfectantes et astringentes (**Bartels, 1998**).

L'essence de la sauge pure peut être très toxique à haute dose (**Molfgang, 2008**), à cause de sa teneur en thuyone (**Bartels, 1998**) elle est à éviter chez les sujets épileptiques (**Baba- aissa, 2011**). C'est un fort antibactérien (**Molfgang, 2008**), anti-inflammatoire, antispasmodique, diurétique ou expectorant et stimule aussi la circulation sanguine (**Hans et Kothe, 2007**).

Les vertus de cette plante trouvent une application très intéressante en pratique gynécologique, où elle montre une réelle efficacité pour régulariser le flux menstruel, en calmer les réactions douloureuses, combattre les troubles qui provoquent la ménopause



(**Lieutaghi, 1978**). Elle a un bon effet régulateur de l'œstrogène chez la femme (**Baba-aissa, 2011**).

La sauge est appréciée en gargarismes lors de catarrhes de la bouche et de la gorge et comme aditif aux dentifrices et aux bains de bouche. (**Molfgang, 2008**).

C'est une plante aux nombreuses propriétés médicinales. Elle est signalée comme : antisudorale, antispasmodique, sédative (nerveux), carminative, stomachique, cholérétique ; hypoglycémiant et tonique (**Kaddem, 1990**).

La tisane de sauge est efficace pour faciliter la digestion, relever les forces de l'estomac et de l'intestin, calme les vomissements spasmodiques, elle active les fonctions circulatoires et cutanées. On l'emploie avantageusement contre la diarrhée, les ballonnements et la transpiration nocturne (**Beloued, 2005**).

La sauge est surtout un stimulant conseillé aux anémiques, aux convalescents, elle est aussi antiseptique et diurétique (**Nacef et Djerroumi, 2004**).

### **I.3.8. Indications et usages :**

#### **Usages internes**

**Infusion** : 20g de fleurs et de feuilles pour un litre d'eau. Laisser infuser pendant 10 min, boire trois tasses par jours pour les règles irrégulières, la ménopause et la stérilité (**Dellile, 2007**),

Infusion d'une demi-poignée de mélange feuille - fleurs dans un litre d'eau, est très efficace pour (insomnies, angoisses, sueurs nocturnes) prendre une tasse avant de coucher, et pour faciliter la digestion, prendre une tasse après les repas (**Nacef et Djerroumi, 2004**).

**Essences** : 2 à 4 gouttes trois fois par jour sur un morceau de sucre (**Dellile, 2007**).

#### **Usages externes**

**Gargarisme** : faire des bords de bouches avec une infusion de 50g de sauge pour un litre d'eau bouillante, infusé pendant 10 min contre les gingivites (**Sijelmassi, 2008**).

Pour soigner les maux de gorge faire un gargarisme avec une infusion de sauge tiède additionnée de 5 ml de vinaigre et de 1 cuillère à café de miel (**Iserin, 2001**).



**I.3.9. Composition chimique de la plante :**

La sauge renferme des huiles essentielles (thuyone, salviol, pinène, bornéol, cinéol, mycène, cimène, caryophyllène, humulène, camphre,...), tanins, principes amers, flavonoïdes, acide phénolique, saponine, substance œstrogène,... (**Baba-aissa, 2011**), contient aussi du résine, de gommés, du mucilage, des acides phosphoriques, oxalique, des nitrates, de pentosanes, des traces d'asparagine (**Beloued, 2005**).

Le **tableau I** regroupe la composition générale de l'huile essentielle de sauge officinale (**Hubert, 2005**).

**Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle de la plante**

hydrocarbures terpéniques			cétones	
myrcène		0,3 à 3 %	camphre	4,1 à 27,7 %
limonène		trace à 7,6 %	$\alpha$ -thuyone	1,5 à 44,2 %
humulène		Trace à 18,9%	$\beta$ -thuyone	1 à 36,7 %
$\alpha$ -pinène		1,7 à 13,1 %	<b>Ester</b>	
$\beta$ -pinène		0,5 à 17,9 %	acetate de bornyl	0,1 à 3,5 %
camphène		1,1 à 10,3 %	<b>autres</b>	
$\beta$ -caryophyllène		trace à 9.4%	1,8 - cinéole	0,7 à 20,8 %
p- cymène		Trace à 1.1%	<b>alcools</b>	
			linalol	trace à 1,8 %
			bornéol	0,7 à 6,2 %
			viridiflorol	0 à 9,9 %





#### **I.4. Les huiles essentielles :**

##### **I.4.1. Définition:**

Les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci se stockent dans les poches au niveau de certains organes (**Peyron et Naves, 1977**).

Les HE ont une composition assez complexe (**Azevedo et al., 2001**). On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Casentino et al., 1999**).

##### **I.4.2. Origine et lieu de sécrétion:**

On trouve l'origine des H.E. au niveau du cytoplasme de certaines cellules végétales. Ces cellules sécrétrices peuvent se trouver dans tous les organes de la plante, tel que les poils sécréteurs ou les cellules à essence (**Sallé, 1991**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se fait dans des structures histologiques sécrétrices spécialisées, souvent localisées à proximité de la surface de la plante ou dans les tissus végétaux (**Bruneton, 1999**).

Les huiles essentielles existant dans les plantes aromatiques sont responsables des différents senteurs qu'elles dégagent, se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : dans les feuilles (sauge), dans les fleurs (rose), dans le fruit (citron), dans les graines (coriandre), dans l'écorce (cannelle) et, pour certaines plantes, c'est dans les racines (ail) (**Jacques et Paltz, 1997**).

Pour avoir un maximum d'H.E. dans une plante, il est indispensable de cueillir la plante avant la floraison. C'est à ce moment que la plante donne son maximum d'H.E., Après la floraison, les H.E. s'évaporent dans l'air, en effet, les plantes perdent 70% de leur huile essentielle après la floraison (**Sallé, 1991**).

##### **I.4.3. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles :**

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire (**Jacques et Paltz, 1997**) mais il en existe de colorées :

- En rougeâtre pour l'essence de cannelle



- En vert pour l'essence d'absinthe
- En bleu pour l'essence de camomille

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, les huiles fixes. Elles sont insolubles dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leurs odeurs. La quantité d'huile essentielle que l'on peut retirer d'une plante est extrêmement faible (Le rendement peut varier de 1 à 10) (Sallé, 1991).

#### I.4.4. Bioactivité de quelques principes des HE :

Les effets et les réponses biologiques des extraits naturels sont en rapport directe avec les composés bioactifs des plantes, tels que :

- Acétate de bornyl : antibactérien, antispasmodique, antivirale, expectorant, sédatif (Teixeira, 2004).
- Camphre : allélopathique, analgésique, antioxydant, fongicide, préventif (Teixeira, 2004)
- $\alpha$ - thuyone : antibactérienne, larvicide, insecticide (Svoboda et Hampson, 1999).
- 1-8 cinéol : antimicrobienne (Svoboda et Hampson, 1999).

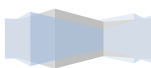
#### I.4.5. Les méthodes d'extraction :

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'une matière végétale selon diverses techniques : La distillation, L'expression, l'enfleurage, l'extraction et l'incision (Sallé, 1991).

##### I.4.5.1. Distillation :

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement.

La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante (Bekhechi et Abdelwahid, 2010). Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : hydrodistillation, hydrodiffusion et entraînement à la vapeur d'eau. (Silou et al., 2004).



➤ **Hydrodistillation :**

Cette méthode hydrodistillation (water hydrodistillation), il s'agit la méthode la plus simple et la anciennement utilisée, consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

➤ **Entraînement à la vapeur d'eau :**

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond d l'alambic (**Bekhechi et Abdelwahid, 2010**). La vapeur endommage la structure des cellules végétales, et aussi les molécules volatiles qui sont entraînées ensuite dans le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : la matière végétale ne beigne pas directement dans l'eau bouillante (**Fronchomme et Péroel, 1990**).



La première partie expérimentale, débute par une extraction de l'HE et étude de l'activité antioxydante réalisés au niveau du laboratoire de chimie analytique à l'Ecole Normale Supérieure des enseignants « ENS » du KOUBA. Et une deuxième partie consiste en une étude physico-chimique de l'HE et quelques activités biologiques réalisées au niveau des laboratoires, de physicochimie, de pharmacotoxicologie et de microbiologie du groupe pharmaceutique SAIDAL de MEDEA.

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG/SM) ont été réalisées au niveau du laboratoire de la police scientifique d'Alger. Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 4 mois (mars- juin 2013).

## **II.1. Matériel :**

### **II.1.1. Matériel biologique :**

#### **II.1.1.1. Matériel végétal :**

Les parties aériennes de la plante (feuilles et tiges) ont été récoltées en période de floraison au cours du mois d'Avril dans un jardin familiale (les oliviers- zone montagneuse) de BLIDA.

L'identification de l'espèce a été faite au sein du parc de Chréa et au Jardin d'essai.

La plante a été récoltée à midi, lors d'une journée ensoleillée, avant la floraison selon les conditions favorables de cueillette établies par **Bartels, (1998)**.

#### **II.1.1.2. Matériel animal :**

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé des animaux de laboratoire qui ont été élevés au niveau du laboratoire de pharmacotoxicologie, unité animalerie du complexe antibiotical- saidal de MEDEA :

- Les lapins : 10 lapins de races albinos croisés entre le Néozélandais et le Californien, de sexe mélangé (mâles et femelles). Les lapins sont adaptés aux conditions répondant aux normes de stabulation ; pesant chacun  $3 \text{ kg} \pm 200\text{g}$ , ils sont utilisés pour l'activité hypoglycémiant de la sauge.
- Les souris : 40 souris de souche albinos (NMRI) de poids moyen  $20\text{g} \pm 3$ , pour l'étude de l'effet anti-inflammatoire et la toxicité aigue.

Les animaux (Lapins et souris) sont hébergés dans des cages solides en plastique. Ils disposent d'eau du robinet *ad libitum* et d'une alimentation granulée « O.N.A.B » (49.80% de



glucides, 23.5% de protéines, 5% de lipides et 5.7 % de complexe minéral vitaminé) fourni par antibiotal- Saidal de MEDEA.

Les animaux (Lapins et souris) sont acclimatés aux conditions de l'animalerie suivantes :

- ▲ Une température moyenne variante entre 20°C à 24° C.
- ▲ Une photopériode de 10 heures.
- ▲ Une humidité relative de 50%.

### II.1.1.3. Micro-organismes :

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de sauge nous avons utilisé différentes souches (**Tableau II**) :

Souches de référence : laboratoire de microbiologie de SAIDAL (Antibiotal MEDEA).

Souches isolées : laboratoire d'hygiène Mhamed Yazid, BLIDA.

**Tableau II** : Liste des micro-organismes utilisés.

Micro-organisme	Gram	Micro-organisme	Gram
<i>Escherichia coli</i> ATTC 10536	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538/P	+	<i>Sarcina lutea</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATTC	+	<i>Salmonella sp</i>	-
<i>Bacillus subtilus</i> ATTC 6633	+	<i>shigella flexineri</i>	-
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	Levure		

+ : positif

- : négatif

### II.1.2. Matériel non biologique :

Le matériel utilisé au laboratoire (l'appareillage, la verrerie et les réactifs) est énuméré en

**Annexe I**



## II.2. Méthodes expérimentales :

### II.2.1. Traitements préliminaires des parties utilisées :

- **Récolte** : nous avons cueillies 3.5 kg de feuilles et tiges (la partie aérienne).
- **Séchage** : les feuilles sont mises aux conditions de séchages à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante pendant 2 semaines afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.
- **Broyage** : les feuilles sont d'abord broyées finement dans un moulin électrique, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine verdâtre.
- **Pesage** : la poudre de feuilles a été pesée à l'aide d'une balance de précision [Fig 05,Annexe I ].

### II.2.2. Détermination de la teneur en eau :

Une prise d'essai de 5g de matière végétale fraîche, est mise à sécher dans l'étuve à 105°C pendant 2 heures. La teneur en eau est calculée suivant la formule ci-dessous :

$$T\% = [(M_I - M_F) / M_I] \times 100 \quad (\text{Simpson et al.,1999}) \text{ et } (\text{Twidwell et al.,2002})$$

T% : la teneur en eau en pourcentage.

M<sub>I</sub>: la masse initiale de la plante fraîche.

M<sub>F</sub>: la masse finale après séchage.

### II.2.3. Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par hydrodistillation :

L'extraction de l'huile essentielle a été faite par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un clevenger.

Le dispositif comprend essentiellement : [Fig. 06]

- Un ballon de 2 litres.
- une ampoule à décanter.
- un alambic.



Mode opératoire :

Dans un ballon de 2 litres, mettre 100g de poudre sèche dans 1250 ml d'eau distillée, puis ajouter les pierres ponce (pour garder l'homogénéité de la température), laisser extraire pendant 3 heures. La quantité d'huile essentielle pesée est de 1.02g. [Fig. 07]

➤ **Le rendement en huile essentielle :**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R\% = M_{HE} / M_{MV} * 100 \quad (\text{Fellah et al.,2006})$$

R% = rendement en huile essentielle.

$M_{HE}$  = masse de l'huile essentielle extraite.

$M_{MV}$  = mase de la matière végétale utilisée.



**Figure 06 :** Extraction de l'huile essentielle  
(Original, 2013)



**Figure 07 :** Echantillon de l'HE de sauge  
(Original, 2013)



### II.2.4. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire de physico-chimie du groupe SAIDAL, Antibiotical MEDEA

#### II.2. 4. 1. Indices physiques

➤ **La densité relative ( $D_{20}^{20}$ ) :**

La densité relative ( $D_{20}^{20}$ ) d'une solution constitue un indice de pureté ou de teneur.

Selon la norme AFNOR (NEF 75-111), la densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un certain volume égale d'eau distillée à 20°C. La formule est :

$$D_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

$M_1$ =masse en gramme d'eau distillée

$M_2$ =masse en gramme d'huile essentielle

➤ **Indice de réfraction**

L'huile essentielle polarise la lumière à droite et à gauche. Selon la norme AFNOR l'indice de réfraction est le rapport entre le sinus d'angle d'indice, et celui du rayon lumineux de longueur d'onde déterminée.

#### Mode opératoire

Le produit est placé à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait signalé.

Refermer le couvercle, au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C) [Fig 08, Annexe I], puis lire le résultat. (Pharmacopée Européenne, 2001).

➤ **Pouvoir rotatoire  $\alpha_D^t$**

Le pouvoir rotatoire est la propriété que présente certaines substances de dévier la lumière polarisée. L'angle de rotation optique d'un liquide et l'angle de rotation ( $\alpha$ ) exprimé en degré (°c) du plan de polarisation à la longueur d'onde de la raie D du sodium (avec  $\lambda = 589.3$  nm) mesurée à 20°C, sous une épaisseur de 1 décimètre (Pharmacopée Européenne, 2007).





Mode opératoire :

Amener l'échantillon à une température spécifique et introduire dans le tube en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée.

Placer le tube dans le polarimètre et lire l'angle de rotation dextrogyre (+) ou lévogyre (-) de l'échantillon sur l'échelle de l'appareil.

Le pouvoir rotatoire est calculé selon la formule suivante :

$$\alpha_d^{20} = 100 \times (A / L)$$

Avec : A : rotation en degré (°)

L : longueur de la cellule, en décimètre (L=0,1).

**II.2.4.2. Indices chimiques****➤ Indice d'acide (I<sub>A</sub>)****Principe**

L'indice (I<sub>A</sub>) est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présent dans un gramme de substance.

Mode opératoire

Dissoudre 10g de substance à analyser dans 50ml de mélange égaux d'alcool et d'éther. Le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1 M, en présence de 0.5 ml d'une solution de phénolphaléine. Après dissolution titrez par l'hydroxyde de potassium 0.1M. Le titrage est terminé par l'obtention d'une couleur rose qui persiste pendant au moins 15 secondes (**Pharmacopée Européenne, 2001**).

$$I_A = 5,61 \times n / m$$

**n** : Volume de KOH 0.1M consommé.

**m** : Masse de la substance a examiner.

**5.61** : constant.



➤ **Miscibilité à l'éthanol :**

Une huile est dite soluble dans n volumes ou plus d'alcool d'un titre donné, si la solution limpide dans n volumes demeure limpide, comparée à l'huile essentielle non diluée, après addition progressive de nouvelles quantités d'alcool de même titre jusqu'à concurrence de 20 volumes d'alcool (avec une température de 20°C) (**Pharmacopée Européenne, 2006**).

➤ **Indice de peroxyde :**

L'indice de peroxyde est le nombre qui exprime en milléquivalents d'oxygène actif la quantité de peroxyde contenu dans 1000 g de substance déterminé par la méthode prescrite ci dessous : Dans une fiole conique de 250 ml à bouchon rodé, introduire 5g de la substance, ajouter 30ml d'un mélange de 3 volumes d'acide acétique glaciale et 2 volumes de chloroforme (**Pharmacopée Européenne, 2001**).

➤ **Indice de saponification**

Dans une fiole de 250ml de verre borosilicate et d'un réfrigérant à reflux, introduire la prise d'essai. Ajouter 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5 N et quelques billes de verre. Adapter le réfrigérant et chauffer à reflux pendant 30minutes sauf indication contraire.

Ajouter 1ml de solution de phénolphtaléine et titrer immédiatement par l'acide chloroformique 0.5N, ( $v_1$ ml d'acide chlorhydrique 0.5N).

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions ( $v_2$  ml d'acide chlorhydrique 0.5N)

$$I_S = \frac{28.05(v_2 - v_1)}{p(\text{eng})}$$

(**Pharmacopée Européenne, 2001**).

**I<sub>S</sub>** : Indice de saponification.

**V<sub>1</sub>** : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour l'essai à blanc.

**V<sub>2</sub>** : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour la détermination de l'indice.

**P** : Masse en gramme de la prise d'essai.



➤ **Indice d'ester**

L'indice d'ester est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présente dans 1 g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification ( $I_s$ ) et de l'indice d'acide ( $I_A$ ) (**Pharmacopée européenne, 2001**).

$$I_E = I_s - I_A$$

➤ **Karl –Fischer**

Karl Fischer est une méthode chimique de mesure de la teneur en eau d'un échantillon par titrage.

Elle est particulièrement adaptée au dosage de l'eau que contient un liquide, ou à la détection de traces d'eau.

Mode opératoire :

Ce mode opératoire est préconisé par la **Pharmacopée Européenne, (2001)**

- Brancher le titrimètre automatique Karl-Fischer.
  - Remplir le cylindre de la burette et noter la position du robinet c'est-à-dire tourner le levier vers la droite et choisir la vitesse  $dv/dt$  entre 3 et 5.
  - Remplir la burette de gauche de méthanol+la solution auxiliaire.
  - Introduire le mélange dans le récipient de titrage.
  - Titrer (neutraliser) avec une temporisation de l'arrêt de 20 secondes.
  - Introduire l'échantillon.
  - Régler la vitesse de l'agitation.
  - Enfoncer brièvement le bouton « départ ».
- \*la lampe « arrêt » s'éteint, le titrage se déroule automatiquement.
- \*la lampe « arrêt » s'allume lorsque le point final est éteint.
- Le titrage est terminé.



- Relever la consommation ou réactif et calculer les résultats à partir du titre et de la pesée.
- Eteindre l'agitateur.
- Remplir les deux burettes (méthanol et réactif KF)

➤ **Le pH :**

La concentration en ion  $\text{H}_3\text{O}^+$  dans la solution est appelée puissance hydrogène ou pH, selon la relation :

$$\text{pH} = -\log (\text{concentration } \text{H}_3\text{O}^+). \text{ (Pharmacopée Européenne, 2008).}$$

Mode opératoire :

- La mesure du pH se fait par lecture directe au pH mètre du type METROHM [Fig.09, Annexe I].
- Prendre 5 ml d'échantillon (HE).
- Etalonner le pH mètre avant son utilisation à l'aide d'une solution tampon (au moins solution acide et neutre).
- Mesurer le pH de la préparation
- Lire directement la valeur au pH mètre
- Effectuer deux examens pour le même échantillon

### **II.2.5. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG- MS:**

#### **Principe**

C'est une méthode d'analyse par un Chromatographe en phase gazeuse couplée au Spectrométrie de masse, GC/SM, Perkin Elmer de marque CLARUS 500 ,qui consiste en la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires, elle donne des informations sur la nature, la composition et la structure des espèces présentes dans l'échantillon analysé et très utile pour les analyses de traces.

Conditions opératoires :

Mode d'ionisation : EI.

Délai de solvant : 5.9mn

Balayage de scan entre  $m/z$  (25-500).



Passeur d'échantillon : Automatique.

Température d'injection : 250 °C

Quantité d'injection : 3µl

Programmation de température : Température initiale 100 °c (1mn)

Température finale : 290 °c (20mn)

Augmentation : 8 °C /mn

### **II.2.6. screening phytochimiques :**

Le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaire.

Les tests sont réalisés soit sur la poudre, soit sur un infusé préparé avec 50 ml d'eau distillée bouillante sur 2g de poudre (**Bouquet, 1971**) et (**Moyse, 1976**).

- Les glucosides :

Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont ajoutées à 2g de poudre.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence des glucosides.

- Les tanins :

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'infusé, on ajoute 5ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl<sub>3</sub> à 3%.En présence des tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- Les flavonoïdes :

Introduire dans une fiole 5 ml d'infusée, 5ml d'HCL, un copeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique.L'ensemble est agité pendant quelques minutes.

La réaction donne une coloration rouge orangé en présence de flavonoïdes.

- Leuco anthocyanes :

2g de poudre sont portés au bain marie bouillant pendant quelque minutes dans 20ml d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique (1/1).

Une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes.

- Mucilage :

A 1ml d'infusé, on ajoute 5ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipite floconneux après agitation indique la présence des leuco anthocyanes.



- Les saponosides :

A 2ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'une solution saturée d'acétate de plomb.

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

- Les alcaloïdes :

Faire macérer dans une bouteille en verre (Duran SCHOTT) 5g de poudre avec de l'ammoniaque 1/2 pendant 24h dans 50ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le mélange obtenu est filtré. Ainsi, le filtrat est épuisé par 2ml d'acide chlorhydrique 2N.

Après injection de quelques gouttes du réactif de DRAGENDORFF, la présence d'alcaloïdes se manifeste par le développement d'un trouble ou d'un précipité dans la bouteille.

- L'amidon :

A 2g de poudre végétale on ajoute quelques gouttes d'Iode (I<sub>2</sub>). Une coloration bleue violette est obtenue en présence de l'amidon.

- Les terpènes :

Prendre 5ml d'extrait de 10%, mélanger avec 5ml d'acide phosphomolybdique et 5ml d'acide sulfurique concentré H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96%) (**Gherib, 1988**).

### **II.3. Etude de la toxicité aiguë d'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur le système nerveux chez les souris :**

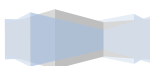
#### **Principe :**

Sur le plan expérimental, la DL<sub>50</sub> est un paramètre toxicologique qui caractérise la toxicité aiguë, c'est la dose létale qui entraîne la mort de 50% des animaux (souris) à l'administration de la substance.

La détermination de cette valeur est inspirée de la méthode de (**Bahrens et Karber, 2005**) qui consiste à administrer, dose unique, à un nombre d'animaux (souris) constant répartis au moins en 5 lots à des doses croissantes et en progression géométrique, la substance à tester de façon à avoir un pourcentage de mortalité variant entre 0 et 100%.

#### Mode opératoire :

L'observation des effets toxiques sur les souris ainsi que le nombre de mortalité, se fait pendant 24 heures et au bout de deux semaines qui suivent l'administration (**Miller et Tainter, 1944**).



L'étude toxicologique débute en testant la concentration maximale de l'huile essentielle qui peut engendrer une mortalité, et ce en essayant différentes doses d'huile essentielle de *salvia officinalis*.

Diluer l'huile essentielle dans l'huile de maïs afin d'obtenir différentes doses (10, 20, 30 et 40%). L'administration a été effectuée par gavage.

Nous avons utilisé 4 lots de 4 souris chacun. Les souris sont de même sexe et ont un poids de 20g. Les doses utilisées sont des dilutions décroissantes jusqu'à la valeur qui ne donne aucune mortalité.

Nous avons suivi le taux de mortalité au bout de 14 jours.

La  $DL_{50}$  est calculé d'après Bahrens et karber cité par (Meyer et al., 2004) selon la formule suivante :

$$DL_{50} = DL_{100} - \sum ab/n$$

(Meyer et al., 2004)

Où:

a : Différence entre deux doses successives.

b : Moyenne de morts successives.

n : Nombre moyen des animaux par lot.

$DL_{50} < 5\text{mg/kg}$  : Produit hautement toxique.

$DL_{50} < 5000\text{mg/kg}$  : Produit faiblement toxique.

## II.4. Etude des activités biologiques :

### II.4.1. Etude de l'activité antioxydante :

#### But et principe :

Le but de cette étude est de déterminer le pouvoir antioxydant d'huile essentielle de *Salvia officinalis*.



Le principe repose sur la capacité d'huile essentielle à réduire les différents types de radicaux libres. Pour cela nous avons réalisé trois tests selon la nature des radicaux libres.

- **Préparation de la solution mère et les dilutions de l'huile essentielle :**

Mode opératoire :

Comme première étape, 12mg d'huile essentielle sont solubilisés dans 3 ml d'éthanol absolu pour avoir une solution mère de concentration égale à 4 mg/ml.

Les solutions filles choisies sont les suivantes :

0.04mg/ml, 0.1mg/ml, 0.16mg/ml, 0.2mg/ml à différentes concentrations mesurées:

20 µl ; 50 µl ; 80 µl ; 100 µl

- **Réduction du DPPH par les substances anti radicalaires:**

**Principe :**

Le principe se résume en la réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil par les substances anti radicalaires. Le DPPH est un radical libre stable qui possède une coloration violette foncée, une fois réduit, il devient jaune pale. Cette dernière est due aux molécules responsables du pouvoir antioxydant présentes dans l'huile essentielle. (**Brand et al., 1995**)

Le pouvoir antioxydant sera comparé par la suite avec des antioxydants de synthèse à savoir le butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA) et acide ascorbique (Vit C). Tous les tests ont été réalisés avec 2 répétitions pour chaque concentration.

Cette capacité de céder les hydrogènes est mise en évidence par une méthode spectrométrique en suivant la disparition de la couleur violette de la solution contenant le DPPH.

Mode opératoire :

La solution mère de l'huile essentielle a été préparée en choisissant différentes concentrations (20, 50, 80, 100µl), où chacune des dilutions est mélangée avec 1ml de l'éthanol et 1 ml de la solution de DPPH.

Après une période d'incubation de 30min à température du laboratoire et à l'obscurité ainsi qu'à l'abri de l'O<sub>2</sub> atmosphérique. La lecture a été effectuée en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS à longueur d'onde de 517nm. [**Fig 11, Annexe I**]





En parallèle, des solutions éthanoliques d'antioxydants de synthèse (BHT, BHA) et l'acide ascorbique ont été préparées.

**Calcul :**

L'activité antioxydante qui exprime les capacités de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans l'éthanol. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\% \text{ DPPH} = \frac{\text{Abs T} - \text{Abso E}}{\text{Abs T}} \times 100$$

(Wang *et al.*, 2002)

Où :

**DPPH :** Pourcentage du DPPH piégé ou taux d'inhibitions.

**Abs T :** Absorbance du témoin (solution de DPPH –blanc) en (nm).

**Abs E :** Absorbance de l'échantillon.

- **Le test antioxydant par  $\beta$ - carotène :**

**But et principe :**

Le but est de protéger la dégradation de l'acide linoléique ; plus l'absorbance est élevée, plus la plante est oxydée (**Jayaprakasha *et al.*, 2001**)

L'activité antioxydante de l'huile essentielle a également été évaluée en mesurant l'inhibition de l'activité enzymatique résultant de l'oxydation de l'acide linoléique.

**Mode opératoire :**

Remplir les solutions diluées (filles) préparées avec différentes concentrations (10, 20, 50, 100  $\mu$ l) remplir jusqu'à 2ml d'éthanol.

Dans des tubes à essai, nous avons prélevé 350  $\mu$ l de chaque dilution, ajusté avec 2.5ml de solution  $\beta$ - carotène, mélangé et passer dans le spectromètre UV- VIS à longueur d'onde de 490nm.



On incube les échantillons dans un bain marie pendant 2 heures à 50°C, puis on mesure une autre fois sous le spectromètre UV-VIS dans la même longueur.

En parallèle, on a préparé les antioxydants éthaloniques de synthèse tels que la BHA, BHT, VIT C, et on a suivi les mêmes étapes.

### Calcul :

L'activité antioxydante qui exprime la capacité de protéger l'absorbance de  $\beta$ - carotène est estimée par le pourcentage de décoloration du  $\beta$ - carotène en solution dans l'éthanol. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\% \beta\text{- carotène} = \frac{1 - (\Delta Abs ech)}{\Delta Abs con} \times 100$$

Où :

**$\beta$ - carotène** : pourcentage de  $\beta$ - carotène

$\Delta Abs con = (Abs con t_0 - Abs con t^2h)$  : Absorbance du témoin (solution de DPPH – blanc) en (nm).

$\Delta Abs ech = (Abs ech t_0 - Abs ech t^2h)$  : Absorbance de l'échantillon

- **Le test antioxydant par méthode de FRAP :**

#### But et principe :

Ce test est considéré comme un test direct et rapide qui est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et pour déterminer l'activité antioxydante d'huile essentielle étudiée (Decker et Welch, 1990).

Ce test est basé sur la réduction des ions  $[Fe(CN)_6]^{3-}$  à des ions de  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  qui donne en présence des ions  $Fe^{3+}$  une coloration bleue claire et on peut mesurer leur absorbance à longueur d'onde  $\lambda = 700$  nm.

#### Mode opératoire :

- L'évolution de l'activité antioxydante d'huiles essentielle est comparée par rapport à la VIT C, BHA et BHT, cela en traçant une courbe d'étalonnage (Zhiri, 2006), (Michelline, 2009) et (Rakeshi et al., 2010).



- Préparer les solutions diluées à des concentrations différentes (40, 80, 160, 200 µl) chaque solutions est introduite à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2.5 ml d'une solution K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> (1%), 2.5 ml de solution tampon phosphaté, puis ils sont maintenus dans un bain-marie pendant 30 minutes à une température de 50 °C, laisser refroidir et centrifuger pendant 10 min [Fig.12, annexe I]. En suite, ajouter 2.5 ml d'acide trichloracétique (TCA 10%).
- Prendre de chaque tube 2.5 ml du surnageant et introduire dans un autre tube à essai puis ajouter 1.25 ml d'eau distillée, 0.25 ml de la solution de FeCl<sub>3</sub> (0.1 %) (Zhiri, 2006).
- L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm contre un blanc. Des solutions ainsi préparées ont permis de tracer le courbe détalonnage des antioxydants synthétiques.

#### II.4.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

##### But et principe :

Il consiste à vérifier l'action inhibitrice des huiles essentielles de plantes sur un œdème provoqué par l'injection de carragénine 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte d'une souris.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit de référence et du produit anti-inflammatoire à tester (Colot, 1972).

##### Mode opératoire :

Les souris sont répartis en 4 lots de 6 souris chacun, à savoir trois lots traités et un lot témoin, les souris des 4 lots ont été mises à jeun pendant 18 heures avant l'expérimentation.

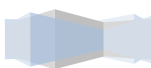
Le gavage a été réalisé à l'aide d'une sonde gastrique [Fig 13, Annexe I] (Ndiaye, 2006).

\* Gavages de lots traités :

- **Lot E<sub>1</sub>** : les souris sont gavées avec 0.5ml/20g de l'huile essentielles diluée à 2%.
- **Lot E<sub>2</sub>** : Souris gavées avec 0.5 ml/20g de l'huile essentielles diluée à 4%.
- **Lot E<sub>3</sub>** : Souris gavées avec 0.5ml/20g de diclofénac (produit chimique sous forme de médicament).

\* Lot témoin :

- **Témoin** : Gavage de 0,5ml/20g d'eau physiologique.





**Figure 14 :** dispositif pour l'activité anti-inflammatoire.

(Original, 2013).

- 1heure après gavage du traitement, injecter 0,02ml de la solution de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de chaque souris [Fig 15, Annexe I]
- Après l'injection, mesurer chaque 30min, l'épaisseur des pattes jusqu'à disparition des œdèmes, l'épaisseur de la patte est effectué à l'aide d'un pied à coulisse. [Fig 16, Annexe I]

#### Calcul :

Le calcul du pourcentage de l'épaisseur de la patte traitée est effectué par rapport à l'épaisseur de la patte témoin par la formule suivante :

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG) de la souris.

$$\%AUG = \frac{v_t - v_0}{v_0}$$

Où :

%AUG : Pourcentage d'augmentation.

V<sub>t</sub> : Volume de la patte au temps t.

V<sub>0</sub> : Volume initiale de la patte.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH).

$$\%INH = \frac{\%AUG_{témoin} - \%AUG_{traité}}{\%AUG_{témoin}}$$

(Ndiaye, 2006).



Où:

%INH : pourcentage d'inhibition de la patte.

%AUG<sub>témoin</sub> : pourcentage d'augmentation de la patte de lot témoin.

%AUG<sub>traité</sub> : pourcentage d'augmentation de la patte de lot traité.

#### II.4.3. Etude de l'activité hypoglycémiante de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

L'étude a pour but d'évaluer l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Il est mené conformément à la méthode de, (Lawson et al., 1997), (Keita et al., 1998) et celle de (Halmi, 2012). Les lapins sont soumis à jeûn non hydrique préalable de 18h avant l'expérimentation.

##### Mode opératoire :

- Pour appliquer les traitements, les lapins sont répartis en 5 lots de 2 lapins :
  - ✓ Lots témoins :
    - **Lot 1** : c'est le lot témoin constitué de lapins ayant reçu uniquement 2g/kg de poids corporel de glucose par voie orale.
    - **Lot 2** : c'est le lot témoin constitué de lapins ayant reçu uniquement 2ml/kg de poids corporel d'huile végétale par voie orale.
  - ✓ Lots traités :
    - **Lot 3** : les lapins de ce lot ont subi un traitement à base d'huiles essentielles de *Salvia officinalis* avec une dose de 2.5 % de poids corporel.
    - **Lot 4** : les lapins de ce lot ont subis un traitement à base d'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec une dose de 5% de poids corporel.
    - **Lot 5** : les lapins de ce lot ont reçu 4mg/kg de (Glibenclamide à 5 mg) administré 2h avant l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale, ceci, afin de faire coïncider le moment de l'activité maximale hyperglycémiante de la surcharge en glucose (4ml du glucose), ce lot constitue le lot référence.

Toutes les doses sont administrées 15 min avant l'administration de la surcharge en glucose.

- Le gavage est effectué à l'aide d'une seringue munie d'une sonde œsophagique.



La glycémie est déterminée par glucomètre à bandelettes en utilisant un glucomètre de type «Accu Chek Active » [Fig 17, Annexe I]. À cet effet, une goutte de sang est prélevée à la veine marginale de l'oreille gauche de chaque animal toutes les 30 min, et déposée sur la bandelette au niveau de la zone « test » du glucomètre. Le taux de glycémie est affichée 45 sec après le dépôt de la goutte de sang. Ce taux est suivi pendant 210min, soit 3,5h après l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale.

#### **II.4.4. Etude de l'activité antimicrobienne sur l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :**

##### **But et principe:**

Le but repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes mis en contact avec différents extraits, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, en utilisant des disques absorbants.

##### Mode opératoire :

A partir d'une culture bactérienne jeune de 18 heures, on réalise des suspensions en mettant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile, pour avoir une solution de 0.5 Mac Farland.

A partir d'une culture fongique jeune de 48 heures, on réalise des suspensions en diluants quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile pour avoir une solution de 2 Mac Farland.

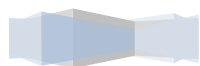
Sur des milieux de culture déjà préparés (Sabouraud pour les levures et Muller Hinton pour les bactéries), l'ensemencement est fait par écouvillonnage en couvrant toute la surface de la gélose contenue dans la boîte de Pétri.

A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disc et on l'imbibe avec 25 µl d'huile essentielle ou l'extrait méthanolique (une quantité de 500mg d'extrait par/ disc/). Ce dernier est déposé à la surface de la gélose, on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30min, puis on incube à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures.



### **II.5. Outil statistique :**

La comparaison des pourcentages moyens d'augmentation et d'inhibition inflammatoire a été faite avec un test (ANOVA) complété à test de Dunnett, a été appliquée pour les évaluations statistiques des résultats par le logiciel STATISTICA 6, une différence significative est représentée par un  $p < 0,05$ .



### III.1. Résultats :

#### III.1.1. Résultats de l'étude phytochimique :

##### III.1.1.1. Détermination du teneur en eau :

Les résultats de la détermination du teneur en eau sont consignés dans le tableau III :

**Tableau III** : Teneur en eau de la plante

	Poids initial en (g)	Poids final en (g)	Teneur en eau
<i>Salvia officinalis</i>	5g	1.5g	70%

Nous constatons que la teneur en eau est de 70%. Ce résultat est conforme avec les normes de la **Pharmacopée Européenne, (2007)**, que 100ml/kg est déterminé sur 20g de feuilles de sauge officinale.

##### III.1.1.2. Détermination du rendement en HE :

Après une extraction pendant 3 heures par hydrodisillation à l'aide d'un clevenger, nous avons mesuré le rendement en huiles essentielles ; les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV :

**Tableau IV** : Rendement en huile essentielle

	Masse végétale (g)	Masse de l'HE (g)	Le rendement en %
<i>Salvia officinalis</i>	100 g	1.02g	1.02%

Nous avons obtenus un rendement en HE de 1.02%, le rendement des huiles essentielles est extrêmement faible lorsqu'il est inférieur à 1.

##### III.1.1.3. Caractères organoleptiques :

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sont présentés dans le **tableau V** :





**Tableau V** : Caractères organoleptiques des HE du *Salvia officinalis*.

	couleur	odeur	aspect
<i>Salvia officinalis</i>	Jaune pâle	Aromatique, piquante	liquide

Après extraction nous avons obtenus une huile essentielle liquide de couleur jaune pâle avec une odeur piquante, aromatique et une densité inférieur à la densité de l'eau.

#### III.1.1.4. Caractéristiques physico-chimiques des HE :

Les propriétés physico-chimiques telles que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de peroxyde...ect, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par la pharmacopée européenne. Ainsi, nous avons reporté dans les tableaux **VI** et **VII** les résultats des caractères physico-chimiques de l'huile extraite. Confirmés avec celle de la **Pharmacopée Européenne (2007)** de sauge d'Espagne (*salvia lavandulifoliae aetheroleum*), et comparable avec celui de (**Fellah et al., 2006**) la sauge du Tunisie (*Salvia officinalis*).

#### A°) Caractères physiques :

Après analyse et contrôle de l'huile essentielle, ce tableau récapitulatif fait apparaitre les différents résultats des caractères physiques :

**Tableau VI** : Résultats des analyses physiques

	Indice de réfraction	Densité relative	Pouvoir rotatoire
Les résultats obtenus	1.467	0.9244	+ 11.05

- **Densité relative**

L'huile essentielle de sauge présente une densité de 0.92. Cette valeur est conforme à celle donnée par la (**Pharmacopée Européenne, 2007**) dans l'intervalle [0.907, 0.932], et aussi selon **Fellah et al. (2006)** qui ont obtenus une densité de 0.9268.



- **Indice de réfraction**

L'indice de réfraction des huiles essentielles de la sauge est égal à 1.467, il est conforme aux normes données par la **Pharmacopée Européenne, (2007)** dans l'intervalle [1.465, 1.473], et aussi similaires aux résultats obtenus par **Fellah et al. (2006)** avec une valeur égale à 1.468.

- **Pouvoir rotatoire**

Ce paramètre physique nous renseigne sur les composés responsables de la déviation du plan de polarisation (composés chimiques ayant une asymétrie dans leur composition chimiques). Le pouvoir rotatoire de l'HE de sauge trouvé est de + 11.05, conforme à la norme de la **Pharmacopée Européenne, (2007)** qui a un intervalle [+7, +17], et aussi similaires au résultat de **Fellah et al. (2006)** égale à + 16.3.

### B°) Caractères chimiques :

Après analyse et contrôle de l'huile essentielle, les résultats des caractères chimiques sont rassemblés dans le **Tableau VII** :

**Tableau VII** : Résultats des analyses chimiques

	Indice d'acide	Indice d'ester	Indice de peroxyde	Indice de saponification	pH	Karl-Fischer	Miscibilité à l'éthanol
Résultats	1.139	7.067	0.98	8.206	3.39	0.21%	V <sub>max</sub> =1ml

- **Karl-Fischer**

La teneur en eau dans l'huile essentielle de sauge est de 0.21%. Cette valeur est faible, elle traduit la bonne qualité de l'huile essentielle étudiée.

- **L'Indice d'acide**

L'indice d'acide de l'huile essentielle de sauge est égale à 1.139. Cette valeur est conforme aux normes de la **Pharmacopée Européenne, (2007)** qui signifie la valeur maximale 2, et proche de la valeur donnée par **Fellah et al. (2006)** de 1.41.

- **Indice d'ester**

L'indice d'ester de l'HE de sauge est de 7.067. Ce résultat est conforme à celui de **Fellah et al. (2006)** qui avance une valeur de 8.22.



- **Miscibilité à l'éthanol**

L'HE de sauge est miscible à un volume maximal égal à 1 ml, conformément aux valeurs de la **Pharmacopée Européenne, (2007)**, qui indiquent 1 ml à l'éthanol 80%.

- **pH :**

La valeur du pH est de 3.39 qui signifie que l'huile essentielle est acide et elle est conforme avec celle de **Fellah et al. (2006)** égale à 3.3.

### III.1.1.5. Analyse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par CG/MS :

L'analyse de l'HE de *Salvia officinalis* par GC/MS a révélé la présence de 25 composés chimiques [Fig 18, Annexe IV], dont 5 sont majoritaires présentés dans (Tableau VIII) ci-dessous :

**Tableau IX :** les composés majoritaires de l'HE

Temps de rétention (mn)	Noms de la molécule	Structure chimique
6.10	$\alpha$ -longipinène	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
8.14	Lepidozène	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
8.26	Dimethyl cyclohexène	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>
13.8	Aromadodrène	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
14.02	Silène	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

Nous avons constaté que l'HE de la *Salvia officinalis* est très riche en sesquiterpènes, avec une abondance de 4 composés majoritaires, en revanche, les monoterpènes identifiés dont certains sont sous forme de traces.

### III.1.1.6. Screening phytochimique de la plante :

La caractérisation phytochimique de la plante a pour but, de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires. Les résultats sont rassemblés dans le tableau VIII

+++ : Fortement positif

+: faiblement positif

++ : Positif

- : négatif



**Tableau IX:** Résultat du screening phytochimique

<i>Salvia officinalis</i>	
Les glucosides	+++
Les tanins	+++
Les flavonoïdes	+++
leucoantocyane	+
mucilage	-
Les saponosides	+++
Les alcaloïdes	+++
Les amidons	-
Les terpènes	++

Le test phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé de *Salvia officinalis*, révèle la présence de plusieurs familles de composés.

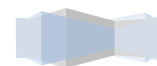
Ces résultats montrent que la plante est très riche en tanins ; flavonoïdes ; saponosides ; glucosides et alcaloïdes (fortement positif), on note aussi la présence des terpènes, et leucoantocyane.

### III.1.2. Etude de la toxicité aigue des huiles essentielles de *Salvia officinalis* :

Nous avons pris 4 lots de 4 souris de même sexe à différentes doses (10% ; 20% ; 30% ; 40%). L'administration des huiles essentielles de *Salvia officinalis* a été faite par voie orale. Nous avons reportés les taux de mortalité dans le tableau suivant :

**Tableau X :** Résultats de la toxicité aigue de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

lots	Doses (%)	Nbr de souris	Nbr de mortalité	Taux de mortalité
01	10	4	0	0%
02	20	4	2	50%
03	30	4	3	25%
04	40	4	4	100%



D'après les résultats obtenus, nous avons observés des mortalités importantes jusqu'à la dose 20% de traitement à base d'huile essentielle de *salvia officinalis*, nous notons ainsi, que l'effet causé par l'huile essentielle augmente avec la dose administrée.

L'existence de trois composants assez toxiques dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* ( $\alpha$ ,  $\beta$ -thuyone et camphre) est à l'origine d'accidents survenus lors d'ingestion de trop fortes doses de ce produit. Selon **Fellah et al., (2006)** il est donc nécessaire de consommer avec modération cette plante.

Pendant les 14 jours d'expérimentation, nous avons remarqué et notés les signes comportementaux qui agissent sur le système nerveux des souris :

- L'administration de l'huile essentielle à la dose de 10%, ne fait apparaître aucun signe pendant les 14 jours de traitement.
- L'administration de l'huile essentielle à la dose de 20%, provoque une forte agitation suivie de la mort d'une des souris, au cours des premières 30 min. Après 2 heures un deuxième mort, et après 24 heures le retour à l'état normal qui est observé pendant les 14 jours.
- A la dose de 30%, on remarque aussi une hyperactivité et une agitation soldée par 2 morts pendant la première heure. Après 12 heures, une troisième souris décède, et le retour à l'état normal est atteint après un séjour.
- Et à 40%, les souris étaient très agitées et nous avons constaté l'écoulement du sang à travers la bouche. Après une période plus au moins lente les souris restantes sont mortes.

### III.1.3. Résultats de l'étude des activités biologiques :

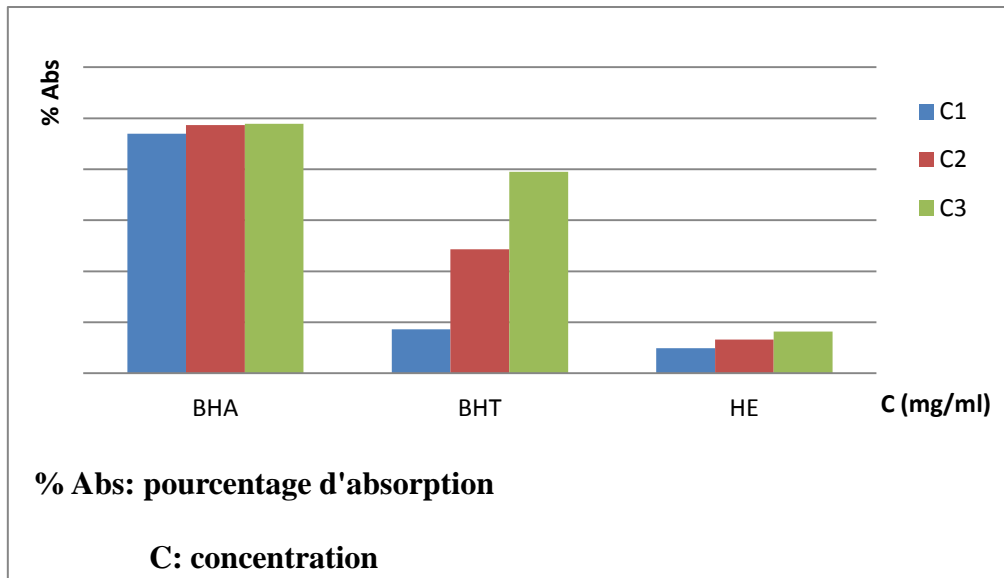
#### III.1.3.1. Activité antioxydante :

Nous avons réalisé trois méthodes pour l'évaluation de cette activité sur l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

- **Test antioxydant par DPPH :**

Le radical libre DPPH permet l'estimation du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité anti-radicalaire de cette huile.





**Figure 19** : Résultats du test antioxydant par DPPH.

Nos résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire, révèlent que l'huile testée ainsi que le BHA et BHT pris comme référence, sont des anti-radicalaires. [Fig 19]

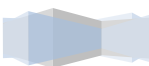
Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des dilutions soit pour les standards ou pour l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

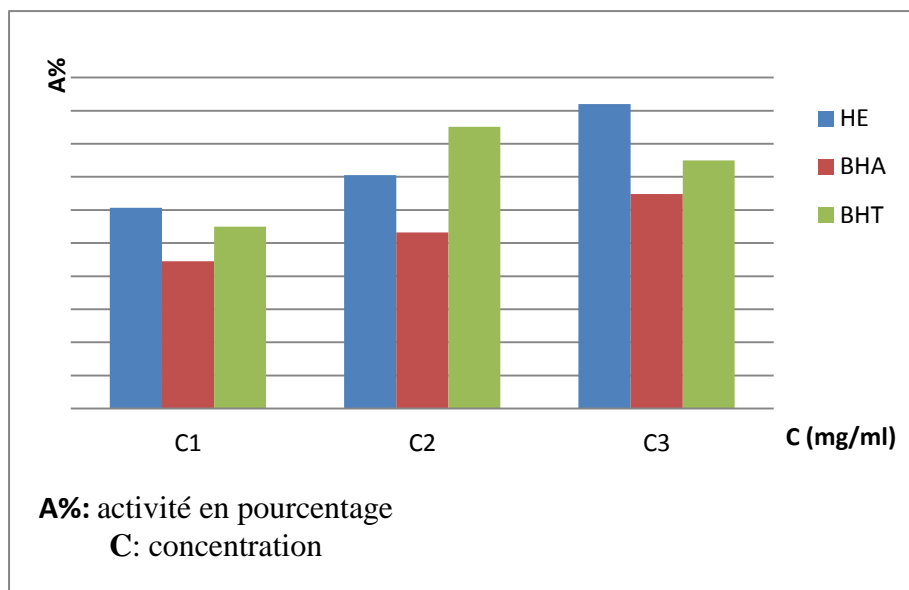
Nous avons remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour le BHA et BHT est supérieur à celui de l'huile essentielle pour toutes les concentrations utilisées.

Pour une concentration de 100 $\mu$ l, l'huile essentielle a révélé une activité faible égale à 16.37% loin de celui de la BHA qui est de 97.86% tandis que celui du BHT est de 78.97%.

- **Test antioxydant par  $\beta$ - carotène :**

L'absorbance de l'acide linoléique peut estimer l'activité antioxydante de  $\beta$ -carotène.





**Figure 20** : Résultats du test antioxydant par  $\beta$ - carotène.

Une diminution moins importante de l'absorption de  $\beta$ -carotène indique un taux d'oxydation de l'acide linoléique avec une activité antioxydante plus élevée en présence des huiles essentielles.

L'huile essentielle de sauge présente une activité très importante par apport aux antioxydants synthétiques (BHA, BHT)

- **Test antioxydant par la méthode FRAP :**

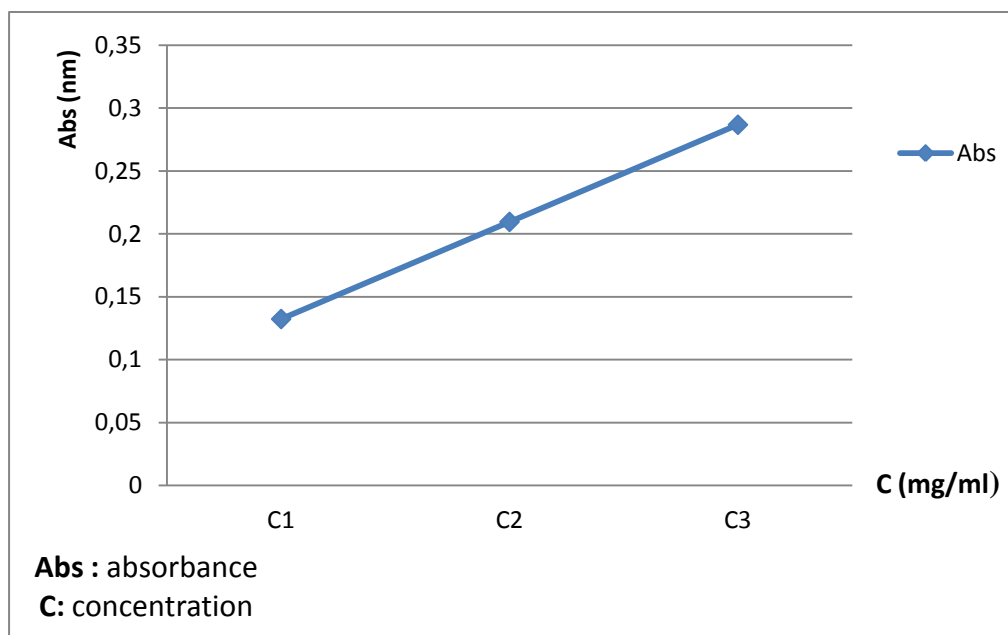
Le pouvoir réducteur présente l'aptitude d'une substance à transfert d'un électron sur une autre substance et à prévenir de la sorte le phénomène de peroxydation des lipides, jouant ainsi le rôle d'antioxydant.

Nous avons remarquée expérimentalement, le changement de couleur instantanément du jaune pâle au vert foncé.

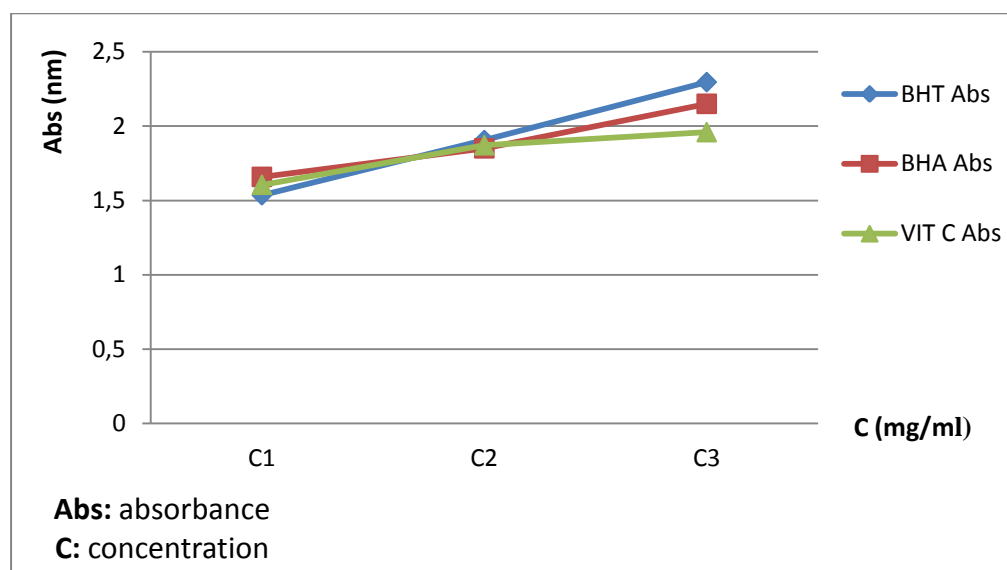
L'examen des résultats de ce test montre une fois encore que les huiles essentielles présentent des activités réductrices moins importantes par apport à l'évaluation des antioxydants de référence tels que la VIT C, BHT et BHA.

Nous avons tracés des courbes représentants la variation du pouvoir réducteur exprimant l'absorbance en fonction de la concentration molaire [Fig 21et Fig22].





**Figure 21** : Résultats de l'absorbance des huiles essentielles



**Figure 22** : Résultats de l'absorbance des antioxydants de références

Les résultats de l'activité réductrice exprimés, montrent clairement que le pouvoir de réduire l'ion  $Fe^{+3}$  est plus intéressant (le potentiel antioxydant le plus fort) dans les produits de référence tels que la VIT C, BHA et BHT. Par contre, l'huile essentielle de *Salvia officinalis* montre un pouvoir réducteur faible.





### III.1.3.2. Activité anti-inflammatoire :

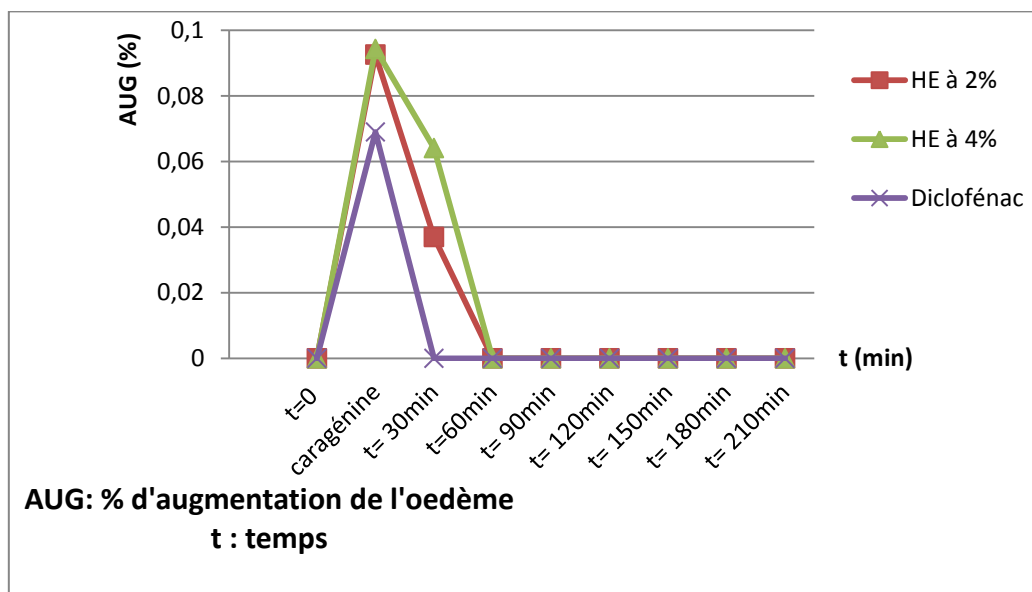
Notre étude avait pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de *Salvia officinalis*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème aigu de la patte de souris induit par la carragénine 1%. Nous avons testé les huiles essentielles de *S.officinalis*, à la dose de 2% et 4% en administration par voie orale. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du Diclofénac, et un contrôle par l'eau physiologique.

Après administration *per os* de l'eau physiologique, la carragénine 1% entraîne une augmentation significative du volume de la patte de souris à 17,33% ; 23,46% ; 9% ; 17% ; 13% ; 5% ; 5% ; 5% respectivement à 30min, 60min, 90min, 120min, 150mn, 180min, 210min (**Tableau X, Annexe III**).

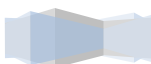
L'administration de Diclofénac à la dose de 50 mg/g *per os* prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte de souri. Elle est de 9.6% directement après l'injection du carragénine, et le retour direct à la taille initiale (0% d'augmentation) dans l'intervalle [30min, 210min] (**Tableau XI, Annexe III**).

L'administration *per os* de l'huile essentiellle de *S.officinalis* à 2% prévient de façon significative l'œdème aigu de la patte de souri au bout de 210min (% AUG respectifs de 9.26% ; 3.7% ; 0%) (**Tableau XII, AnnexeIII**).

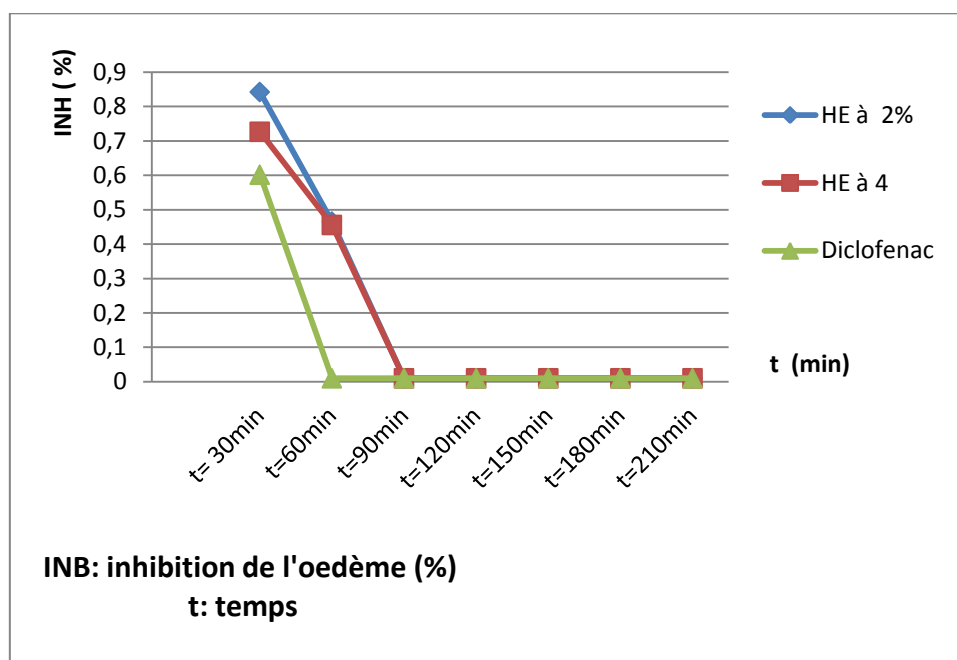
Des résultats similaires ont été obtenus avec la dose de 4%. En effet, l'augmentation du volume de la patte des souris n'est que de 9.43% ; 6.41% ; 0% (**Tableau X, AnnexeIII**).



**Figure 23** : Résultat du pourcentage d'augmentation de la patte des souris.



L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'huile essentielle de *S.officinalis* possède une activité anti-inflammatoire. A la 1<sup>ère</sup> heure, l'huile essentielle à la dose de 2% et 4% montre respectivement un pourcentage d'inhibition de (84.23%et de72.67%) proche de celui de Diclofénac à la dose de 50 mg/g (60.18%) dans la 1<sup>ère</sup> 30min. A la 210 min nous avons noté une activité anti-inflammatoire identique de l'huile essentielle à la dose de 2% et 4% (% INH respectifs de 1%).



**Figure 24 :** Résultats du pourcentage d'inhibition d'œdème dans les pattes des souris

Il ya donc une réduction de l'œdème, avec une différence hautement significative égale à 0.000012 ( $p < 0.05$ ) entre le traitement standard et l'HE, par rapport au témoin (eau physiologique) regroupée dans le (**Tableau XIV, AnnexeIII**). Ces résultats sont confirmées par des tests statistiques, ANOVA complété par un test de Dunnet, qui présente une différence hautement significative entre le témoin (eau physiologique), et HE à 2% égale à 0.000023, HE à 4% égale à 0.000031 et le traitement standard Diclofénac 0.000163,  $p < 0.05$ .

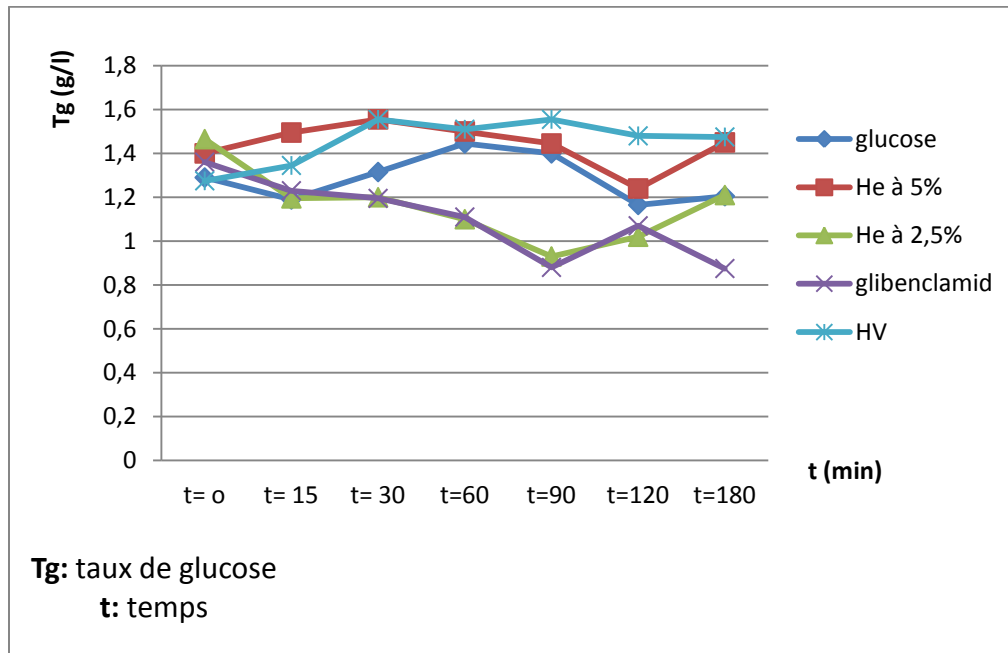
### III.1.3.3. Activité hypoglycémiant :

Notre étude a pour but d'évaluer l'activité hypoglycémiant, nous avons utilisées 5 lots différents, deux doses de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* à 2.5% et 5% comparés à ceux du glibenclamide 5mg et un contrôle avec l'huile végétale et enfin un lot témoin ne



contenant que du (D<sup>+</sup>) glucose. L'administration par voie orale sur les lapins albinos de sexe mélangé est de 2ml / kg du traitement.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le [Tableau XV, Annexe III] et illustrés par la [Fig 25].



**Figure 25** : Résultats de l'activité hypoglycémiant de l'HE de *Salvia officinalis*.

➤ **Lot 1 : (Lot témoin : glucose) :**

- L'administration de 2g/kg de glucose entraîne en 30 minutes une augmentation significative de la glycémie allant jusqu'à 1.31.

- à la 60<sup>ème</sup> minute, la glycémie continue d'augmenter jusqu'à 1.45.

- à la 90<sup>ème</sup> minute, elle amorce une baisse.

à la 120<sup>ème</sup> minute, la glycémie est à 1.16 soit une baisse de 88% par rapport à la 30<sup>ème</sup> minute.

➤ **Lot 2 (huile végétale) :**

- L'administration de l'huile végétale entraîne une augmentation significative du taux de glycémie pouvant aller jusqu'à 1.55 à la 30<sup>ème</sup> minute.

- De la 60<sup>ème</sup> minute jusqu'à la 180<sup>ème</sup> minute, les valeurs sont presque les mêmes, une baisse très peu significative de la glycémie est égale à 1.47.

➤ **Lot 3 (glibenclamide 10mg) :**

- 10 mg de glibenclamide provoque dès la 30<sup>ème</sup> minute une baisse considérable de la glycémie, de 91% par rapport au lot témoin.

- à la 60<sup>e</sup> minute, la baisse est de 77% par rapport au lot témoin
- à la 90<sup>e</sup> minute, les lapins sont en état d'hypoglycémie avec une baisse de 61% par rapport au lot témoin.
- Cette hypoglycémie perdure à la 120<sup>e</sup> minute (91% de baisse de la glycémie par rapport au lot témoin).

➤ **Lot 4 (huile essentielle à 2.5%) :**

- 2.5% de l'huile essentielle abaisse la glycémie de 91% par rapport aux lapins soumis uniquement à la surcharge de glucose à la 30<sup>e</sup> minute.
- à la 60<sup>e</sup> minute, l'action est la même qu'avec le lot témoin, elle est égale à 76%.
- à la 90<sup>e</sup> minute, elle est encore presque égale à celle du témoin.
- à la 120<sup>e</sup> minute, nous observons que la baisse de la glycémie est continue par rapport au témoin à 87%.

➤ **Lot 5 (huile essentielle à 5%) :**

- 5% de l'huile essentielle abaisse considérablement la glycémie de 91% par rapport au témoin à la 30<sup>e</sup> minute.
- à la 60<sup>e</sup> minute, la baisse est peu significative; elle est de 76% par comparaison au témoin
- à la 90<sup>e</sup> minute, elle est de 0.93 cela veut dire une diminution du taux du glucose allant jusqu'à 66%.
- à la 120<sup>e</sup> minute, la glycémie est de 110 mg/10 ml, ce qui équivaut à une augmentation de 87% par rapport au lot témoin.

#### III.1.3.4. Activité antimicrobienne :

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par **Keshavarz et al. (1996)**. Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en 04 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 16 et 28 mm.
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 10 et 16mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur 10mm.

Le tableau **XVI** et la figure **26**, extrapolent les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition révélés par l'huile essentielle en utilisant le test de l'aromatogramme :



**Tableau XVII** : Résultats de l'activité antimicrobienne (diffusion en mm par disque)

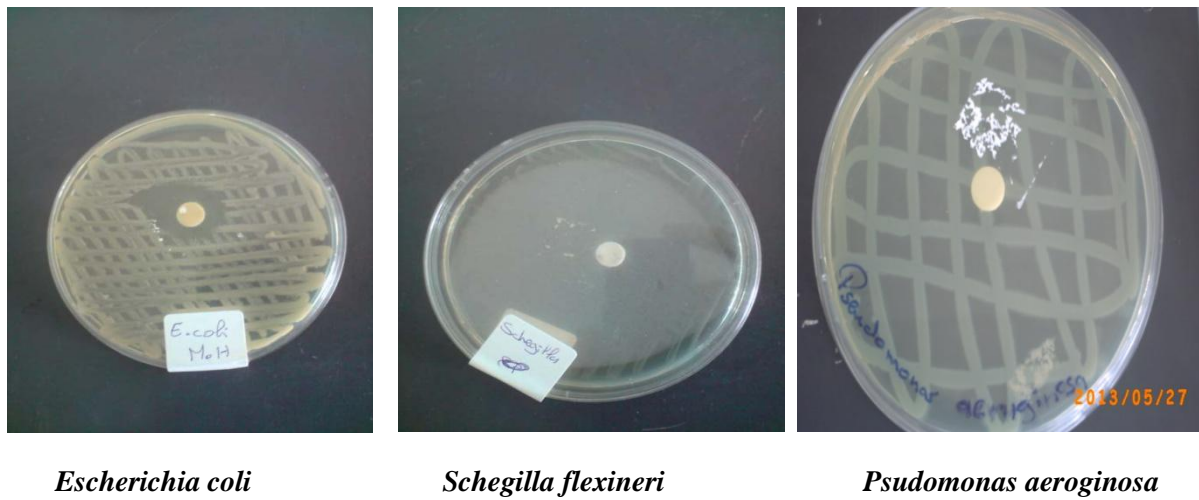
Les souches utilisées	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Classement/interprétation
<i>Escherichia coli</i> ATTC 10536	20	Modérément inhibitrice
<i>Bacillus subtilus</i> ATTC 6633	27	Modérément inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538/P	16	Légèrement inhibitrice
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATTC	0	Non inhibitrice
<i>Salmonella sp</i>	0	Non inhibitrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	Non inhibitrice
<i>Sarcina lutea</i>	15	Légèrement inhibitrice
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	13	Légèrement inhibitrice
<i>shigella flexineri</i>	0	Non inhibitrice

Au regard de ces résultats, nous observons que l'huile essentielle a inhibé la croissance de plusieurs souches bactériennes *Escherichia coli*, *Bacillus subtilus*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* et une souche fongique telle que *Candida albicans*.

En ce qui concerne les souches *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *shigella flexineri*, l'HE de sauge n'a eu aucun effet inhibiteur.

*Candida albicans**Bacillus subtilus**Staphylococcus aureus*

Zone d'inhibition



**Figure 26 :** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*  
(Original, 2013)



Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus, d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme, tels que les huiles essentielles.

Pour l'étude des activités biologiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, nous avons passé en revue la littérature scientifique existante sur la plante. Nombreuses études phytochimiques, pharmacologiques et toxiques ont été effectuées sur les différentes parties de la plante comparées avec les résultats de nos recherches bibliographiques.

Pour ce qui est des travaux expérimentaux, nous avons effectué des analyses physico-chimiques complémentaires pour mieux connaître la nature, l'aspect, la densité,...etc. de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, des tests pour connaître les limites de toxicité de l'huile essentielle et des tests biologiques pour évaluer les différentes propriétés pharmacologiques, en rapport avec l'utilisation de la sauge en médecine traditionnelle.

Nous avons obtenus un rendement en HE de 1.02% légèrement supérieur à celui de **(Mastelic et al., 2001)** qui a obtenue un rendement de 1%.

**Chalchat et al., (1998)** ont montré aussi que le rendement des huiles essentielles de *salvia officinalis* obtenues par distillation pendant 3 heures dans un appareil clewenger est en fonction du climat et l'origine de la plante : France (2.05%), Portugal (2.90%), Roumanie (2.30%), ainsi qu'à **Beloued** qui a mentionné que le rendement de *salvia officinalis* peut aller jusqu'à 2,5%.

Selon **Mastelic et al., (2001)** Cette variation du rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante, mais également à la période de la cueillette de la matière végétale, il est toujours faible en hiver et donne un maximum rendement en été ; la sauge du Liban est entre 0.7-2.2% **(Hilan et al., 2005)**, Tunisie entre 0.78-1.63% **(Fellah et al., 2006)**, Pakistan entre 0.25-1.98% **(Hussain et al., 2011)** et la sauge de Jordanie entre 1.18-2.13% **(Salameh et al., 2000)**.

D'après **la Pharmacopée Européenne, (2008)** l'aspect de l'huile essentielle de la sauge est liquide, de couleur jaune-brun avec une odeur caractéristique. Par contre la sauge d'Espagne est liquide mobile d'une couleur jaune pale avec une odeur rappelant celle du camphre.



Selon **Hilan et al., (2005)**, les caractères organoleptiques sont en relation avec la période de cueillette; la sauge du Liban *Salvia libanotica* a un aspect liquide avec une couleur jaune pâle au printemps et jaune foncée en automne et odeur fortement cinéolique.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir de 300 composés différents, ces composés sont des molécules volatiles appartenant à la famille des terpènes (**Bakkali et al., 2008**) qui sont soit des monoterpènes (myrcène,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène) ou des sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène), ils ont la même origine métabolique, ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'HE (**Kaloustian, 2008**).

Selon **Dorman et al., (2000)** les sesquiterpènes sont des anti-inflammatoires, antibactériens et antifongiques ; notamment aussi que, les monoterpènes sont des bactériostatiques, herbicide, fongistatiques, et stimulant général (**Lahlou, 2004**) ; ainsi que les cétones tels que (le thuyone) sont des antiviraux, déprimeur à haute dose, neurotoxiques (**Gherman et al. 2000**).

Les plantes accumulent une grande variété de métabolites secondaires tels que : les alcaloïdes, terpènes, polyphénols, tous ces composés n'ont aucun rôle dans le métabolisme primaire de la plante ; mais ils sont responsables de diverses activités biologiques (**Wichtl et Anton, 2003**).

Les études phytochimiques sur les extraits de feuilles de la sauge (*salvia officinalis*) ont révélés la présence de nombreux composés bioactifs : glucosides, tanins, flavonoïdes, alcaloïdes,...

Ces composés figurent dans la composition chimique de la sauge rapportées par (**Beloued, 2005**) et (**Sijelmassi, 2008**) et dont les plus abondants sont : les flavonoïdes, les glycosides, les alcaloïdes, les saponines, des tanins, et aussi la présence des terpènes, et leucoantocyane.

Ces composés phytochimiques, dont on a révélé la présence, sont connus par leurs effets pharmacologiques et leur implication dans de nombreuses activités biologiques.

L'étude de la toxicité de l'huile essentielle de la plante, indispensable pour une adaptation de la tradithérapie a été réalisée pour situer les limites de tolérance des souris à *Salvia officinalis* administré par voie orale, à des concentrations variables. L'huile essentielle de la sauge peut être considérée comme étant « relativement dangereuse à haute dose ».





Selon **Laurent, (2007)** la sauge n'a aucune toxicité aigue ou chronique signalée après emploi aux doses usuelles de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour). Cependant la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption.

La  $DL_{50}$  trouvée chez les souris égale à 0.45mg/g et la  $DL_{100}$  0.8mg/g ; donc l'huile essentielle de la sauge est en relation avec le rapport dose/effet, nos résultats sont accord avec ceux de **Millet et al., (1979)**, qui a déterminé que la dose convulsive est égale à 0.3ml/g et elle devient mortelle à 1.25ml/g.

La haute dose de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* ( $\alpha$ - thuyone ;  $\beta$ - thuyone et camphre) a été administrée par voie orale aux souris, ayant été trouvées mortes à la dose de 40%. Durant les 24 heures, nous avons remarqués la mortalité des souris et une neurotoxicité causée par une substance toxique à savoir la thuyone, qui est un cétone neurotoxique (**Arnac et al., 2008**) et un cétone terpénique (**Schanemberg et Ferdinaud, 1977**). Ces résultats sont accord avec ceux de **Fellah et al (2006)**.

Notre étude avait aussi pour but de tester in vitro l'activité anti- oxydante de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* réalisée par trois différentes méthodes : 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène et le système réducteur ferrique.

L'activité anti radicalaire des huiles essentielles a été mesuré par un test DPPH « la capacité de piégeage des radicaux libres ». Les résultats obtenus ont montrés un faible piégeage des radicaux libres par comparaison à celui des antioxydants synthétiques.

Le pourcentage d'inhibition est de 16,37%, plus faible que celui de BHA et BHT respectivement de 97,86% et 78,97%.

D'après **Bozin et al (2006)** , l'huile essentielle de *Salvia officinalis* et *Melissa officinalis* ont montré un excellent piégeage des radicaux libres.

Selon **Mimica Dukic et al (2003)**, les composés de piégeage les plus puissants sont la  $\beta$ -thuyone, camphre, bornyle, et 1.8cineol et la meilleure activité de piégeage de l'huile essentielle de *salvia officinalis*, pourrait être due au contenu élevée en cineol 1,8.

Le résultat obtenus dans l'activité de  $\beta$ -cacetène révèle que l'huile essentielle examinée a empêché l'oxydation de l'acide linoléique avec un pourcentage de 60.63%, supérieure à



celle de BHA=44.55% et BHT=54.95% ceci est comparable à celui de **Hussain et al., (2008)** qui ont montré une activité de 56.2%.

En fin, la capacité antioxydante basée sur l'analyse de FRAP de huile essentielle de sauge, montre une réduction moins importante par rapport aux antioxydants synthétiques, comparables à celle rapportée par **Wang et al., (2008)**.

En outre, la présente étude s'est consacrée à la recherche d'un éventuel effet anti-inflammatoire à partir de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. L'expérience a été évaluée en mesurant l'œdème induit par l'injection de la carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite de la souris. Cette substance provoque un œdème de la patte qui est décrit comme un événement diphasique, une phase initiale observée durant la première heure qui est attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine, et une deuxième phase de gonflement qui est due à la libération des prostaglandines like (**Crunkhorn et Meacock, 1971**).

Les médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de ces médiateurs chimiques, histamine, sérotonine, kinines et prostaglandines (**Lindsey et al., 1999; Attal et Bouhassira, 2000**).

Par ailleurs, nos résultats montrent que l'inflammation est plus accentuée chez le lot témoin qui n'a reçu aucun traitement, les souris prétraitées par le Diclofénac administré par voie orale, marquent une réduction significative de l'œdème des pattes droites postérieures. Cette diminution du pouvoir inflammatoire de la carragénine serait attribuée au pouvoir anti-inflammatoire du Diclofénac, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe la cyclo-oxygénase interviennent au sommet d'une cascade de réaction aboutissent à la formation de prostaglandine (**Chakou et al., 1984**).in (**Douaouri, 2012**).

D'après **Kamatou et al., (2006)** l'huile essentielle a montré une meilleure activité anti-inflammatoire une fois comparées aux extraits dissolvants.

Les souris prétraitées par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* respectivement à la dose 4% et 2%, présentent une activité inflammatoire maximale de 9.43% et 9.26%, l'étude a montré une inhibition (réduction) 72.67% et 84.23% en taille initiale de la patte postérieure gauche, presque similaire à celle du traitement standard le Diclofénac 6.90% avec une réduction de 60.18%.



De ce fait, l'huile essentielle de *Salvia officinalis* réduit de façon significative l'œdème de la patte induit par la carragénine 1%. Elle a montré un effet anti-inflammatoire équivalent à celui du Diclofénac, médicament standard.

En effet, l'activité hypoglycémiante de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, l'expérience a été effectuée sur des sujets sains (lapins albinos du sexe mélangé) en provoquant une hyperglycémie par la surcharge du D- glucose.

Le diabète est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Elle touche environ 4% de la population mondiale (**Kebeiche, 2009**). C'est une pathologie chronique, caractérisée par une hyperglycémie. Lorsque la glycémie mesurée à jeûn, devient supérieure à 1,26 g/l, la personne est considérée comme diabétique. Cette maladie est incurable, mais peut néanmoins être traitée efficacement (**Buyschaert et al., 1999 ; Raccah, 2004**).

Malgré l'utilisation des hypoglycémiants comme drogues antidiabétiques, le diabète et ses complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutique des diabétiques et la réussite du traitement serait d'un intérêt grandiose, malgré l'avancée de nouvelles molécules thérapeutiques. Les médicaments modernes, y compris l'insuline et les hypoglycémiants oraux (les biguanides, les sulfonylurées), leur administration régulière engendre des effets indésirables (**Nissen et Wolski, 2007**). Les diabétologues sont arrivés à l'évidence d'un complément thérapeutique constitué par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète (**Bagchi et al., 1997 ; Kim et al., 2002 ; Jin et al., 2008**).

Nous avons effectué un test hypoglycémiant chez les lapins, le taux du glucose a été très élevé chez le témoin pendant les deux heures de l'expérience, en revanche les lapins prétraités par l'huile essentielle de la sauge à la dose 2.5% et 5% montrent respectivement une réduction significative du glucose au bout de la première heure, comparable à celles des produits chimiques (glibenclamide) qui a réduit le taux du glucose au bout de la 30<sup>ème</sup> minute.

Enfin, l'activité antimicrobienne consacrée à l'évaluation du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de la sauge par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, a révélé que l'huile essentielle possède un pouvoir antibactérien sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* et antifongique sur *Candida albicans*.



En revanche ; l'huile essentielle n'a exercée aucun effet antibactérien sur *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *shigella flexineri*.

Les vertus antimicrobiennes des HE sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles (**Carla et al., 2000**) et des applications sans bases scientifiques précises. On note l'étude faite par Chamberland en 1887 sur l'activité antimicrobienne des essences de cannelle, d'origan et de girofle (**Beylier-Maurel, 1976**), et en 1919 Gatte Fosse a montré que le bacille de Koch était détruit en 5 minutes par une émulsion à 1% d'huile de pin.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des HE des plantes aromatiques (**Rhayour, 2002**).

L'huile essentielle de la sauge a une activité antibactérienne très puissante contre la bactérie à gram positif, *Bacillus subtilus* avec une zone d'inhibition de 27mm.

De même, une activité antifongique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur le champignon *Candida albicans* avec une zone d'inhibition légèrement inhibitrice de 13mm.

Nos résultats sont accords avec ceux de la sauge de Serbie, d'Egypte. Selon **Pereda-Miranda et al. (1992)** et **Farag et al. (1989)** les huiles essentielles sont très actives contre les bactéries à gram positive (*Bacillus subtilus*, *Staphylococcus aureus*) par rapport aux bactéries à gram négative (*Sarcina lutea*, *Salmonella sp*

**Yousef et Tawil, (1980)**, ont montré que les bactéries sont moins actives (*Escherichia coli*) ou inactives (*Pseudomonas aeruginosa*) avec une légère activité pour les entérocoques, ainsi une activité fongicide modérée contre les champignons (*Candida albicans*) d'après **Ulubelen et al., (1996)**.

D'après **Kustrak et Pepeljnjak, (1989)** sur l'effet antimicrobien de la sauge, sont indiquées que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a une excellente activité grâce à la présence de 1-8 cinéol, cymène, le  $\beta$ - thuyone et le camphre.

A la lumière de ces résultats, nous estimons avoir atteint nos objectifs, en effet, nous avons pu montrer que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est dotée de plusieurs activités remarquables. De ce fait, il serait très intéressant de réaliser des études



complémentaires sur cette plante et de rechercher les molécules actives responsables des effets trouvés.



## Conclusion générale

---

Ce modeste travail, s'inscrit dans une dynamique visant à valoriser et préserver une plante aromatique *Salvia officinalis*, très utilisée traditionnellement par les populations locales pour le traitement de certaines maladies.

Les méthodes et les techniques utilisées nous ont permis d'extraire les huiles essentielles de séparer, et d'identifier quelques principes actifs, et d'étudier certaines activités biologiques.

L'extraction par hydrodistillation, à l'aide d'un clevenger, a révélé un bon rendement égal à 1.02%.

Quant aux résultats des tests de toxicité aiguë chez des souris, ils indiquent que les HE de *Salvia officinalis* prises par voie orale, sont toxiques à haute dose, ce qui implique impérativement une utilisation avec précaution.

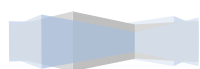
Par ailleurs, l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a montré une activité antioxydante importante par la méthode de  $\beta$ - carotène par comparaison aux antioxydants synthétiques BHA et BHT, modérée avec la méthode de FRAP ,et faible avec DPPH.

De même, l'HE de *Salvia officinalis* possède une activité hypoglycémiante modérée chez les lapins, elle présente, en effet, une réduction modérément significative du glucose.

En outre, les résultats de l'activité anti-inflammatoire testés sur des souris en provoquant un œdème dans la patte postérieure gauche, ont révélé un effet inhibiteur hautement significatif.

Concernant l'activité antimicrobienne nous avons constaté que les huiles essentielles de *Salvia officinalis*, présentent un effet inhibiteur sur la plupart des souches microbiennes testées.

A la lumière des résultats obtenus, il est capital de souligner que ce travail est préliminaire. De ce fait, il nécessite des études approfondies concernant la composition chimique de l'huile essentielle et les différents extraits de la plante, ainsi qu'une étude sur la neurotoxicité afin de mieux connaître les désordres structurels et fonctionnels.



- **Arnac B, Goetz P, Iserin P.**, 2008. Les plantes médicinales. Sélection du Reader's Digest. Paris, Bruxelles, Zurich.
- **Atlan M.** 1987. Les labiées : étude botanique économique, chimique et pharmacologique. Doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux.
- **Attal N et Bouhassira D.**, 2000. Nouvelles approches pharmacologiques de la douleur. Annales Pharmaceutiques Françaises. Vol. 58; pp121-134.
- **Azevedo N.R., Campos I.F., Fereira H.D, Prtes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C., Paula J.R. & Ferri P.H.**, 2001. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. Phytochemistry ; 57(5) : 733-736.
- **Baba-aissa F.** 2011. Encyclopédie des plantes utiles. Almarifa. P330.
- **Bagchi D, Garg A, Krohn R, Bagchi M, Tran M, Stohs S.**, 1997. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*; 95:179 90.
- **Bakkali Avzrbach D.**, 2008. Biological effects of essential oils. A review Food and Chemical Toxicology; Vol.46; PP446-475.
- **Bartels.A.**, 1998. Guide des plantes du bassin méditerranéen. EUGEN ULMER France. P 329.
- **Beloued A.** 1998. Les plantes médicinales d'Algérie. Office de publications universitaires. P 277.
- **Beloued A.**, 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Office de publication universitaire « OPU ». p 196.
- **Bénégère A., Goetz P., Iserin P. et al.** 2008. Les plantes médicinales. Sélection du Reader's Digest. Paris. P253.
- **Bekhechi.Ch. ; Abdelwahid.Dj.**, 2010. Les huiles essentielles. Office de publication universitaire Algérie. P 9, 10, 38, 39, 40, 41,42.
  
- **Bérubé-Gagnon J.**, 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'université de Québec.
- **Beylier-Maurel M.F.**, 1976. Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. Rivista Italiana. E.P.P.O.S., 58: 283-286.
- **Botineau.M.**, 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. TEC ET DOC Paris P.
- **Boullard B.**, 2001. Dictionnaire des plantes médicinales du monde : Réalités & croyances. ESTEM, Paris. P 660.

- **Bouquet M.**, 1971. Travaux et documents de l'Orstom. Paris,
- **Bozin, B., N. Mimica-Dukic, N. Simin and G. Anackov.**, 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54: 1822-1828.
- **Bozin B, Mimica-Dukic N et Jovin E.**, 2005. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *Food chemistry*. Volume 90, Issue 3 , Pages 333–340.
- **Brand-Williams, W, Cuvelier, ME, Berset, C.**, Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and technologie*, 25-30.
- **Bruneton J.**, 2001. Plantes toxique végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2<sup>ème</sup> édition TEC et DOC. Paris. ISBN : 2-7430-0462-2 PP. 533.
- **Buyschaert M., Vandeleene B., Parus I., Hermans MP.**, 1999. Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'Hui à un défi de demain. *Louvain Med.* 118: S189-S195.
- **Chalchat. J.C, Michet. A, Pasquier. B. Flavour. J.**, 1998. PP : 13-68.
- **Colot.**, 1972, Notion technique de pharmacologie générale. Paris : Masson.
- **Cosentino S., Tuberoso C.I., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. & Palmas F.**, 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol.*, 29(2): 103-105.
  
- **Crunkhom P et Meacock S.C.**, 1971. Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin. *Br J Pharmacol.* 42: pp392-402.
- **Cuendet M, Hostettman, K, Potterat, O.** Irridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica chimica Act*, 1144-1152.
- **Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T.**, 2005. Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.
- **Decker, EA., Welch.**, 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of agricultur and Food Chemistry*, 674-677 PP.
- **Dellile L.**, 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. BERTI. P 240.
  
- **Djerroumi A. et Nacef M.**, 2004. 100 plantes médicinales. Palais du livre. P 159.



- **Eberhard tenscha.**, 2005. Plantes aromatique,épices, aromates, condiments et huiles essentielles.Robert auton Lobstein..Paris P :444-447.
- **Eidib M, Eidia A.**, 2009. Effets antidiabétique(officina L.de salvia) des feuilles de sauge chez les rats diabétique normaux et streptozotocin.induits. Volume 3, issue 1, janvier-mars, pages 40-44.
- **Fellah.S, Romdhan.M, Abderraba.M.**, 2006. Extraction et étude des huiles essentielles de la *salvia officinalis* cueillie dans deux régions diférentes de la Tunisie. Journal de la société Algérienne de chimie J.SOC.Alger.Chin.16°N2 ; PP193-202.
- **Farag.RS, Badei.A.Z.M, Hewedi F. M.**, June 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. Journal of the American Oil Chemists Society, Volume 66, Issue 6, pp 792-799.
- **Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A.**,1989. Antimicrobial Activity of Some Egyptian Spice Essential Oils. *Journal of Food Protection*, 52 (9), 665–667.
- **Figueredo G.**,2007.Etude chimique et statique de la composition d’huile essentielle d’origans(Lamiaceae).cultivés issus de graines d’origine méditerranéenne.
- **Fouché JC, Maquet A, Hambuckers A.**,2000.Les plantes médicinales.Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal.
- **Fronchomme P.Pénoel D.**,1990. Matière médicinale aromatique fondamentale, l’aromathérapie exactement.Royer jullois editeurs.Vol 4 ; P317-446.
- **Gherib A.**,1998.Travaux pratique de chimie thérapeutique.
- **Graham R.**,2007. Encyclopédie des plantes vivaces. Gallimard. P 495.
- **Hala G.M., Christ H. & Carla K.**, 2000. Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. Journal of Ethnopharmacology, 71(3): 513-520.
- **Halmi.S.,Benlaksira.B.**, 2012. Antihyperglycemic activity of prikly pear (*Opuntia-ficus-indica*)aqueus extract.Pharmacology and toxicology Laboratory.Veterinary department.Mentout Uneversity,Constantine.Algeria.Vol 2 N°3,PP540-543.
- **Hamza N.**, 2011. Effet préventif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime «high fat» chez la souris C57BL/6J. Thèse. Doctorat. Science alimentaire. Constantine.

- **Hans W.Kothe.**, 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales.Terres éditions. P278.
- **Hilan C, Sfeir R.**, 2006. Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae.Lebanese science Journal ; Vol.7 ; n°2.
- **Hilan C et al.**, 1998.Anti microbial effect of essential oils of *salvia libanotica*(Sauge).The British Journal of Phytothérapie ;Vol.4 ;PP155-162.
- **Hubert R.**, 2005. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. L'Harmattan France. P 259,265.
- **Hussein, A.I.**, Chemical composition antioxydant and anti microbial activities of essential oils depend on seasonal variation.Food Chemistry, 108: 986-995.
- **Iserin.P.**, 1997. « Encyclopédie des plantes médicinales ». La rousse Bordas France. P 10,11.
- **Jacques G et Paltz SA.**, 1997. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles.Fascicule du laboratoire. «Jaque paltz ».
- **Jayaprakasha,G.K, Singh, R.PSakariah, K.K.**,2001. Antioxydant activity of grape seeds( *Vitis vinefera*).Extraction per oxidation models in vitro.Food chemistry, 285-290.
- **Jin, L., Xue, H.Y., Jin, L.J., Li, S.Y., Xu, Y.P.**, 2008. Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur. J. Pharmacol.* 582:162–167.
- **Kaddem S.**, 1990. Les plantes médicinales d'Algérie. Le monde des pharmaciens. P 159.
- **Kamatou et al.**, . 2006. Chemical composition, leaf trichrome types and biological activiteis of the essential oils of four *Salvia speises.*, 18 :72-79.
- **Kebieche M.**, 2009. Activité biochimique des extraits flavonoiques de la plante *Ranunculus repens* effet sur le diabète expérimental et hépatotoxicité induite par l'Epirubicine.Thèse de Doctorat.Université de Constantine.
- **Keita.A., Mariko.E.,Haidara.,T.**1998.Etude de l'activité hypoglycémiante des feuilles de *sclerocorya Birria*(A.Rich)Hochst.(Anacardiaceae).Pharm.Med.Trad.Afr. Vol.10, PP:16-25.
- **Kelen, M et Tepe, B.**, 2008.Chemical composition, antioxydant and anti microbial proprieties of the essential oils of three *salvia* species from Turkich 4096-4104.

- **Kim, Y.Y., Kang, H.J., Ko, S.K., Chung, S.H.**, 2002. Sopungsungi-won (SP) prevents the onset of hyperglycemia and hyperlipidemia in Zucker diabetic fatty rats. *Arch. Pharm. Res.* 25: 923–931.
- **Keshavarz E., Babiuk L., Gerson D. et Ceschiuhi M.J.**, 1996. Lignes directrices en matières de biosécurité en laboratoire ».Public Health Agency of Canada, 2<sup>ème</sup> Ed.
- **Kustrak D. and Pepeljnjak S.**, 1989. Antimicrobial activity of Dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. *Acta Pharm. Jugosl.*, 39, 209–213.
- **Laurent B.**,2007. Le grand livre des plantes aromatiques. Nustica éditions.
- **Lawson-Evi P., Eklu-Gadegbeku, K. Aklikokou.**, 1997. Activité hypoglycémiant de quelque plantes médicinales.Centre de recherche et de formation sur les plantes médicinales.Université de Bénin.Pharm.Méd.Trad.Afr., , Vol.9 PP:60-69.
- **Lieutaghi.P.**, 1978. Le livre des bonnes herbes « tome2 ». Marabout Belgique P 121.
- **Lindsey K., Jager A.K., Raidoo D.M. et Van staden J.**, 1999. Screening of plants used by South African traditional healers in the treatment of dysmenorrhoea for prostaglandin synthesis inhibitors and uterine relaxing activity. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.64 (1), pp 9-14.
- **Lullmann H., Klaus M., Albretch Z.**,2001. Altals de poche de pharmacologie.2<sup>ème</sup> édition : Flammarion P :387.
- **Mahmoudi Y.**, El bachaer les plantes les plus utilisés en Algérie.P :67.
- **Matkowski,A Piotrwska,M.**, 2006.Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the lamiaceae.Fitoterapia, 246-353.
- **Maatoug. H.**, 1990. Nos plantes médicinales. Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie.
- **Mastelic.**, 2001 . J.Flavour fragr.J..16-
- **Messeghé.M.**, 1975. Mon herbier de santé. LAFFONT Paris P 278.
- **Meyer A, Deiana J.Bernard A.**, 2004. Biosciences and technique.Cours de microbiologie générale.2<sup>ème</sup> édition. PP : 321, 322.
- **Michelline M.**, 2009. Etude phytochimique de quelques lamiaceae du Burkina Faso Université Ouagadougou.

- **Miladinovic M, L J.**, 2000. Antimicrobial activity of essential oils of sage from Serbia. *Physics, Chemistry and Technology* Vol. 2, No 2. pp. 97 – 100. Pace L *et al.*
- **Miller L.C et Tainter M.T.**, 1944. Estimation of the ED50 and its error by means of logarithmic-probit graph paper, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 57, pp 261-264.
- **Miller R.E, MC Conville.M.J.**, 2006. Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rain forest tree *clerodendrum gray* (Lamiaceae). *Phytochemistry* ; Vol.67 ; PP43-51.
- **Millet, Y., Tognetti, P., Lavaire-Perlovisi, M., Steinmetz, M.D., Arditi, J., Jouglard, J.**, 1979. Experimental study of the toxic convulsant properties of commercial preparations of essences of sage and hyssop. *Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin*, 9 (1), 12–18.
- **Mimica et Duckie , N , B et al.**, 2006. Characterization of the volatil composition of oil essential of some Lamiaceae and antioxydant activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54 :1822-1828.
- **Mimica et Duckie, N, B et al.**, 2003. Antimicrobial and antioxydant activities of *Melissa officinalis* (Lamiaceae).
- **Molfgang. H.**, 2008. 350 plantes médicinales. Delachaux et Niestlé. P 152.
- **Moyse.RR, H.**, 1976. Précis de matière médicale : pharmagnosie générale, pharmacognosie spécial : schizophytes (bactéries), Actinmoycétales, thallophytes, ptéridophyte, spermatophytes. Ed : Masson. Paris.
- **Ndiaye M, SY Gy, Dièye AM, Touré MT, Faye B.**, 2006. Evaluation of anti-inflammatory activity of the leaves of *annona reticulata* (annonaceae) in the rat-paw oedema induced by carrageenin. *Pham. Méd. Trad. Afr.*, Vol. XIV, pp. 179-186.
- **Nissen, S.E., Wolski, K.**, 2007. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes, *N. Engl. J. Med.* 356: 2457–2471.
- **Nostro.A., Germano.M.P., Marino.A.**, 2000. Extraction methods and biotography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en microbiologie* 30(5), P379.
- **Ollier C.**, 2000. Conseil en phytothérapie, pro-officina. ed. Groupe liaison SA.
- **Pack J.Bot** .Antioxydants attributes of four lamiaceae essentials oils.
- **Pereda-Miranda, R., Hernández L. and López, R.**, 1992. A Novel Antimicrobial Abietanetype Diterpene from *Salvia albocaerulea*. *Planta Med.*, 58, 223–224.

- **Peyron L & Naves Y.R.**, 1977. Lexique des termes et expressions utilisées dans les industries des matières premières aromatiques. (Les huiles essentielles). Rivista italiana. E.P.P.O.S. 59 : 550-564.
- **Pharmacopée européenne.**, 2001. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), troisième addendum de la troisième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2006. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), cinquième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2007. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), tome 1, sixième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2008. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), sixième édition. Tome 1 Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Quezel.P et Santa.S**, 1963., Nouvelle flore d'Algérie et des régions méridionale. Centre National de la recherche Scientifique.
- **Raccah D.**,2004. Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 1(1): 29-42.
- **Rakeshi S, Patil P et Salunkhe V.**, 2010.Free radical scavenging activity of hydroalcoholic extracts of dried flowers of *Nymphaea stellata* Willd. International Journal of pharma and Bio Sciences Vol 1 (2).
- **Rhayour.K.**,2002.Etude de du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- **Roulier.G.**, 1992. Les huiles esentielles pour votre santé.Traité pratique d'aromathérapie:Propriétés et indication thérapeutiques des essences de plantes.Dangles.France,
- **Rubain. M., Messalin. J-P.**,1990. Guide pratique de phytothérapie et d'homéopathie. Ellipes marketing.
- **Sallé.J .**,1991. Les huiles essentielles. Frison- Roche Paris. 19, 25.
- **Schauenberg P, Ferdinaud P.**, 1977.Guide des plantes médicinales analyse, description et utilisation de 400 plantes.Delachaux et niestlé Paris.

- **Schnaubelt K.**, 1998. Advanced Aromatherapy. Vermont: Healing Arts Press.
- **Simpson, William T.**, 1999. Drying and control of moisture content and dimensional changes. Madison Forest products laboratory, 463.
- **Silou T, Malanda, Loukaki L.**, 2004. Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbogon citratus* grâce à un factoriel complet. Journal of Food Engineering. Vol 65 ; PP 219-223.
- **Sijelmassi A.** 2008., Les plantes médicinales du Maroc. Fennec. P285.
- **Svoboda K, P et Hampson J,B.**, 1999. Bioactivity of essential oils of selected aromatic plants : antioxydant, anti inflammatoire and other related pharmacological activities. Plants biologie Departement. Scotland UK ; KA6 SHW.
- **Teixeira de Silva J,A.,** 2004. Mining the essential oils of the mideae. African Journal of Biotéchnology, 3(12), 706.
- **Teusher.E, Robert A. et Lobstein.A.**, 2005. Plantes aromatique, épices, aromates, condiments et huile essentielle. TEC&DOC Paris P : 444, 447.
- **Trében, M.**, 1985. La santé à la pharmacie du bon dieu. Ennsthaler. P 114.
- **Twidwell, E.K, wagner, Thiex Nancy J.**, 2002. Use a microwave oven to determine moisture content of forages.
- **Ulubelen, A., Sönmez, U., Gülacti, T., Johansson, C.B.**, 1996. An abietane diterpene and two phenolics from *Salvia forskahlei*. *Phytochemistry*, 42 (1), 145–147.
- **Wang, M.f et al.**, 2008. Chemistry and antioxydative factors in rosemary and sage. *Biofactors* 13:161-166.
- **Wichli.M, et Anton.R.**, 2003. Plantes thérapeutique: traditions, pratiques, officinales, Tec et Doc. 692.
  
- **Yousef, R.T. and Tawil, G.G.**, 1980. Antimicrobial activity of volatile oils. *Pharmazie*, 1980, 35, 698–701.
  
- **Yves rocher.**, 1976. 100 plantes 1000 usages. Marabout Paris p 240.
  
- **Zhiri A.**, 2006. Ntaranews, science, nutrition, prévention et santé.

**Matériel non biologique :**

**Verreries et accessoires :**

Pipette pasteur

Eprouvette

Boites de Petrie

Clevenger

Ballons (2000ml)

Bêcher

Coton

Embouts

Fioles (50 – 125 -1000ml)

Gants

Micropipettes automatiques (20µl - 1000µl)

Papier aluminium

Seringues sans aiguilles (2ml)

Tubes à essais

**Appareillages :**

Agitateur vibrax

Balance pour animaux

Balance de précision

Centrifugeuse C-40

Réfrigérant

Spectromètre de masse UV- VIS

Hotte

Bain marie

Pied à coulisse

Etuve

Bec benzen

**Réactifs et solution :**

Eau distillé

Ethanol

Acide sulfurique

Acide chlorhydrique

Carragène à 1%

Diclofénac

Réactif de Dragendorff

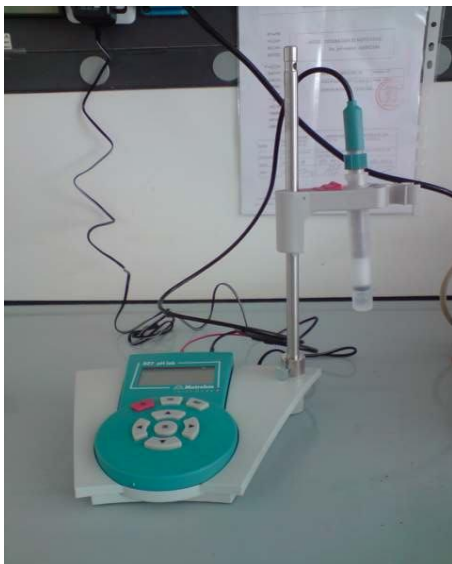
Réactif de glucose



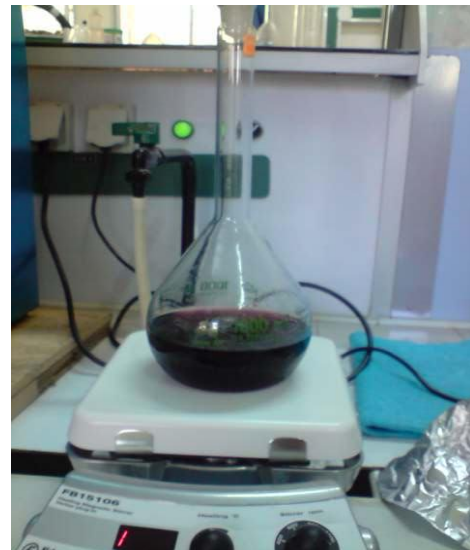
**Figure 5** : Balance de précision (original, 2013)



**Figure 8** : Réfractomètre (original, 2013)



**Figure 9** : Ph mètre.



**Figure 10** : La solution de DPPH.





**Figure 12** : Centrifugeuse (original, 2013)



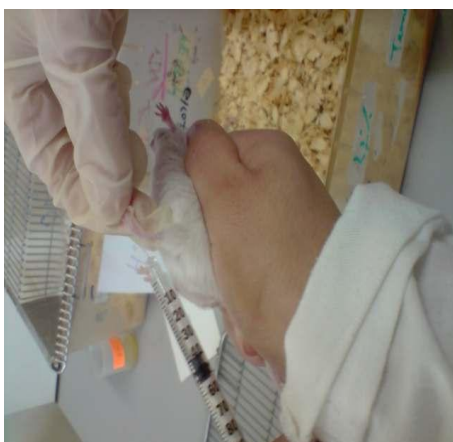
**Figure 11** Spectromètre UV-VIS (original, 2013)



**Figure 13** : Gavage des souris.



**Figure 16** : Mesure de la patte



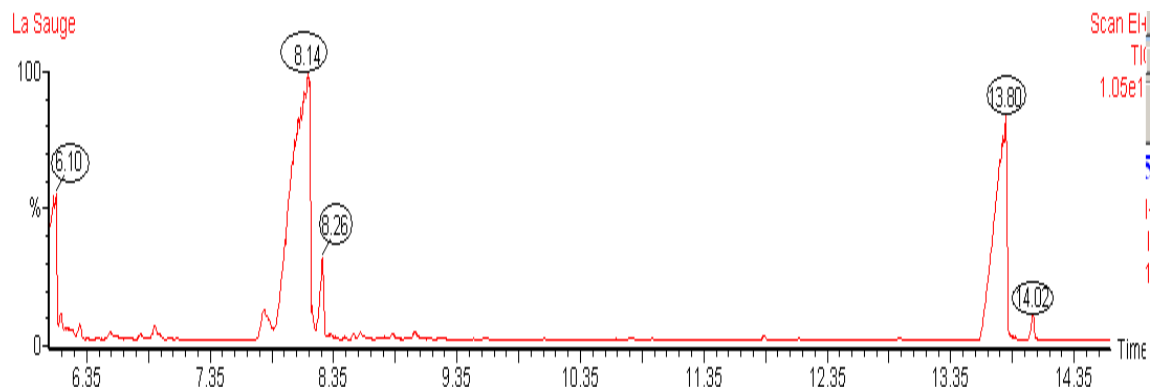
**Figure 15** : Injection de la carragénine.



**Figure 17** : Glucomètre.

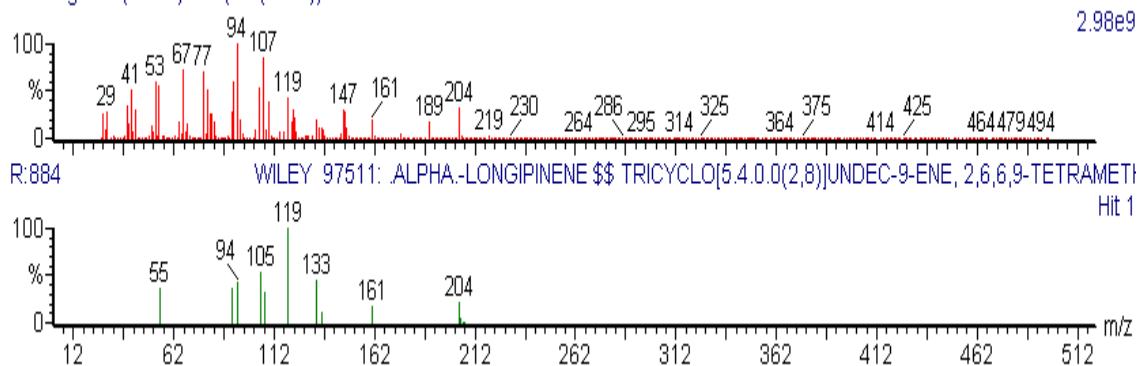
Analyse de l'échantillon effectuée par chromatographie en phase gazeuse  
Couplée à la spectrométrie de masse GC/MS

Chromatogramme de l'échantillon



Spectre du pic à temps de rétention (RT) égal a 6.10 mn.

La Sauge 19 (6.096) Cm (19-(23+2))

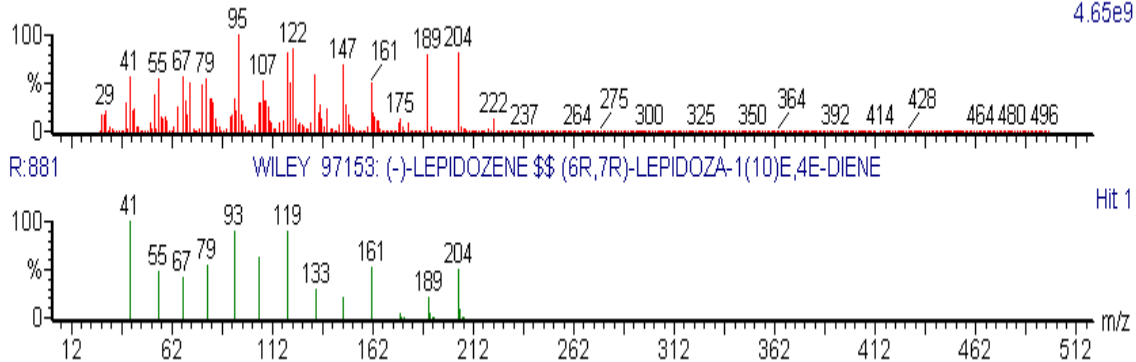


Identification du pic à TR= 6.10 mn par les bibliothèques du GC/MS

Hit	REV	Compound Name	Formula	M.W.
1	884	ALPHA-LONGIPINENE \$\$ TRICYCLO[5.4.0.0(2,8)]UNDEC-9-ENE, 2,6,6,9-TETR	C15H24	204
2	855	7-(1,2-BUTADIENYL)BICYCLO[2.2.1]HEPTANE	C11H16	148
3	839	(1.ALPHA.,4.ALPHA.,4A.BETA.,5.ALPHA.,8A.BETA.)-DECAHYDRO-1,4,8A-TRIMET	C15H24	204
4	839	(1AR,4AS,7R,7AR,7BS)-1A,2,4A,5,6,7,7A,7B-OCTAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETHY	C15H24	204
5	836	1-ALLYL-7-METHYLTRICYCLO[4.1.0.0(2,7)]HEPTANE	C11H16	148

**Spectre du pic à temp de rétention (RT) égal à 8.14 mn.**

La Sauge 423 (8.141) Cm (423-(435+366))

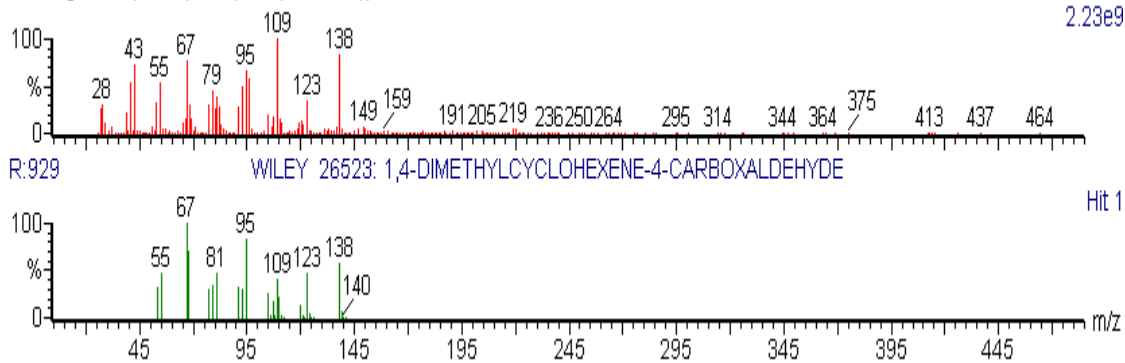


**Identification du pic à TR= 8.14 mn par les bibliotheques du GC/MS**

Hit	REV	Compound Name	Formula	M.W.
1	881	(-)-LEPIDOZENE \$\$ (6R,7R)-LEPIDOZA-1(10)E,4E-DIENE	C15H24	204
2	879	.DELTA-GURJUNENE	C15H24	204
3	868	4-METHYL-1-(3',3'-DIMETHYLBICYCLO[2.2.1]HEPT-2-YLIDENE)PENT-2-ENE	C15H24	204
4	862	SPIRO[5.5]UNDEC-2-ENE, 3,7,7-TRIMETHYL-11-METHYLENE-, (+,-)- (CAS) \$\$ (	C15H24	204
5	854	.ALPHA-GUAIENE	C15H24	204

**Spectre du pic à temp de rétention (RT) égal a 8.26 mn.**

La Sauge 446 (8.257) Cm (446-(451+436))

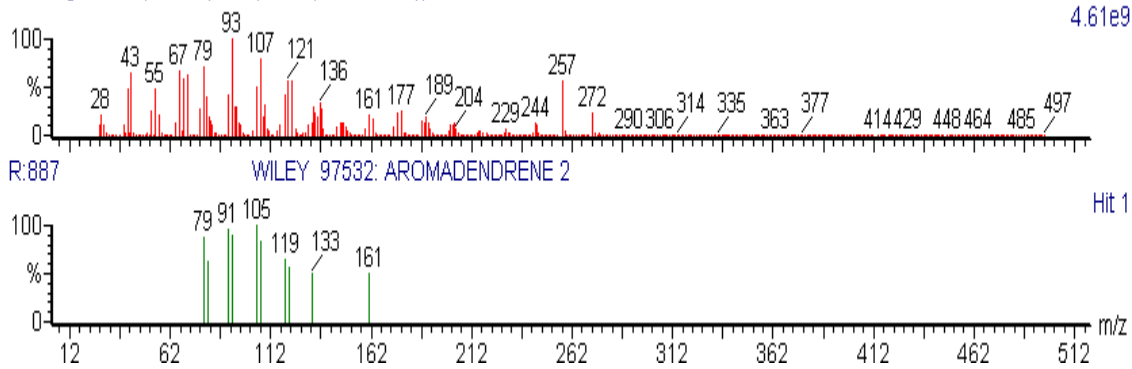


**Identification du pic à TR= 8.26 mn par les bibliothèques du GC/MS**

Hit	REV	Compound Name	Formula	M.W.
1	929	1,4-DIMETHYLCYCLOHEXENE-4-CARBOXALDEHYDE	C9H14O	138
2	924	1,5-DIMETHYLCYCLOHEXENE-5-CARBOXALDEHYDE	C9H14O	138
3	912	2-BUTYL-2-CYCLOPENTEN-1-ONE	C9H14O	138
4	908	1-METHYL-5-ACETYLCYCLOHEXENE	C9H14O	138
5	903	4-HYDROXY-7.8-DIHYDRO-.BETA-IONOL	C13H24O2	212

Spectre du pic à temp de rétention (RT) égal à 13.80 mn.

La Sauge 1540 (13.793) Cm (1540-(1549+1493))

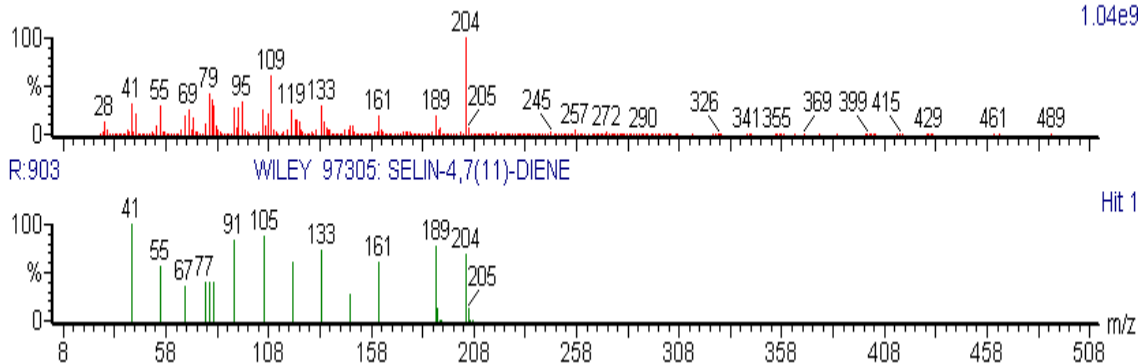


Identification du pic à TR= 13.80 mn par les bibliothèques du GC/MS

Hit	REV	Compound Name	Formula	M.W.
1	887	AROMADENDRENE 2	C15H24	204
2	859	.BETA-SANTALOL \$\$ SANTALOL	C15H24O	220
3	854	.ALPHA-FARNESENE	C15H24	204
4	847	(R)-(-)-CEMBRENE	C20H32	272
5	839	P-MENTH-1-EN-9-OL \$\$ 3-CYCLOHEXENE-1-ETHANOL, BETA-,4-DIMETHYL-	C10H18O	154

Spectre du pic à temp de rétention (RT) égal à 14.02 mn.

La Sauge 1584 (14.016) Cm (1584-(1590+1575))



Identification du pic à TR= 14.02 mn par les bibliothèques du GC/MS

Hit	REV	Compound Name	Formula	M.W.
1	903	SELIN-4,7(11)-DIENE	C15H24	204
2	902	EXO-5-ISOPROPENYL-2-METHYLTRICYCLO(4.4.0.0**2,8)DECAN-7-ONE	C14H20O	204
3	898	(-)-.ALPHA-SELINENE	C15H24	204
4	888	(2-METHYLCYCLOPENT-1-ENYL)(4,4-DIMETHYL-3-OXOCYCLOPENT-1-ENYL)	C14H20O	204
5	885	LONGIBORN-9-ENE	C15H24	204

**Figure 18** : Résultats de l'analyse de la composition chimique de l'HE par CG/MS.





### *Annexe III*

**Tableau XIII** : Résultat de l'effet anti-inflammatoire à la dose de 2%.

	N° souris	t=0	carragénine	t=30min	t=60mi n	t=90mi n	t=120 min	t=150min	t=180min	t=210m in
HE à 2%	souris n°1	2,8	3	2,9	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
	souris n°2	2,7	2,9	2,8	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°3	2,7	2,9	2,8	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°4	2,6	2,9	2,7	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
	souris n°5	2,7	2,9	2,8	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°6	2,7	3,1	2,8	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7

**Tableau XIV** : Résultats de l'effet anti-inflammatoire à la dose 4%.

	N° souris	t=0	carragéine	t= 30min	t= 60min	t= 90min	t= 120min	t= 150min	t= 180min	t= 210min
HE à 4%	souris n°1	2,7	3	2,9	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°2	2,5	2,8	2,6	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
	souris n°3	2,7	2,9	2,8	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°4	2,7	3	2,9	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	souris n°5	2,6	2,8	2,8	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
	souris n°6	2,7	2,9	2,9	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7

### Annexe III

**Tableau XV :** Résultats statistiques de l'activité anti-inflammatoire.

Tests Univariés de Significativité pour Var4 (Feuille de données8) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	213,6067	1	213,6067	6927,784	0,000000
"Var5"	1,5367	3	0,5122	16,613	0,000012
Erreur	0,6167	20	0,0308		

Test de Dunnett ; variable Var4 (Feuille de données8) Probabilités pour les Tests Post Hoc (bilatéral) Erreur : MC Inter = ,03083, dl = 20,000		
Cellule N°	Var5	{3} 3,4167
1	HE 2%	0,000023
2	HE 4%	0,000031
3	E,PHISIO	
4	DICLO	0,000163

**Tableau XVI :** Résultats obtenues de l'activité hypoglycémiante.

	Avant glucose t= 0(a jeun)	glucose t=15min	Après glucose t= 30min	t= 60 min	t= 90min	t=120	t=180
1- glucose	1,29	1,04	1,3	1,45	1,5	1,18	1,21
	1,29	1,34	1,33	1,44	1,48	1,15	1,2
2- HE 5%	1,5	1,7	1,9	1,81	1,75	1,43	1,5
	1,13	1,29	1,21	1,19	1,14	1,05	1,79
3- HE 2,5%	1,2	1,31	1,3	1,2	1,07	1,1	1,28
	1,13	1,08	1,1	1	0,99	0,94	1,14
Daonil 5mg glibenclamide	1,52	1.36	1,24	1,10	0,86	(gavage) 1.14	1
	1,2	1.10	1.15	1,12	0,9	(gavage) 1	0.75
HV	1,1	1,19	1,19	1,16	1,23	1,13	1,15
	1,45	1,5	1,92	1,86	1,88	1,83	1,8



❖ **Préparation de la solution de DPPH :**

Le DPPH est solubilisé dans l'éthanol à raison de 4mg / 100ml, sous agitation magnétique pendant 3heures à température ambiante. [Fig10]

❖ **Préparation de la solution  $\beta$ - carotène :**

L'émulsion de l'acide linoléique est au préalable préparée comme suit :

0.5mg de  $\beta$ - carotène mélangée avec 1ml de  $\text{CHCl}_3$  + 25  $\mu\text{l}$  d'acide linoléique+ 200mg de tween 40, évaporation complète de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  à 40°C dans l'eau distillée saturée en oxygène, bien couvrir le mélange finale avec un papier aluminium(car la  $\beta$ - carotène est facilement dégradée avec la lumière).

❖ **Préparation des solutions pour la méthode FRAP :**

**TCA 10% :** 10g de poudre dans 100ml d'eau distillée.

**Solution Tampon (Ph = 6.6) :**  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $\text{Na}_2\text{PO}_4$ .

**$\text{FeCl}_3$  2% :** 0.41663g de poudre dans 250ml d'eau distillée (laisser la solution à l'abri de la lumière, car le  $\text{FeCl}_3$  est dégradé au contact de la lumière).

**$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  :** 1g de poudre dans 100 ml d'eau distillée.

❖ **Préparation de la solution sucrée :**

L'épreuve hyperglycémiant a été réalisée également par l'utilisation d'une solution aqueuse de  $\text{D}^+$  monohydrates pure ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) pour la préparation de cette solution nous avons dissout 50g de glucose dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir une solution aqueuse à 50% (Keita et al, 1998).

❖ **Préparation des milieux de culture :**

1. Mueller-HINTON gélosé (M-H) : (g/l) :

-Infusion de viande de bœuf .....0, 2g

-Hydrolysate acide de caséine.....17, 5g

-Amidon

## Annexe II

-Agar

pH=7,4

Autoclaver pendant 15min à 115°C.

2. Sabouraud gélosé simple (SAB) : (g/l) :

-Néopeptone.....10g

-Glucose.....20g

-Agar.....20g

pH=5-5,6

Autoclaver pendant 15min à 115°C

❖ **Préparation des dilutions pour :**

**Etude de la toxicité :**

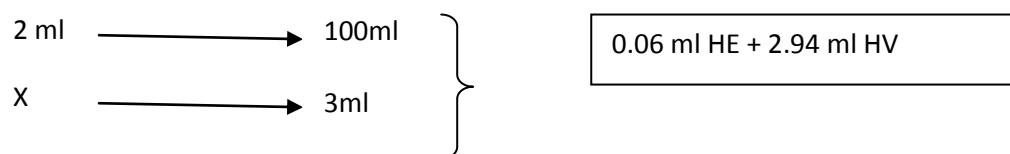
• A la dose 10%:		Après ajustement:
10ml	→ 100ml	} <span style="border: 1px solid black; padding: 5px;">0.2 ml HE + 1.80 ml HV</span>
X	→ 2ml	
• A la dose 20%:		
20ml	→ 100ml	} <span style="border: 1px solid black; padding: 5px;">0.4ml HE + 1.6 ml HV</span>
X	→ 2ml	
• A la dose 30%:		
30ml	→ 100ml	} <span style="border: 1px solid black; padding: 5px;">0.6 ml HE + 1.4 ml HV</span>
X	→ 2ml	
• A la dose 40%:		
40ml	→ 100ml	} <span style="border: 1px solid black; padding: 5px;">0.8 ml HE + 1.2ml HV</span>
X	→ 2ml	

## Annexe II

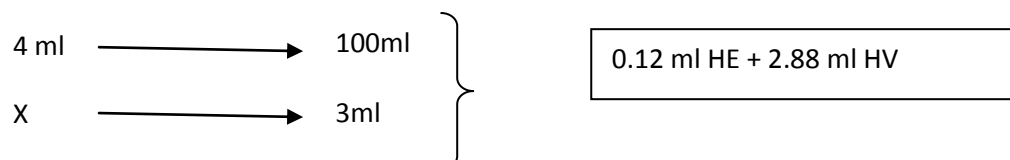
---

### Etude de l'activité anti-inflammatoire:

- A la dose 2%:

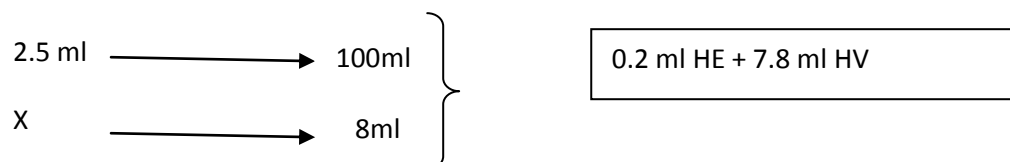


- A la dose 4%:

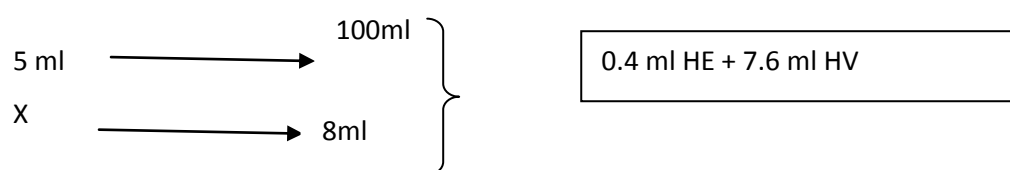


### Etude de l'activité hypoglycémiante:

- A la dose 2.5%:



- A la dose 5% :



HE : huile essentielle.

HV : huile végétale.