

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques**

Département de biologie

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

Spécialité : biotechnologie végétale

### **CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DE** *Salvia officinalis* L. ET *Salvia chudaei* Batt & Trab **ETUDE DE LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES**

Par

**Sabrina DIF**

Devant le jury composé de :

Dr M.S HAMAIDI	Maitre de conférences A, Université de Blida	Président
Dr C. CHAOUIA	Maitre de Conférences B, Université de Blida	Examineur
Dr A. BERBER	Maitre de conférences A, Université de Blida	Examineur
Dr M. ABDUL HUSSAIN	Maitre de conférences A, Université de Blida	Rapporteur
Pr F. SAIDI	Professeur, Université de Blida	Co-Promoteur

Blida, Avril 2011

## RESUME

Notre travail porte sur la caractérisation biochimique de *Salvia officinalis* L. et *Salvia chudaei* Batt & Trab et l'étude de leurs activités biologiques notamment leurs effet antimicrobien, anti-inflammatoire, cicatrisant et anti oxydant.

L'étude phytochimique des extraits méthanoliques a permis de déterminer leurs teneurs en poly-saccharides (0.25% - 0.38%) et en composés phénoliques (14.34% - 21.44%) notamment les flavonoïdes, les flavonols et les tanins.

L'analyse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par CG/MS a révélé la présence de 29 composés avec une prédominance du camphre( 22.32%), du 1,8-cinéole(10.55%) , du l' $\alpha$ -thujone (14.06%), en revanche l'analyse de l'huile essentielle de *Salvia chudaei* Batt & Trab a donné 35 composés dont les composés majoritaires sont : l'isodène(20.36%), le guaiol (10.26%), l'azulène(8.43%) et l'acétate de bornyle(11.37%).

Les extraits méthanoliques des deux espèces présentent un effet cicatrisant moyen, un pouvoir antimicrobien modéré, un bon effet anti inflammatoire et de puissantes propriétés anti oxydantes.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. possède un meilleur pouvoir anti microbien et cicatrisant en comparaison avec celui de *Salvia chudaei* Batt & Trab.

Les deux huiles essentielles montrent un faible pouvoir anti inflammatoire et un effet anti oxydant modéré.

**Mots clés :** *Salvia chudaei* Batt & Trab ; *Salvia officinalis* L. ; huile essentielle ; extrait méthanolique ; antimicrobien ; anti inflammatoire ; cicatrisant ; antioxydant.

## SUMMURY

The purpose of our search is the biochemical characterization of both *Salvia officinalis* L. and *Salvia chudaei* Batt & Trab, and the study of their biological activities including the antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and wound healing effect.

Phytochemical investigation of *Salvia's* methanolic extracts result in the determination of their content of polysaccharides, phenolics such as flavonoids, flavonols, and tannin.

Essential oil isolated from *Salvia officinalis* L. was analyzed by CG/MS and 29 compounds are identified: Camphor, 1, 8-cineol and  $\alpha$ -thylene are the main components.

Analyse of *Salvia chudaei's* essential oil result in the identification of 35 compounds with : isosolene, guaiane, azulene and borneol acetate as the major constituents.

The methanolic extracts show a slight antibacterial effect, a good anti-inflammatory activity and a strong antioxidant capability. Both of them don't have any effect on healing process.

*Salvia's* essential oil show a moderate antioxidant potential and a slight anti-inflammatory activity whereas essential oil from *Salvia officinalis* L. exhibit the strongest antibacterial and wound healing effect then *Salvia chudaei* Batt & Trab .

**Key words:** *Salvia officinalis* L.; *Salvia chudaei* Batt & Trab; essential oil; methanolic extract; antibacterial ; anti-inflammatory ; wound healing; antioxidant.

## REMERCEMENTS

Au moment de présenter ce travail, il m'est infiniment agréable d'adresser mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à son accomplissement.

Tout d'abord, Je tiens à remercier ma promotrice Madame ABDUL HUSSEINE, qui m'a dirigé tout au long de ce travail, pour ses conseils, sa confiance et pour ses directives les plus précieuses.

Ma co-promotrice Madame SAIDI pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses conseils.

J'exprime ma reconnaissance et mes sincères remerciements à :

Mr HAMAIDI. MS, qui nous a fait l'honneur d'assurer la présidence du jury.

Mr BERBER. A et Mme CHAOUIA.C, d'avoir accepté d'examiner ce Travail.

Mes plus vifs remerciements vont aussi à Mr BOUTOUMI.H pour son soutien, son aide et sa disponibilité, à l'ensemble du personnel du laboratoire d'analyse du CHU de Boufarik et à Mme OUDJEDI du CRD de Sonatrach.

Je tiens également à remercier :

M<sup>elle</sup> EL KECHAI Rachida pour son précieuse aide et soutien, qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des ingénieurs des laboratoires de recherche de biologie végétale et pédagogique du département de biologie.

## TABLE DES MATIERES

RESUME	
SUMMURY	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	
INTRODUCTION .....	14
SYNTHESE BIBLIOGRQPHIQUE.....	16
1. Etude des plantes .....	16
2. Métabolites secondaires.....	22
3. Réaction inflammatoire.....	29
4. Cicatrisation.....	32
5. Stress oxydatif.....	34
MATERIELS ET METHODES.....	39
1. Matériel.....	39
2. Méthodes.....	40
2.1. Etude macroscopique.....	40
2.2. Etude microscopique.....	41
2.3. Etude phytochimique.....	41
2.4. Etude des composés actifs des deux espèces.....	43
2.5. Etude des activités biologiques des deux espèces.....	48

2.5.1. Etude de l'activité antimicrobienne.....	48
2.5.2. Etude de l'activité anti inflammatoire locale.....	49
2.5.3. Etude de l'activité anti oxydante.....	51
2.5.4. Etude de l'activité cicatrisante.....	53

RESULTATS ET DISCUSSION ..... 56

3.1. Résultats de l'étude macroscopique et microscopique.....	56
---	----

3.2. Résultats de l'étude phytochimique.....	67
--	----

3.3. Résultats de l'étude des activités biologiques.....	86
--	----

3.3.1. Activité antimicrobienne.....	86
--------------------------------------	----

3.3.2. Activité anti inflammatoire.....	93
---	----

3.3.3. Activité anti oxydante.....	96
------------------------------------	----

3.3.4. Activité cicatrisante.....	112
-----------------------------------	-----

CONCLUSION GENERALE ..... 116

REFERENCES

APPENDICES

A. Liste des abréviations

B. Structures chimiques des hydrocarbures mono terpéniques

C. Structures chimiques des aldéhydes et alcools mono terpéniques

D. Structures chimiques des cétones et époxydes mono terpéniques

E. Structures chimiques des alcools sesquiterpéniques

F. Structures chimiques de quelques composés de l'huile essentielle de *Salvia sp*

I. Structures chimiques de quelques flavonoïdes isolées de *Salvia sp*

J. Matériels non biologiques

K. Etude statistique

L. Glossaire

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1.1 : Classification des composés phénoliques	18
Tableau 1.2 : Cellules de l'inflammation	24
Tableau 2.1 : Paramètres de la cicatrisation	55
Tableau 3.1 : Taux d'humidité de <i>Salvia officinalis</i> et <i>Salvia chudaei</i>	68
Tableau 3.2 : Taux des cendres totales de <i>Salvia officinalis</i> et <i>Salvia chudaei</i>	68
Tableau 3.3 : Résultats du screening phytochimique	69
Tableau 3.4 : Rendement en composés non volatils	70
Tableau 3.5 : Taux des métabolites secondaire exprimés en mg d'étalon/g d'extrait	74
Tableau 3.6 : Teneur en composés phénoliques chez quelques espèces du genre <i>Salvia</i>	76
Tableau 3.7 : Caractères organoleptiques des huiles essentielles obtenues	77
Tableau 3.8 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	80

Tableau 3.9 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> récoltée dans différentes régions	82
Tableau 3.10 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia chudaei</i>	85
Tableau 3.11 : Résultats de l'activité anti microbienne des deux espèces	87
Tableau 3.12 : Résultats des l'activité anti inflammatoire	94
Tableau 3.13 : Capacité anti oxydante totale exprimée en µg/ml équivalent d'acide ascorbique	98
Tableau 3.14 : Pouvoir chélateur.	99
Tableau 3.15 : Pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH	102
Tableau 3.16 : EC <sub>50</sub> des deux espèces en mg/ml	107
Tableau 3.17 : EC <sub>50</sub> de quelques espèces du genre <i>Salvia</i>	108
Tableau 3.18 : Pourcentage d'inhibition de peroxydation d'acide linoléique	110
Figure 1.1 : Plante de <i>Salvia officinalis</i>	17
Figure 1.2 : Fruit de <i>Salvia officinalis</i>	18
Figure 1.3 : Plante de <i>Salvia chudaei Batt et Trab</i>	20
Figure 1.4 : Feuilles de <i>Salvia chudaei Batt et Trab</i>	21
Figure 1.3 : Fleurs de <i>Salvia chudaei Batt et Trab</i>	21



Figure 1.4 : Structure de base des flavonoïdes	24
Figure 1.5 : Appareils sécréteurs des huiles essentielles	27
Figure 1.6 : Chronologie de la cicatrisation	34
Figure 1.7 : Structure chimique de quelques acides phénoliques	38
Figure 3.1 : Surface de la tige de <i>Salvia officinalis</i>	56
Figure 3.2 : Limbe des feuilles de <i>Salvia officinali</i>	57
Figure 3.3 : Bord crénelé du limbe de <i>Salvia officinalis</i>	57
Figure 3.4 : Nervures saillantes sur la face inferieur du limbe de <i>Salvia officinalis</i>	57
Figure 3.5 : Face supérieur des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	58
Figure 3.6 : Face inferieur des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	58
Figure 3.7 : Corolle de <i>Salvia officinalis</i>	58
Figure 3.8 : Etamines de <i>Salvia officinalis</i>	59
Figure 3.9 : Ovaire de <i>Salvia officinalis</i>	59
Figure 3.10 : Carpelle de <i>Salvia officinalis</i>	60
Figure 3.11 : Touffe de poils des fleurs de <i>Salvia officinalis</i>	60
Figure 3.12 : Coupe transversale de la tige de <i>Salvia officinalis</i> vue au MP : GX10	61

Figure 3.13 : Coupe transversale de la tige de <i>Salvia officinalis</i> vue au MP : GX40	
zone périphérique	61
Figure 3.14 : Coupe transversale de la tige de <i>Salvia officinalis</i> vue au MP : GX40	
zone centrale	62
Figure 3.15 : Coupe transversale de la tige de <i>Salvia chudaei</i> vue au MP : GX10	63
Figure 3.16 : Coupe transversale de la tige de <i>Salvia chudaei</i> vue au MP : GX40	63
Figure 3.17 : Tissus conducteurs de <i>Salvia chudaei</i>	64
Figure 3.18 : Parenchyme médullaire de <i>Salvia chudaei</i>	64
Figure 3.19 : Poils tecteurs de la tige de <i>Salvia officinalis</i>	65
Figure 3.20 : Poils tecteurs de la tige de <i>Salvia chudaei</i>	65
Figure 3.21 : Différents types de poils de <i>Salvia chudaei</i>	65
Figure 3.22 : Poils glandulaires	66
Figure 3.23 : Poils sécréteurs sessiles	67
Figure 3.24 : Spectre UV-visible de l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	71
Figure 3.25 : Pics détectés et leurs absorbances	71
Figure 3.26 : Spectre UV-visible de l'extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	72
Figure 3.27 : Pics détectés et leurs absorbances	72

Figure 3.28 : Courbe d'étalonnage des polysaccharides	73
Figure 3.29 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	73
Figure 3.30 : Courbe d'étalonnage des poly phénols totaux	73
Figure 3.31 : Courbe d'étalonnage des flavonols	73
Figure 3.32 : Courbe d'étalonnage des tanins	74
Figure 3.33 : Teneur en composés phénoliques	75
Figure 3.34 : Taux des polysaccharides totaux	75
Figure 3.35 : Profil chromatographique de <i>Salvia officinalis</i>	79
Figure 3.36 : Profil chromatographique de <i>Salvia chudaei</i>	84
Figure 3.37 : Résultats de l'activité anti microbienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .	89
Figure 3.38 : Résultats de l'activité anti microbienne de l'huile essentielle de <i>Salvia chudaei</i> .	90
Figure 3.39 : Résultats de l'activité anti microbienne de l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i> .	91
Figure 3.40 : Résultats de l'activité anti microbienne de l'extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	92
Figure 3.41 : Réduction du poids d'œdème exprimée en mg±SEM	94

Figure 3.42 : Pourcentage d'inhibition d'œdème	95
Figure 3.43 : Capacité anti oxydante totale	97
Figure 3.44 : Pouvoir chélateur des extraits méthanoliques	100
Figure 3.45 : Pouvoir chélateur des huiles essentielles	100
Figure 3.46 : Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	103
Figure 3.47 : Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	103
Figure 3.48 : Activité anti radicalaire des standards	104
Figure 3.49 : Activité anti oxydante de l'extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	105
Figure 3.50 : Activité anti oxydante de l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	105
Figure 3.51 : Activité anti radicalaire des huiles essentielles	106
Figure 3.52 : Activité anti peroxydase des deux espèces	109
Figure 3.53 : Cicatrisation des plaies traitées par l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	112
Figure 3.54 : Cicatrisation des plaies traitées par le Madécassol ®	112
Figure 3.55 : Cicatrisation des plaies traitées par l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	112

Figure 3.56 : Cicatrisation des plaies traitées par l'huile essentielle de <i>Salvia chudaei</i>	113
Figure 3.57 : Cicatrisation des plaies traitées par l'extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	113
Figure 3.58 : Cicatrisation des plaies traitées par l'excipient seulement	113
Figure 3.59 : Evolution de la cicatrisation des plaies en fonction du temps	114

## INTRODUCTION

Le succès de la phytothérapie s'explique par la qualité des produits et le niveau de maîtrise technique et scientifique atteint dans ce domaine. L'agronomie, la chimie, la biotechnologie et la pharmacie ont permis en progressant de mettre au point des formes thérapeutiques plus sûres, plus adaptées et toujours plus efficaces [01].

L'Algérie, grâce à son climat diversifié présente une flore très riche et diverse. Elle renferme un nombre assez important de plantes à caractères thérapeutiques.

Parmi ces plantes nous nous sommes intéressés à deux espèces appartenant au genre *Salvia* : *Salvia officinalis* originaire des régions méditerranéennes et *Salvia chudaei* Batt & Trab espèce endémique du Sahara central [02], [03].

Depuis l'antiquité, les espèces du genre *Salvia* sont très bien connues et utilisées en médecine traditionnelle. Cela pour leurs effets : anti bactérien, anti tuberculose, antivirale, cytotoxique, antioxydant et hypoglycémiant.

L'investigation phytochimique de ces espèces a montré qu'elles sont très riches en huiles essentielles (plantes aromatiques), en diterpènes et aussi bien en flavonoïdes et autres composés phénoliques [01].

Bien que présente depuis longtemps dans la littérature, *Salvia chudaei* Batt & Trab n'a fait l'objet d'aucune étude. L'étude que nous entreprenons peut être considérée comme étant le premier travail qui met en évidence la composition chimique de *Salvia chudaei* Batt & Trab et ses propriétés biologiques.

L'objectif de ce travail est de déterminer et de quantifier les différents métabolites secondaires de *Salvia officinalis* L. et *Savia chudaei* Bat & Trab ainsi que la mise en évidence de certaines propriétés biologiques notamment l'activité anti-microbienne, activité anti-inflammatoire, cicatrisante et anti oxydante.

Pour cela nous avons réalisé en premier lieu :

- Une étude macroscopique et microscopique des deux espèces : *Salvia officinalis* L. et *Salvia chudaei* Batt & Trab.
- Un screening phytochimique pour révéler la présence des différents métabolites secondaires.
- une extraction des composés volatils par entrainement à la vapeur d'eau suivie d'une analyse des huiles essentielles obtenue par CG/MS qui a permis de déterminer leur composition chimique.
- Une extraction des composés non volatils par soxhlet, puis soumettre cette concrète méthanolique à une série de dosages spectro-photométriques pour déterminer son contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, tanins et polysaccharides.

Puis nous avons réalisé en deuxième lieu:

- Une étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques par la méthode de diffusion sur milieu solide.
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire locale.
- Une étude de l'activité anti oxydante en utilisant différents tests notamment :
  - Essai au phosphomolybdène.
  - Test au DPPH.
  - Test de peroxydation d'acide linoléique.
  - Pouvoir chélateur du Fer.
- Une étude de l'activité cicatrisante

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1. Etude des plantes :

#### 1.1 Historique :

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de *salvare* qui en latin signifie «sauver», il ya un dicton qui dit « qui a la sauge dans jardin, n'a pas besoin de médecin ».

La Sauge bénéficiait effectivement d'une réputation dans la Rome antique où elle était considérée comme une plante médicinale de grande valeur [01].

En Egypte, elle était probablement déjà employée 6000 ans avant J.-C. Les anciens Egyptiens faisaient boire de la sauge aux femmes pour les rendre fertiles.

Elle a vraisemblablement été cultivée pour la première fois en Grèce puis introduite en Europe centrale à partir du VIII<sup>e</sup> siècle où elle était cultivée dans les monastères et les jardins.

Dés le Moyen Âge, elle devint un véritable remède. Elle fait partie des plantes dont la culture était recommandée par Charlemagne dans l'ordonnancement rural « *Capitulare de villis* » [04].

Originnaire du pourtour méditerranéen, la sauge est maintenant acclimatée et cultivée dans toute l'Europe et en Amérique du Nord [05].

#### 1-2 Présentation de *Salvia officinalis* L.:

##### 1.2.1 Noms vernaculaires : [06], [07], [08]

Arabe : Souak en nebi.-Salma -Kheyet ledjrah.

Berbère : Agourim imeksaouen -Tazzourt

Français : Sauge commune- Thé de France.



### 1.2.2 Systématique : [09]

- Règne : végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Gamopétales.
- Ordre : Lamiales.
- Famille : Lamiacées.
- Genre : *Salvia*
- Espèce : *Salvia officinalis* L.

### 1.2.3 Etude botanique :

C'est un sous-arbrisseau buissonnant de 20 à 70 cm de haut. La plante est originaire des régions méditerranéennes. Elle est fortement ramifiée et ligneuse à la base. Les tiges blanchâtres sont couvertes de poils. Elles émettent de nombreux rameaux dressés, quadrangulaires et laineux. Ils présentent des nœuds saillants sur les quels sont insérées les feuilles. [10], [07], [06], [02].

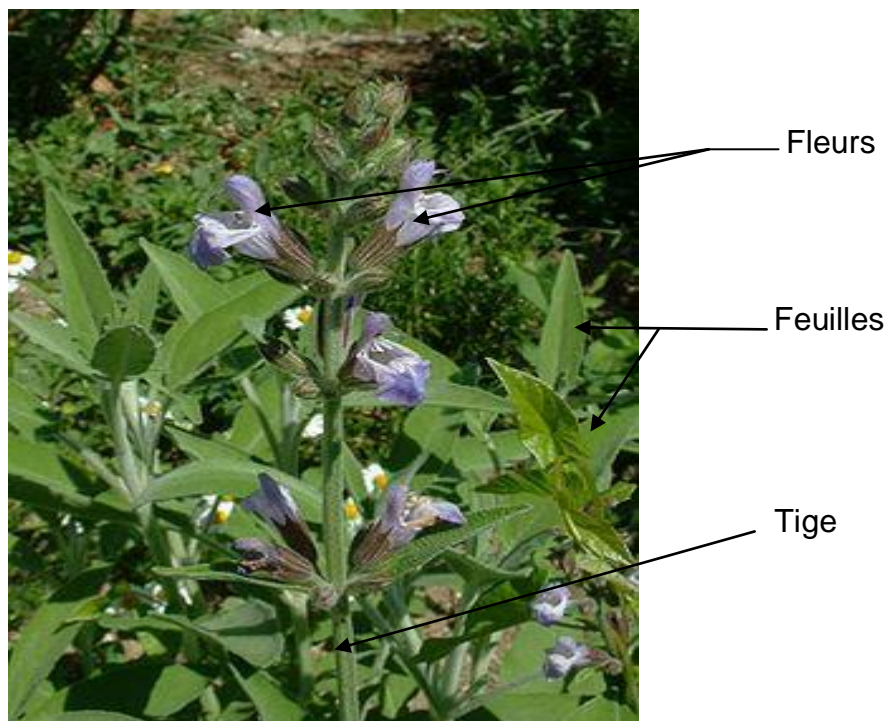


Figure1.1 : Plante de *Salvia officinalis* L. [10]

- feuille :

Les feuilles sont gris- verdâtres feutrées de 3 à 8 cm de long et 3 à 4 cm de large. Elles sont allongées, oblongues-ovales, elliptiques [11]. Le bord est finement crénelé à lisse, l'extrémité arrondie ou subaigüe. La face supérieure est gris-vert et finement granuleuse. La face inférieure est blanche, pubescente et présente un réseau dense de petites nervures proéminentes en relief [12].

- Fleur :

Les fleurs sont regroupées par 4 à 12 en une inflorescence située à l'extrémité des rameaux et constituent une cyme unipare. Elles sont zygomorphes, faiblement pédicellées. [07]

Le calice est ovale de 10 à 14 mm de long, pubescent et persistant. Il comprend cinq sépales soudés à la base puis divisés en deux lèvres. La corolle est de 2 à 3.5 cm de long (donc deux fois plus long que le calice). Les pétales sont de couleur violet claire, parfois rose ou plus ou moins blanchâtre. Elles sont tubuleuses garnies à la base d'un anneau de poils. [13]

La floraison se situe de mai à juin.

- Fruit :

Le fruit est un tétra akène lisse. Il est de couleur brun foncé ou noir. Chaque akène est de forme globuleuse. Il a un diamètre de 3 mm et renferme une seule graine ex albuminée [13]

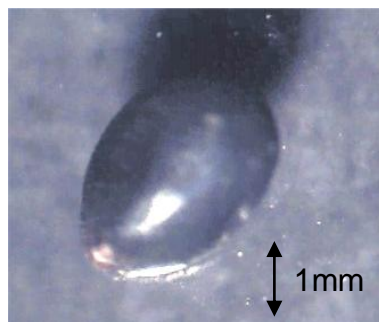


Figure 1.2 : Fruit de *Salvia officinalis* L. (original)

#### 1.2.4 Culture et récolte :

La sauge est une espèce assez rustique. Elle évolue mieux sur les terrains secs ayant un bon apport calcique, situés dans des endroits chauds, ensoleillés et protégés du vent. La sauge n'apprécie pas les sols humides et lourds, elle est

moyennement sensible au gel. Sa multiplication s'effectue par semis.

Elle est possible dès la fin du mois d'avril et s'effectue sur des rangées espacées de 25 à 60 cm.

On peut également procéder à une multiplication par bouturage, voir par division des souches. La sauge est une espèce pérenne [05].

#### 1.2.5 Propriétés et usages:

La Sauge est utilisée depuis l'antiquité. Elle jouissait des multiples propriétés suivantes : stimulante, digestive, antispasmodique, tonique, emménagogue, antihémorragique, antidiarrhéique, antisudoral [14].

En médecine traditionnelle, la sauge a des propriétés oestrogéniques. Elle est utilisée pour arrêter la lactation, en raison de ses propriétés anti-galactogènes. De nos jours, la drogue est employée comme antiphlogistique dans les inflammations buccales et pharyngées, dans les gingivites et les stomatites, mais aussi comme tisane dans les troubles digestives, les ballonnements, les colites et les diarrhées [06].

Par ailleurs, la sauge est très utilisée pour ses propriétés antioxydantes et antiseptiques. Elle retarde et/ou inhibe le rancissement des corps gras (d'où son emploi bien connu en charcuterie) [15].

Enfin, la sauge est astringente, cicatrisante et réhydratante et trouve des applications en cosmétologie [01].

### 1.3 Présentation de l'espèce *Salvia chudaei* Batt & Trab:

#### 1.3.1 Noms vernaculaires : [16], [17]

Arabe : Tagrouft

Tamahaq : Aouit

Français : la sauge du Sahara.

### 1.3.2 Systématique : [09]

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Gamopétales
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiacées
- Genre : *Salvia*
- Espèce : *Salvia chudaei* Batt & Trab

### 1.3.3 Etude botanique :

*Salvia chudaei* est une espèce endémique du Sahara central. Elle a une odeur pénétrante et agréable. Dans l'Ahaggar, on retrouve cette plante par petites touffes, dans les oueds rocailleux entre 1200 et 2000 mètres d'altitude. [18] C'est une plante vivace très rameuse entièrement velue d'un gris bleuté, de 30 à 40 cm de haut [19].



Figure 1.3 : Plante de *Salvia chudaei* Batt & Trab (original)

- Feuille :

Elles sont vertes crénelées, étroites, allongées, et souvent lobées [18].

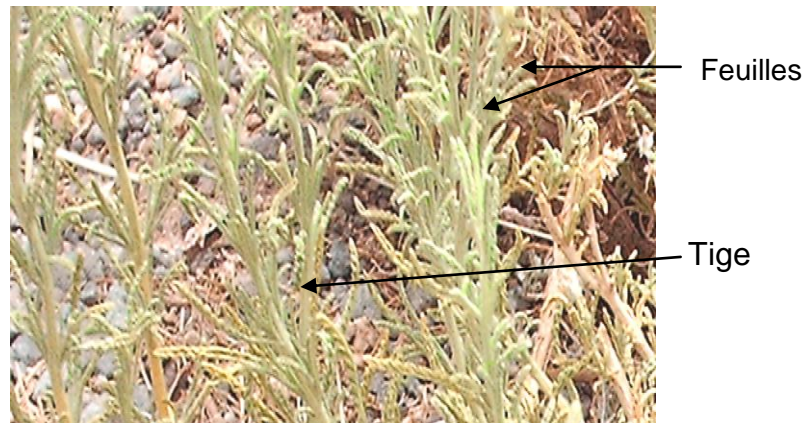


Figure 1.4 : Feuilles de *Salvia chudaei* Batt & Trab (original)

- Fleur :

Les inflorescences sont en épis portant de longs poils laineux qui masquent de petites fleurs. Le calice est laineux et les pétales sont de couleur bleu pâle de 5 à 8 mm de longueur [19].



Figure 1.5 : Fleurs de *Salvia chudaei* Batt & Trab [20].

#### 1.3.4 Propriétés et usages :

La plante est appréciée par les animaux herbivores. L'homme l'utilise comme condiment [21]. La plante réduite en poudre et dissoute dans un verre d'eau est utilisée contre les rhumatismes, les ulcères d'estomac et le dysfonctionnement urinaires [22].

#### 1.4 Composition chimique de la sauge: [12], [10], [07], [06], [05]

En phytothérapie, on utilise soit les feuilles sèches ou fraîches.

La plante contient 1.5 à 2.5 % d'huile essentielle. Elle renferme 30 à 60% de monoterpènes essentiellement : l' $\alpha$ -thuyone, le  $\beta$ -thuyone, le camphre, le 1,8 - cinéol, le bornéol et l'acétate de bornyle. Elle contient aussi 6 à 15% de sesquiterpènes tel que : le viridiflorol et le caryophyllène (structures chimique en appendice F).

La Sauge renferme aussi 2 à 6% de tanin, dont le composé majeur est l'acide rosmarinique, 1 à 3% de flavonoïdes, ce sont essentiellement des dérivés de la lutéoline et de l'apigénine ainsi que des glycosyflavones (structure chimique en appendice I).

#### 2. Les métabolites secondaires :

Les plantes accumulent une grande variété de métabolites secondaires tel que : alcaloïdes, terpènes, polyphénols. Tous ces composés n'ont aucun rôle dans le métabolisme primaire de la plante, mais ils possèdent diverse activités biologiques [10].

Parmi ces composés on cite :

##### 2.1. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de molécules différentes. Ils présentent une multitude d'activités biologiques qui dépend de leurs structures chimiques. Certains sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, d'autres agissent comme des hormones (les phytoestrogènes), certains encore démontrent une activité anti inflammatoire. La majorité de ces composés se présentent sous forme d'esters ou de glycosides.

Le terme « phénol » couvre un large groupe de composés chimiques. Harborne ; Macheix et al (1990) classent ces composés en se basant sur le nombre de carbone (tableau 1.1)

Tableau 1.1 : Classification des composés phénoliques [23]

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemples)
$C_6$	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
$C_6-C_1$	Acides hydroxybenzoïques	$\rho$ - hydroxybenzoïque	Epices, fraise
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamiques, Coumarines	Acide caféique Scopolétine	Pomme de terre Pomme, Citrus
$C_6-C_4$	Naphtoquinones	Juglone	Noix
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, Cyanidine, Diadzéine	Fruits, légumes, fleurs, soja, pois
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		Bois, fruits à noyau
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés		

- Les flavonoïdes :

Flavonoïde est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes carbonés. Il est composé de deux cycles phényles A et B, qui sont connectés par un pont à trois carbonés (structure en C6-C3-C6) [12].

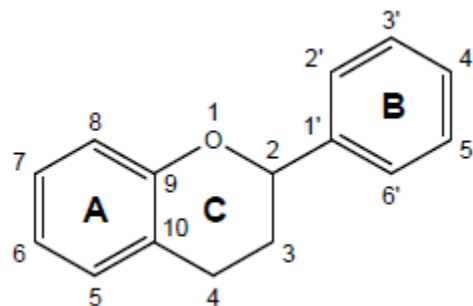


Figure1.6 : Structure de base pour les flavonoïdes [12].

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Leur extraction est basée sur leur solubilité dans l'eau ou l'alcool chaud. Ils sont abondants chez les plantes supérieures. Ils sont présents dans tous les organes aériens et surtout les organes jeunes : feuilles et boutons floraux [24].

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation, du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C, alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B.

Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes on cite :

- Anthocyanes
- Flavanols
- Flavones
- Flavanones
- Isoflavones

Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse et de la fragilité capillaire [12].

- les anthocyanes :

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des composés hydrosolubles de teinte rouge, violette ou bleu qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles. Les anthocyanes sont présents dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides appelés anthocyanosides.

Ces pigments sont très répandus dans le règne végétal. Ils sont proches des flavonoïdes sur le plan de l'origine, de la structure et des propriétés pharmacologiques [25].

Ils diminuent la perméabilité des capillaires et augmentent leurs résistances. Ils ont aussi une action anti-œdémateuse. Atoxiques, ils sont préconisés dans le traitement de certaines maladies vasculaires : fragilité capillaires, insuffisance veineuse. Ce sont aussi des colorants végétaux autorisés [26].

- Les tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, ayant en commun la propriété de tanner la peau [25].



Très répandus dans le règne végétal, ils peuvent se trouver dans le cytoplasme de la cellule végétale ou concentrés dans des poches spéciales : **les vacuoles à tanin**. Ils colorent en brun rouge les organes qui les contiennent. On distingue :

Les tanins hydrolysables ou tanins galliques : Ce sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol (acide gallique souvent).

Les tanins condensés : ils ont une structure voisine des flavonoïdes, mais ne comportent pas de sucres dans leur molécule. Ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune [27].

Par voie interne les tanins ont un effet anti diarrhéique. En usage externe ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes et empêchent les agressions externes. Ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou brûlures.

Quelques soit la voie d'administration, l'effet antiseptique, antibactérien et antifongique est intéressant, notamment pour les diarrhées infectieuses et les dermatoses. D'une façon générale se sont des inhibiteurs enzymatiques [07].

- Les coumarines :

Pour la première fois, la coumarine fut isolée de la *fève tonka* (*Coumarouna odorata*) Depuis, environ un millier de molécules ont été isolés et caractérisés. Généralement, ils se présentent sous forme d'hétérosides [06].

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils peuvent contribuer à fluidifier le sang, soigner les affections cutanées. Ce se sont de puissants vasodilatateurs [25].

## 2.2 les saponosides :

Les saponosides (parfois encore appelés saponines) sont des terpènes glycosylés. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes, alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides tri terpéniques. Ils peuvent aussi se trouver sous forme d'aglycone appelés sapogénines.

La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère au saponosides des propriétés tensioactives ou de détergents [26].

La plupart des saponosides possèdent des propriétés hémolytiques. Ils sont toxiques à l'égard des animaux à sang froid, principalement les poissons mais ils retiennent l'attention aussi bien pour leurs exploitation industrielles que leurs propriétés pharmacologiques. Plusieurs drogues à saponosides sont utilisées par l'industrie pharmaceutique pour l'obtention de formes galéniques. L'industrie des cosmétiques exploite notamment leurs propriétés détergentes [12].

### 2.3 les polysaccharides :

Les polysaccharides sont des composés de longues molécules linéaires ou ramifiées, la longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles, comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation.

Les polysaccharides proviennent principalement des végétaux, mais il existe aussi des sources algales, bactériennes et animales [26].

Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommés. Ils sont présents dans les racines, les feuilles et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant ainsi une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés [02].

### 2.4. Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles, les huiles volatiles et les essences sont des produits de composition complexe. Elles comprennent des principes volatils contenus dans la plante et qui peuvent éventuellement se modifier pendant les processus de préparation [28].

Les huiles essentielles (HE) sont des produits odorants obtenus à partir des plantes par entraînement à la vapeur d'eau, par hydro distillation des végétaux entiers ou en partie, ou par expression du péricarpe frais de certains agrumes [12].

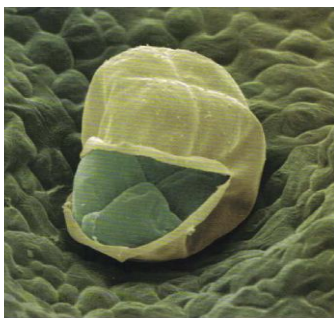
#### 2.4.1. Localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont synthétisées dans le cytoplasme de certaines cellules sécrétrices végétales, ainsi que dans les poils sécréteurs, puis elles sont acheminées par des canaux et stockées dans des poches glandulaires.

Ces cellules peuvent se trouver dans tous les organes de la plante, aussi bien dans la graine que dans la racine ou dans les sommités fleuries.

On distingue trois principaux appareils sécréteurs :

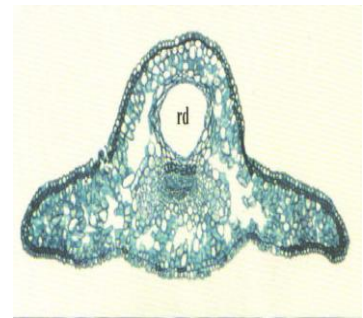
- Les poils sécréteurs épidermiques trouvés dans les familles des *Lamiacées*, des *Verbénacées*, des *Actériacées* et des *Géraniacées*.
- Les poches glandulaires trouvées dans les familles des *Abiétacées* et des *Cupressacées*.
- Les canaux glandulaires trouvés dans les familles des *Myrtacées*, des *Rutacées* et des *Hyperiacées* [29].



Cellules glandulaires



Poils glandulaires



Canal sécréteur

Figure 1.7 : Appareils sécréteurs des huiles essentielles [29].

#### 2.4.2. Composition chimique des huiles essentielles : [12], [10]

La composition d'une huile essentielle est en général très complexe. Elle contient essentiellement : des carbures mono terpéniques acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools mono terpéniques, des cétones et des époxydes mono terpéniques. (Structures chimiques en appendice B)

On rencontre également des hydrocarbures et des alcools sesquiterpéniques (structures chimiques en appendice C et D).

#### 2.4.3. Propriétés biologiques: [28], [30]

Les huiles essentielles possèdent une multitude de propriétés spécifique suivant leurs constituants aromatiques. Parmi ces propriétés on peut citer les plus usuelles:

- Pouvoir antiseptique : ce pouvoir s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibiotiques résistantes.

- Propriétés spasmolytiques : de très nombreuses drogues à huiles essentielles sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. Il est fréquent qu'elles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualificatifs de « digestives » et de « stomachiques ».
- Propriétés cicatrisantes : les huiles essentielles des Labiées (la lavande, le romarin, la sauge, le thym) ont un pouvoir cicatrisant remarquable. Cette action serait due à la stimulation de l'action régénérante des leucocytes.
- Propriétés anti-inflammatoires : les aldhydes aromatiques contenus dans de nombreuses huiles essentielles ont le pouvoir d'agir sur l'inflammation de l'épiderme causée par une blessure, une brûlure ou bien encore une piqure d'insecte.

Les huiles essentielles peuvent être aussi : cholériques, sédatives, hypotensives, expectorantes, antioxydantes, circulatoires, antalgiques.

### 3. La réaction inflammatoire :

L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. Les causes de l'inflammation sont nombreuses et variées : agent infectieux, substance étrangère inerte, agent physique, lésion cyto-tissulaire post-traumatique. [31].

L'inflammation comporte trois phases plus ou moins individualisées :

#### ✓ Phase 1 :

Précoce, elle se caractérise par une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité capillaire. Elle se traduit par les signes suivants : chaleur, douleur, œdème. On note également une migration de leucocytes des vaisseaux vers les tissus lésés et une libération des facteurs tissulaires : histamine, sérotonine, kinines, prostaglandines.

#### ✓ Phase 2 :

C'est la phase dite : « granulome ». Elle est caractérisée par l'introduction dans l'infiltrat cellulaire de polynucléaires, faisant place à des cellules mononuclées et aux macrophages qui phagocytent les agents agressifs. Il s'ensuit une libération d'enzymes protéolytiques qui entretiennent l'inflammation.

✓ Phase 3 :

C'est la phase ultime ou de réparation. La cellule dominante est le fibroblaste qui synthétise les fibres de collagène et les muco polysaccharides aboutissant à la constitution d'un nouveau tissu conjonctif [32].

3.1 Les éléments inflammatoires :

3.1.1 Les cellules de l'inflammation : [33]

Des facteurs humoraux et cellulaires multiples permettent le recrutement et l'activation des différentes cellules. Les cellules intervenant dans le processus inflammatoire sont présentées dans le tableau 1.2 :

Tableau 1.2 : Cellules de l'inflammation

Cellules sanguines circulantes	Cellules résidentes tissulaires
Polynucléaires neutrophiles Monocytes Polynucléaires éosinophiles Basophiles Plaquettes Lymphocytes Plasmocytes	Macrophages Histiocytes Mastocytes Cellules endothéliales Fibroblastes

- ✓ Les polynucléaires neutrophiles : ils sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes)
- ✓ les monocytes : ils migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production des protéines anti-bactériennes et des médiateurs pro-inflammatoires.

- ✓ Les polynucléaires éosinophiles : sont recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée.
- ✓ Les plaquettes : ils contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène et des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine.
- ✓ Les lymphocytes B et T : ils produisent les cytokines pro-inflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des polynucléaires neutrophiles.
- ✓ Les plasmocytes : ont un rôle dans l'immunité et les interactions cellulaires
- ✓ Les histiocytes macrophages : ont un rôle majeur dans la phagocytose.
- ✓ Les mastocytes : ils interviennent lors de la vasodilatation et la perméabilité capillaire.
- ✓ Fibroblastes : ils synthétisent les collagènes et les éléments non fibrillaires de la matrice extra-cellulaire (ténascéine, fibronectine, protéoglycanes...)
- ✓ Cellules épithéliales : à partir desquelles se déroule la réépithélialisation de la plaie (kératinocytes)

### 3.1.2. Les médiateurs de l'inflammation :

La description des cellules intervenant au cours de l'inflammation laisse imaginer le nombre important de médiateurs intervenant dans les différentes étapes de l'inflammation. Ces médiateurs peuvent être décrits sous la forme d'une part de système d'activation plasmatique et d'autre part de médiateurs cellulaires. [32]

- ✓ Histamine : elle est libérée à partir des mastocytes et des basophiles. Elle est induite par la fixation du complexe antigène-anticorps IgE à la surface des cellules. Elle intervient au cours des réactions inflammatoires aiguës, des phénomènes immunitaires et provoque une augmentation de la perméabilité capillaire.
- ✓ Sérotonine : elle stimule les muscles lisses vasculaires et augmente la perméabilité vasculaire.

- ✓ Kinines : La formation des kinines s'effectue grâce à des kinogénases et en particulier la kallikréine, elle-même activée par le facteur XII et de la coagulation, la trypsine et plasmine. Elles produisent les effets suivants :
  - dilatation des artérioles, augmentation de la perméabilité capillaire.
  - Algogènes
  - Contraction musculaire lisse.
  - Régulation électrolytique.
  - Favorisent la libération des prostaglandines.
- ✓ Prostaglandines et leucotriènes : ils interviennent dans les processus inflammatoires aigus et chronique. Ils sont formés à partir de l'acide arachidonique. Ils sont synthétisés et libérés « in situ » puis dégradés rapidement. Ils interviennent de même que leurs précurseurs dans le processus inflammatoire : acide arachidonique, PG12, PG1, PG2, PGD 2 et PGA2 [32].

### 3. 2 Les anti-inflammatoires :

- Les A.I.N.S :

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens, forment un groupe hétérogène de substances qui réduisent ou suppriment les conséquences de la réaction inflammatoire quelque soit son étiologie.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent la cyclooxygénase, et par conséquent la synthèse des prostaglandines, qui jouent un rôle pro-inflammatoire, ostéolytique et collogénolytique. Ils présentent deux types d'effets secondaires :

- une inhibition de la synthèse des prostaglandines, qui protègent la muqueuse de l'estomac avec un risque ulcérogène.
- une inhibition de l'agrégation plaquettaire [33].

- Les A.I.S :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont des dérivés de la cortisone. Ils agissent en :

- s'opposant à la perméabilité capillaire (réduction de l'œdème)
- empêchant l'activation de la phospholipase A<sub>2</sub> qui libère l'acide Arachidonique
- inhibant la production des facteurs chimiotactiques et la libération d'histamine.

Ils possèdent des effets secondaires importants :

- effets immunosuppresseurs,
- effet gastro -intestinal (production d'H Cl)

- effet sur l'équilibre l'hydrominéral (rétention d'eau, fuite de K<sup>+</sup>, calciurie et ostéoporose)
- effet stimulant sur le métabolisme des protides et des glucides [34].

#### 4. La cicatrisation :

La cicatrisation est l'ensemble de phénomènes physiologiques naturels aboutissant à partir d'une plaie à la restauration de la structure cutanée [35].

##### 4.1 Les différentes phases de la cicatrisation :

Le processus de cicatrisation débute dès l'agression qui détruit le revêtement cutané. Différentes phases se succèdent sous la dépendance de facteurs dynamiques locaux, régionaux et systémiques [36].

##### ❖ Phase inflammatoire :

L'hémorragie infiltre les tissus. Les globules rouges se désintègrent et la contamination de la plaie entraîne un certain nombre de réactions biochimiques.

La rupture cellulaire liée à l'agent traumatique fait apparaître les agents de la protéolyse qui disloquent la substance fondamentale, suivis d'une libération des médiateurs de l'inflammation par les cellules lysées :

- histamine —————> perméabilité capillaire
- leucotaxine —————> vasodilatation brutale
- pyrexine —————> désintégration des protéines entraînant des poussées thermiques.
- cytokines (les interleukines) et les facteurs de croissances tissulaires qui vont agir sur la multiplication cellulaire [37].

##### ❖ Phase proliférative :

L'épithélialisation se développe à partir des berges de la plaie ou des annexes de la peau comme les follicules pileux ou les glandes sudoripares et sébacées. Certains résidus épidermiques persistants peuvent également jouer ce rôle [38].

La contraction de la plaie est le résultat de deux phénomènes qui débutent après 4 ou 5 jours et le poursuivant jusqu'à la deuxième semaine. Il s'agit de la contraction des myofibroblastes et de la locomotion des fibroblastes à travers la



matrice extra-cellulaire. Les myofibroblastes induisent une contraction tissulaire indirecte qui permet le rapprochement des berges de la plaie grâce aux microfilaments riches en actine [39], [40].

#### ❖ Phase de remodelage :

L'organisation du bourgeon charnu qui va finir par involuer, laissant place au derme reconstitué mais parfois pathologique.

Les fibres collagènes se multiplient et sont entourées de substance fondamentale plus dense. Les vaisseaux s'oblitérent et les fibroblastes acquièrent des propriétés proches de celles de cellules musculaires lisses : ce sont les myofibroblastes qui tendent à rapprocher les berges [41].

L'épiderme est d'abord une couche monocellulaire, fragile qui inhibe la croissance du bourgeon charnu. Progressivement, plusieurs assises cellulaires se constitueront pour aboutir aux couches habituelles de l'épiderme [38].

**La cicatrice :** c'est le stade ultime, arrêt du processus au moment où l'équilibre épidermo conjonctif est rétabli [36].

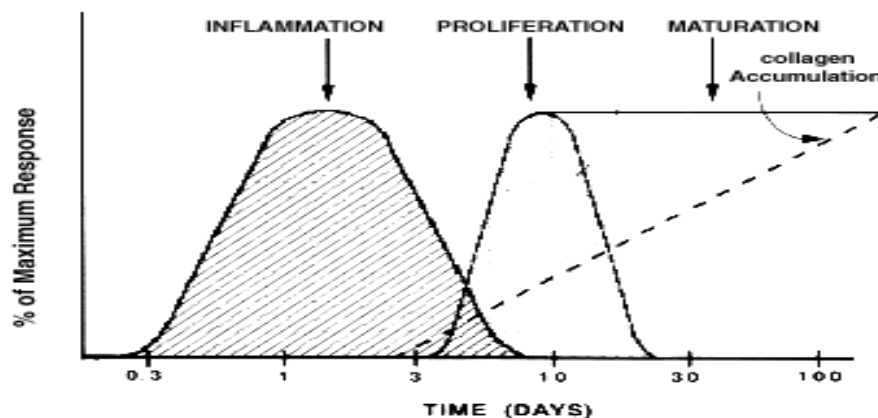


Figure1.8: Chronologie des différentes phases de la cicatrisation [36]

#### 5. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, il conduit à des dégâts structuraux et fonctionnels [42].

### 5.1 Origine du stress oxydatif:

Le stress oxydatif devient une situation pathologique lorsqu'il ya rupture d'équilibre en faveur des oxydants. Ceci est dû soit à un déficit en antioxydants ou bien à une surproduction de radicaux libres.

Il peut avoir des origines multiples :

- ❖ Intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb)
- ❖ Irradiations (UV, rayons X...)
- ❖ Phénomènes d'ischémies / ré perfusions (thromboses, exercice)
- ❖ Carences nutritionnelles (vitamines, oligo-éléments)
- ❖ Anomalies génétiques [43].

### 5.2 Conséquences du stress oxydatif :

Les radicaux libres réagissent avec toute une série de substrats biologiques : lipides, ADN, protéines et sucres.

#### \*Les lipides :

Le mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires (Peroxydation lipidique), conduit à la formation d'hydro peroxydes (ROOH) instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire. Ce qui provoque une altération du fonctionnement des membranes, un dépôt des lipides oxydés au niveau des vaisseaux ou des tissus âgés et une genèse de dérivés carcinogènes.

#### \*les protéines :

Les radicaux libres peuvent modifier les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines. Ils induisent une perte de la fonction structurale ou catalytique.

#### \*les sucres :

Le glucose peut s'oxyder en présence de traces métalliques. Il libère d' $H_2O_2$  et d' $OH^\circ$ , qui entraineront la coupure des protéines et leurs glycation. Ce phénomène de glycosoxydation est important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et leur rétine [44].

#### \*l'ADN :

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes, ou arrêt de la réplication d'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins.

Le stress oxydatif peut être la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

### 5.3 Les radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron non apparié sur son orbitale externe.

Du fait de sa très grande réactivité, un radical libre a une durée de vie très courte ( $10^{-3}$  à  $10^{-6}$  seconde). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent appelés **espèces réactifs à l'oxygène ERO** [45].

#### 5.3.1 Les principaux radicaux libres :

- Anion superoxyde ( $O_2^\circ$ ) : cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.
- Radical hydroxyle ( $OH^\circ$ ) : il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.
- Monoxyde d'azote ( $NO^\circ$ )
- Radical peroxyde ( $ROO^\circ$ ) : R= substrat organique
- Radical alkoxyde ( $RO^\circ$ )
- L'oxygène singulet ( $O_2^\circ$ )

#### 5.3.2 Sources de radicaux libres : [45], [46]

Les radicaux libres peuvent provenir soit des mécanismes enzymatiques tel que :

- ✓ Chaîne respiratoire (Mitochondries)
- ✓ Phagocytose.
- ✓ Catabolisme d'ATP par la Xanthine oxydase
- ✓ Métaux de transition
- ✓ Peroxysomes.

Ou des mécanismes non enzymatiques :

- ✓ Tabac et alcool.
- ✓ Radiations ionisantes
- ✓ Pollutions diverses
- ✓ Rayonnement UV
- ✓ Produits chimiques et médicaments

## 5.4 Les antioxydants :

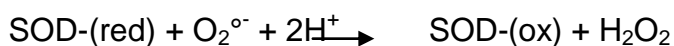
Un antioxydant est défini, comme étant toute substance présente en faible concentration, relative à un substrat oxydable et qui diminue ou prévient l'oxydation de ce substrat [46].

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation. Tandis que d'autres absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet, pour la transformer en chaleur [42].

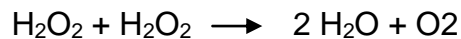
### 5.4.1. Origine :

#### 5.4.1.1 Les antioxydants endogènes: [47]

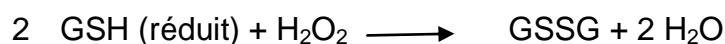
- Superoxyde dismutase (SOD) : elle est localisée dans le cytosol et les mitochondries. Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ ).



- Catalase : elle est localisée dans les peroxysomes (myocarde). Elle élimine les peroxydes d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).



- Glutathion peroxydase (Gpx) : elle est localisée dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle dégrade les peroxydes organiques et les peroxydes d'hydrogènes ( $H_2O_2$ ).



- L'acide urique: c'est un produit d'oxydation des purines.
- Les groupements thiols : tel que : glutathionne, N-acétyl cystéine.
- Les protéines: ils lient les ions métalliques tel que : Ferritine, Myoglobine, Transferrine.

#### 5.4.1.2 Les antioxydants naturels : [43]

Les principaux antioxydants naturels sont l'Acide ascorbique, la Tocophérol, le  $\beta$ -carotène et les composés phénoliques.

- ❖ Vitamine C : est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On retrouve la vitamine C principalement dans

les aliments suivants : les légumes, le chou, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi.

- ❖ Vitamine E : prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes [46].
  
- ❖ 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 autres fruits jaunes [23].
  
- ❖ Les polyphénols : On définit par composé phénolique, tout composé possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles, incluant différents groupes fonctionnels [42]. Parmi ces composés :
  - Les flavonoïdes : Les flavonoïdes agissent par deux mécanismes d'action : soit par chélation des métaux (quercétine, catéchine) soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes [24].  
Ils jouent un rôle très important dans le traitement des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies et des affections bactériennes.  
On les retrouve dans les fruits, les légumes, le thé et le vin [46].
  - Xanthones : Ils possèdent des propriétés inhibitrices envers la peroxydation des lipides [23].
  - les acides phénoliques : contenus dans certains nombres de plantes agricoles et médicinales. Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide gallique, l'acide vanillique [14].

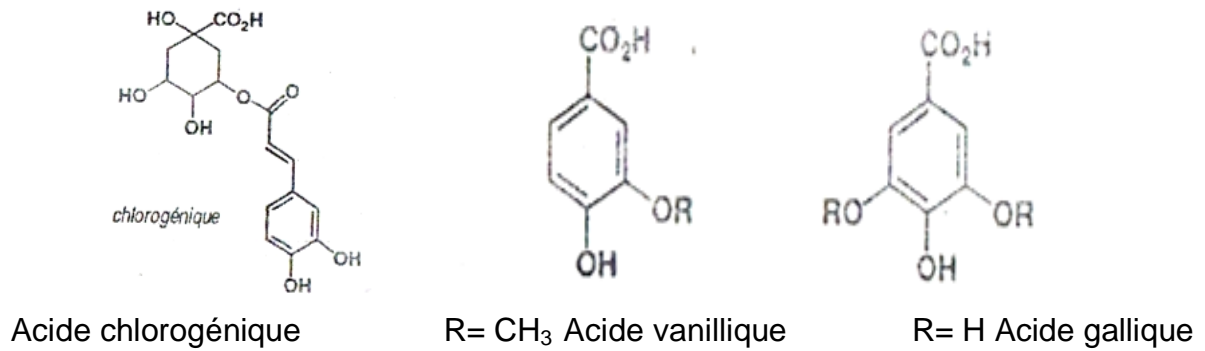


Figure1.8 : Structure chimique de quelques acides phénoliques [12].

- les tanins : Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate.  
Lors de la peroxydation, les tanins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique [27].
- les anthocyanes : ils sont responsables de la teinte bleu, rouge ou pourpre des fleurs et des fruits. Ce sont de puissants antioxydants. Ils nettoient l'organisme des radicaux libres [02].

## MATERIEL ET METHODES

### 1. Matériel :

#### 1.1 Matériel végétal :

Les parties aériennes (tiges et feuilles) de *Salvia officinalis* ont été récoltées en période de floraison au cours du mois de Mai dans la forêt de Chréa.

L'identification et la description de l'espèce a été faite au sein du parc national de Chréa et au laboratoire de Biologie Végétal, du Département d'Agronomie de l'université Sahd-Dahleb de Blida.

Les parties aériennes de *Salvia chudaei* (tiges et feuilles) ont été récoltées dans la région de Tassena Nékedé à 1325 m d'altitude, willaya de Tamanrasset.

L'identification de l'espèce a été faite au sein de la station INRF de Tamanrasset.

Les plantes ont été séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière puis conservées jusqu'au moment de l'extraction.

#### 1.2 Matériel animal :

- ✓ Souris : l'animal utilisé pour tester l'activité anti-inflammatoire est la souris NMRI (Naval Medical Research Institute, Bethesda, Maryland, USA). Elle provient de l'animalerie de l'Institut Pasteur de Kouba .  
Nous avons utilisé 36 souris répartis en 6 lots et dont le poids est :  $20 \pm 2$  g
- ✓ Lapin : les lapins utilisés pour le test cicatrisant sont de race Californienne, ils proviennent de l'animalerie de la station expérimentale du Département Vétérinaire.  
Nous avons utilisé 18 lapins répartis en 6 lots et dont le poids est de  $2500 \pm 200$  g.

### 1.3 Matériel bactériologique :

Les souches utilisées pour le test antimicrobien sont :

Des souches de référence ATTC (American Type Culture Collection) :

- *Escherichia coli* ATTC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853
- *Staphylococcus aureus* ATTC 25923
- *Staphylococcus epidermidis* ATTC 12228
- *Enterococcus faecalis* ATTC 49619
- *Streptococcus pneumoniae* ATTC 29122

Des souches isolées au niveau du laboratoire bactériologie du CHU de Boufarik :

- *Shigella flexneri*
- *Salmonella sp*
- *Candida albicans*

## 2. Méthodes :

### 2.1 Etude macroscopique :

Le but est d'étudier à l'œil nu et sous loupe binoculaire (MOTIC ST-30 SERIES), les différentes organes de la plante juste après la récolté.

Pour cela nous avons procédé à une description de la tige, feuilles et fleurs.

Tige et feuille : la forme des tiges et des feuilles ainsi que leurs surfaces ont été observées.

La fleur : nous avons observé la couleur, la forme et les différents organes de reproduction.

### 2.2 Etude microscopique :

Le but est d'étudier les différents tissus présents, et cela en réalisant des coupes très fines à l'aide d'un scalpel au niveau des tiges et des feuilles, suivis d'une double coloration au vert de Méthyl et le rouge Congo.



Les différentes étapes de la coloration sont les suivants :

- ✓ les coupes sont plongées dans l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 8° pendant 10 à 15 min pour vider les cellules.
- ✓ Après rinçage à l'eau 5 à 10 min, les coupes sont traitées par l'acide acétique (10%) pendant 1 à 2 min pour faciliter la diffusion des colorants.
- ✓ Après lavage à l'eau 5 à 10 min. Les coupes sont placées dans le vert de Méthyle pendant 15 à 20 min.
- ✓ Les coupes sont rincées à l'eau 5 à 10 min puis plongées dans le rouge Congo 15 à 20 min.
- ✓ Après lavage à l'eau courante, elles sont montées entre lame et lamelle puis observées au microscope photonique.

### 2.3 Etude phytochimique des plantes :

#### 2.3.1 Le taux d'humidité :

Le contenu en humidité des plantes est déterminé selon la méthode de séchage à l'étuve [47], [48].

Une prise d'essai de 1g de matière végétale sèche, est mise à sécher dans l'étuve à 105°C pendant 2 heures. Le taux d'humidité est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$H \% = [(M_I - M_F) / M_I] \times 100.$$

H% : le taux d'humidité en pourcentage.

M<sub>I</sub> : la masse initiale de la poudre mise à sécher.

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

#### 2.3.2 Teneur en cendres : [49]

Le principe consiste à incinérer la plante en poudre, puis calciner jusqu'à l'obtention des cendres blanches.

- Une prise d'essai de 1g est mise en incinération dans le four à moufle à 550-600°C pendant 4 à 6 heures.

- On laisse refroidir pendant 24 heures.
- A la sortie du four, on met dans un dessiccateur pendant 15 min avant de peser.
- La masse des cendres est rapportée à 100g de matière végétale par la formule suivante :

$$\% \text{ cendres totales} = \frac{\text{Masse des cendres}}{\text{Masse de la poudre de plante}} \times 100$$

### 2.3.3 Caractérisation phytochimique des deux espèces:[50], [12]

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

Les tests sont réalisés soit sur la poudre, soit sur un infusé à 2 % préparé avec 100 ml d'eau distillée bouillante sur 2g de poudre.

- Les glucosides :

Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré  $H_2SO_4$  sont ajoutées à 2 g 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 1 ml d'une solution aqueuse diluée de  $FeCl_3$  à 3%. En présence des tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- Les flavonoïdes :

On introduit dans un tube à essai 5 ml de l'infusé, on ajoute 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes), puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction donne une coloration bleue en présence des anthocyanes.

- Leuco anthocyanes :

2g de poudre sont portés au bain marie bouillant pendant quelques minutes dans 20 ml 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 5 ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipite floconneux après agitation indique la présence du mucilage.

- Les saponosides :

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

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

- Les sennosides :

A 2.5 g de poudre végétale, on ajoute 50 ml d'eau distillé et 2 ml d'Hcl concentré. On chauffe dans un bain marie. Après refroidissement, on agite avec 40 ml d'éther, on sépare la couche étherée et on laisse évaporer à siccité.

Au résidu refroidi, on ajoute 5ml d'ammoniaque dilué au 1/2. Il se développe une coloration jaune orange en présence des sennosides, et devient rouge violette après chauffage.

## 2.4 Etude des composés actifs des deux espèces :

### 2.4.1. Extractions des composés non volatils par soxhlet :

#### But et principe :

Le Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide-liquide. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais.

Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

Ce cycle peut être répété plusieurs fois, jusqu'à épuisement du solide. [51]

### Mode opératoire:

- ✓ 30 g de plante sèche et broyée est mise dans cartouche en papier filtre, puis introduite dans le réservoir à siphon.
- ✓ 350 ml de méthanol est introduite dans un ballon à col rodé, ce dernier est mis dans un chauffe ballon et le solvant est porté à ébullition.
- ✓ Après une douzaine de siphonages, on récupère le ballon contenant le solvant enrichi en substances solubles (fraction polaire).
- ✓ Le résidu est obtenu après évaporation du solvant par un évaporateur rotatif.
- ✓ Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R\% = (M_1 - M_0) / M_P \times 100$$

R% : le rendement en pourcentage.

M<sub>1</sub> : la masse du ballon

M<sub>0</sub> : la masse du ballon vide.

M<sub>P</sub> : la mase de la plante mise en cartouche.

#### 2.4.1.1 Analyse de l'extrait méthanolique :

Afin d'analyser d'une façon quantitative et qualitative la concrète méthanolique obtenue, nous avons effectué un balayage en spectrophotomètre UV-visible suivis par un dosage des différents métabolites secondaire.

##### 2.4.1.1.1 Analyse par spectrophotomètre UV-visible :

Une solution méthanolique de l'extrait obtenu est soumise à un balayage au spectrophotomètre entre 200 et 800 nm.

#### 2.4.1.1.2 Dosage des poly phénols totaux : [52]

Les poly phénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin Ciocalteu

- On additionne à 1ml d'extrait méthanolique (contenant 1mg) 1ml de réactif de Folin et 46 ml d'eau distillé.
- Après 3 minutes d'agitation, 3ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 2% sont ajoutés. Le mélange est laissé incuber pendant 2 heures avec agitation continue.
- L'absorbance est mesuré à 760 nm contre un blanc sans extrait.
- La quantification des poly phénols a été faite par une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisée par un étalon : l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.
- Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait.

#### 2.4.1.1.3 Dosage des flavonoïdes : [53]

Le total des flavonoïdes a été déterminé par la méthode à l'AlCl<sub>3</sub>

- A 1ml d'extrait contenant 1mg, est ajouté 1ml d'une solution alcoolique d'AlCl<sub>3</sub> à 2% et 25 ml d'éthanol.
- l'absorbance est lue à 400 nm après 40 minutes d'incubation en température ambiante contre un blanc sans extrait.
- La quantification des flavonoïdes a été faite par une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisée par des concentrations croissantes d'un étalon : la rutine dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon.
- Les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine par g d'extrait.

#### 2.4.1.1.4 Dosage des flavonols : [53]

Le total des flavonols est estimé en mg équivalent de rutine.

- 2 ml d'extrait à la concentration : 1mg/ ml sont mélangés avec 2 ml d'une solution alcoolique de trichlorure d'aluminium (20g/l) et 6 ml d'acétate de sodium (50g/l).
- L'absorbance du mélange est lue à 440 nm après 2.5 heures d'incubation à 20°C.

- La quantification des flavonols a été faite à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par une solution éthanolique de rutine allant de 0.5 – 0.0015 mg/ml.

#### 2.4.1.1.5 Dosage des tanins : [22]

Le contenu en tanins a été déterminé par l'essai au Vanilline.

- A 50 µl d'extrait, on ajoute 3ml d'une solution de vanilline à 4% et 1.5 ml d'HCl concentré.
- L'absorbance est lue à 500 nm après 15 min d'incubation en température ambiante.
- La quantification des tanins est faite à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $Y=a x + b$ ) réalisée par des concentrations croissantes d'acide gallique : 0 – 500 µg/ml.
- Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait.

#### 2.4.1.1.6 Dosage des polysaccharides : [54]

Le taux des polysaccharides est déterminé selon la méthode de phénol-acide sulfurique, en utilisant le glucose comme standard.

- A 0.5 ml d'extrait à la concentration de 1mg/ml, on ajoute 2.5 ml de réactif de phénol à 5% et 2.5 ml d'acide sulfurique.
- L'absorbance est lue à 488 nm après 30min d'incubation en bain d'eau froide.
- La quantification des polysaccharides est faite par une courbe d'étalonnage linéaire ( $y= a x$ ) réalisée par des concentrations croissantes de glucose.
- Les résultats sont exprimés en mg équivalent de glucose par g d'extrait.

#### 2.4.2 Extraction des composés volatils (HE) par entraînement à la vapeur d'eau:

Les huiles essentielles des deux espèces ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau. Les vapeurs d'eau en traversant la plantes font éclater les cellules, et entraine avec elles les huiles. Après condensation, l'huile surmonte l'eau dans l'ampoule de décantation.

#### 2.4.2.1. Mode opératoire :

Le dispositif comprend essentiellement :

- un erlen meyer de 5 litres rempli au 2/3 d'eau.
- un ballon à trois cols de 2 litres.
- un réfrigérant surmonté d'un système de refroidissement
- une ampoule à décanté.

500 g de matériel végétal sec est introduite dans le ballon. Lorsque l'eau contenue dans l'erlen commence l'ébullition, les vapeurs chargées des substances volatiles se condensent dans le réfrigérant, et l'huile essentielle est séparée de l'hydrolat par simple décantation.

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 :

$$R \% = M_{HE} / M_{MV} \times 100$$

R% = rendement en huile essentielle.

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

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

#### 2.4.2.2. Analyse des huiles essentielles par CG/MS :

L'analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée au laboratoire de chromatographie du centre de recherche et développement (CRD) Boumérdes.

#### But et principe :

C'est une méthode qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse afin d'identifier et /ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

### Condition opératoires :

- Volume injecté : 1µl
- Mode d'injection : split
- Gaz vecteur : hélium
- Débit : 1ml/min
- Température d'injection : 250°C
- Mode d'ionisation : impact électronique(+)
- Potentiel d'ionisation : 70 eV

## 2.5 Etude des activités biologiques des deux espèces :

### 2.5.1 Etude de l'activité anti-microbienne :

#### But et principe :

Le but repose sur l'évaluation de l'activité anti- microbienne des différents extraits (huiles essentielles et extraits méthanoliques) des deux espèces.

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes mis en contact des différents extraits, par la méthode de diffusion sur milieu de gélose en utilisant des disques absorbants [55].

#### Réactifs et milieux de culture:

- Eau physiologique stérile
- Ethanol absolu
- Gélose nutritive
- Gélose Sabouraud
- Gélose Muller- Hinton

#### Extraits :

- Huile essentielle de *Salvia officinalis*.
- Huile essentielle de *Salvia chudaei*
- Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*
- Extrait méthanolique de *Salvia chudaei*.



### Protocole expérimentale :

- 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 diluant 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'imbibé avec 25 µl d'huile essentielle ou d'extrait méthanolique (une quantité de 500 µg d'extrait par/disc). Ce denier est déposé à la surface de gélose. On laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes, puis on incube à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures.

### 2.5.2 Etude de l'activité anti-inflammatoire locale : [56], [57]

#### But et principe :

Le but de ce test est la mesure de l'activité anti-inflammatoire locale des extraits des deux espèces.

Le principe repose sur la détermination du pourcentage d'œdème, provoqué suite à une inflammation locale des oreilles de souris, par un produit irritant à base d'huile de croton. Cette inflammation peut être réduite par l'application d'un anti-inflammatoire à action locale.

#### Réactifs :

- Huile de croton
- Acétone
- Ether éthylique

### Produits :

Produits à tester sont appliqués par un volume de 20 µl et à la concentration de 0,5 mg par oreille.

- Huile essentielle de *Salvia officinalis*
- Huile essentielle de *Salvia chudaei*
- Extrait méthanolique de *Salvia officinalis* .
- Extrait méthanolique de *Salvia chudaei*.
- Produit de référence : indomét® (indméthacine).

### Protocole expérimentale :

Les étapes à suivre pour cette expérimentation sont :

- Préparer la solution irritante à 2% d'huile de croton dans l'acétone.
- Dissoudre tous les produits à tester dans l'acétone.
- Constituer six lots de six souris chacun :
  - Lot témoin (T) : reçoit la solution irritante seulement.
  - Lot essai (E) : reçoit la solution irritante + indométacine
  - Lot essai (E1) : reçoit la solution irritante + huile essentielle de *Salvia officinalis*
  - Lot essai (E2) : reçoit la solution irritante + huile essentielle de *Salvia chudaei*
  - Lot essai (E3) : reçoit la solution irritante + extrait méthanolique de *Salvia officinalis*
  - Lot essai (E4) : reçoit la solution irritante + extrait méthanolique de *Salvia chudaei*.
- L'inflammation est induite par l'application de la solution irritante à l'oreille droite, l'oreille gauche reçoit l'acétone seulement.
- Juste après l'application de l'huile de croton, les lots essai (E) reçoivent les différents extraits. (toujours appliqués sur l'oreille droite).
- Quatre heures après, les souris sont sacrifiées à l'éther.
- Des disques de six mm de diamètre sont récupérés des oreilles droites et gauches.

- Le pouvoir anti-inflammatoire IP% est calculé selon la formule suivante :

$$IP\% = \frac{\text{le poids d'œdème } T - \text{le poids d'œdème } E}{\text{le poids d'œdème } T} \times 100$$

IP%= le pourcentage de réduction d'œdème.

Poids d'œdème= poids du disc d'oreille droite – poids du disc d'oreille gauche.

T : le lot témoin, E : le lot essai.

### 2.5.3 Etude de l'activité anti oxydante :

#### But et principe :

Le but de cette étude est de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits obtenus des deux espèces.

Le principe repose sur la capacité des extraits à réduire les différents types de radicaux libres. Pour cela nous avons réalisé plusieurs tests selon la nature du radical libre.

#### ➤ Capacité anti oxydante totale : [58]

La capacité anti oxydante totale des deux espèces a été évaluée par la méthode de phospho-molybdène, qui est basé sur la réduction du MO(VI) en MO(V).

- On prépare le réactif utilisé comme suit :  
On mélange 0.6 M d'acide sulfurique avec 28 mM du phosphate sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium
- A 3.6 ml de réactif on ajoute 0.4 ml d'extrait. Le mélange est incubé en bain marie à 95°C pendant 90 min.
- On laisse refroidir, puis l'absorbance est mesuré à 695 nm contre un blanc qui contient le méthanol à la place d'extrait.
- La capacité anti oxydante est exprimé en µg d'acide ascorbique équivalent /mg d'extrait.

➤ Test antioxydant au DPPH : [59], [60]

L'activité anti radicalaire des différents extraits contre le DPPH (radical libre de couleur violet) est déterminée par spectrophotomètre.

Quand le DPPH réagit avec un antioxydant capable de céder un hydrogène, il se réduit. Le changement de couleur (violet foncée vers le jaune claire) est mesuré à 515 nm.

- A 5ml d'une solution de DPPH à 0.004% préparé le jour d'essai, on ajoute 50 µl d'extrait. Le mélange est incubé pendant 30 min, à l'abri de la lumière et en température ambiante.
- L'activité anti radicalaire est exprimée en pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH :

$$\text{Le \% pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH} = (\text{DO}_{\text{blanc}} - \text{DO}_{\text{extrait}} / \text{DO}_{\text{blanc}}) \times 100$$

➤ Test de peroxydation d'acide linoléique : [61]

L'activité anti-peroxydase des deux espèces a été déterminée par la méthode de thiocyanate d'ammonium :

- Une émulsion d'acide linoléique est d'abord préparée comme suit :  
0.28 g d'acide linoléique est mélangé avec 0.28 g de tween 40 et 50 ml de tampon phosphate (0.2M, PH 7.0).
- 0.5 ml des extraits méthanoliques (équivalent à 100 µg) et un volume de 100µl d'huiles essentielles sont mélangés avec 2.5 ml de l'émulsion d'acide linoléique et 2.5 ml de tampon phosphate, puis on laisse incuber à 37°C pendant 168 heures. Un mélange préparé sans extrait sert de control.
- Chaque 24 heures, un volume de 100 µl est pris des mélanges incubés et mélangé avec 5.0 ml d'éthanol à 75%, 100 µl de thiocyanate d'ammonium à 30% et 100 µl de FeCl<sub>2</sub> (20 mM) dans HCL à 3.5%.
- L'absorbance est mesuré à 500 nm après 3 min d'incubation en température ambiante.

- Le degré de peroxydation d'acide linoléique est calculé après 5 jours d'incubation selon la formule suivante:

$$\text{Activité anti oxydante} = [1 - (\Delta \text{ Do d'extrait} / \Delta \text{ Do du control})] \times 100 \quad [62]$$

- L'acide ascorbique est utilisé comme produit de référence pour la comparaison.

➤ Pouvoir chélateur du fer :

L'activité chélatrice de l'ion  $\text{Fe}^{+2}$  a été évaluée selon Decker et Welch [63].

- On mélange 1ml d'extrait à la concentration 1mg/ml avec 0.1ml de  $\text{FeCl}_2$  (2mM).
- La réaction est initiée par l'addition de 0.2ml de Ferrozine (5mM), suivis d'une agitation et une incubation pendant 10 min en température ambiante.
- l'absorbance est lue à 562 nm et les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction des ions  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$ .

$$\% = (\text{DO}_{\text{control}} - \text{DO}_{\text{essai}}) / \text{DO}_{\text{control}} \times 100$$

#### 2.5.4 Etude de l'activité cicatrisante : [64]

##### But et principe :

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité cicatrisante d'un produit testé sur une plaie. Le principe consiste en l'application des différents produits à tester, et d'un produit cicatrisant de référence sur des plaies préalablement provoqué par une série de scarifications.

##### Produits testés :

- Pommade à base d'huile essentielle de *Salvia officinalis* 2%.
- Pommade à base d'huile essentielle de *Salvia chudaei* 2%.

- Pommade à base d'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* 2%.
- Pommade à base d'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* 2%.
- Pommade de référence Madécassol ® .

Protocole expérimentale :

- Préparer les différentes pommades en utilisant la lanoline et la vaseline (3 part : 7part) comme excipient.
- Constituer 6 lots de 3 lapins chacun :
  - Lot témoin (T) : reçoit l'excipient (lanoline : vaseline) seulement.
  - Lot essai (E1) : reçoit la pommade à base d'huile essentielle de *S. officinalis*.
  - Lot essai (E2) : reçoit la pommade à base d'huile essentielle de *S. chudaei*.
  - Lot essai (E3) : reçoit la pommade à base d'E.M de *S. officinalis* .
  - Lot essai (E4) : reçoit la pommade à base d'E.M de *S. chudaei* .
  - Lot essai (E5) : reçoit la pommade de référence Madécassol ®.
- Sur la surface dorsale de chaque lapin, deux zones de 8 cm / 5 cm sont délimitées puis rasées complètement jusqu'à l'apparition nette de la peau.
- Sur chaque zone, on effectue à l'aide d'un bistouri trois scarifications parallèles et profondes à la limite du saignement.
- Les différents produits à tester sont appliqués sur le côté droit, celui de la gauche est laissé sans traitement.
- Les plaies sont traitées d'une façon quotidienne pendant une durée de 8 jours, et une observation macroscopique est réalisée avant chaque nouvelle application.
- une échelle de cotation à valeur numérique de 0 à 4 est fixée afin de suivre l'évolution du processus de cicatrisation, en tenant compte de quatre paramètres représentés dans le tableau 2.1 :

Tableau 2.1 : Paramètres de la cicatrisation [65]

scores paramètres	0	1	2	3	4
Profondeur	Profondeur nulle	Légèrement creusée	Peu profonde	Assez profonde	Très profonde
Bourgeon	Absence de bourgeon	Petit bourgeon	Gros bourgeon central	Bourgeonnement massif	excès de bourgeonnement
Œdème	Pas d'œdème	très léger œdème	Œdème visible	Œdème moyen	Œdème grave
Épaisseur de la croute	Pas de croute	Début de formation de la croute	Croute en voie d'épaississement	Croute épaisse	Croute très épaisse, granuleuse

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Etude macroscopique et microscopique des deux espèces étudiées :

#### 1.1 Examen macroscopique :

##### 1.1.1 la tige de *Salvia officinalis* L.:

Les tiges de *Salvia officinalis* L. sont quadrangulaires présentant un revêtement laineux constitué de poils tecteurs et sécréteurs.

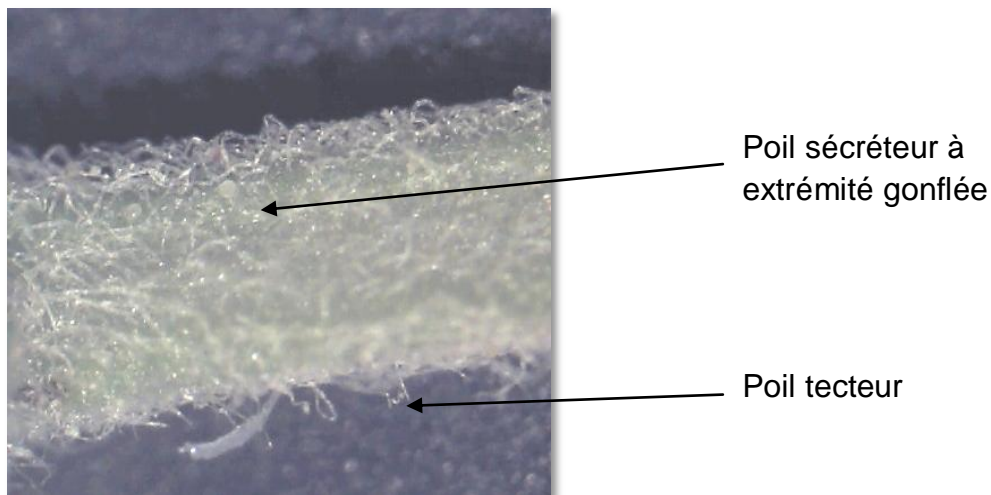


Figure 3.1 : Surface de la tige de *Salvia officinalis* L(original)

##### 1.1.2. La feuille de *Salvia officinalis* :

Les feuilles de *Salvia officinalis* L. sont oblongue-ovale (figure 3.2) avec un bord finement crénelé (figure3.3). Le limbe est épais et gaufré en raison d'un raiseau de nervures très marquées, saillantes à la face inférieure (figure3.4).

On remarque la présence d'un revêtement laineux visible sur les deux faces et plus abondant à la face inférieure. Il est constitué par deux types de poils : des poils tecteurs flexueux et des poils sécréteurs aux extrémités gonflées (figure3.5).





Figure 3.2: Limbe des feuilles de *Salvia officinalis* (original)

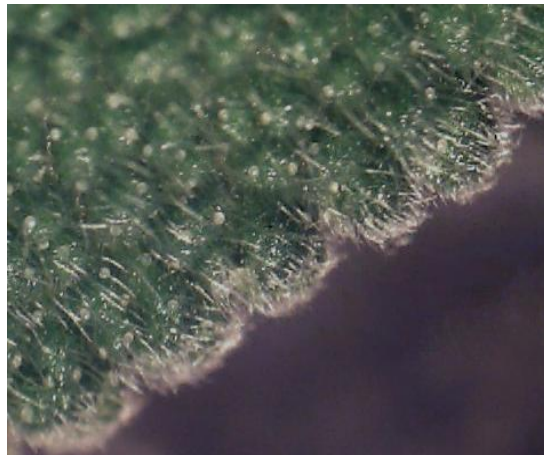


Figure 3.3 : Bord crénelé du limbe de *Salvia officinalis* (original)



Nervure centrale

Figure 3.4 : Nervures saillantes sur la face inferieur du limbe de *Salvia officinalis* (original)

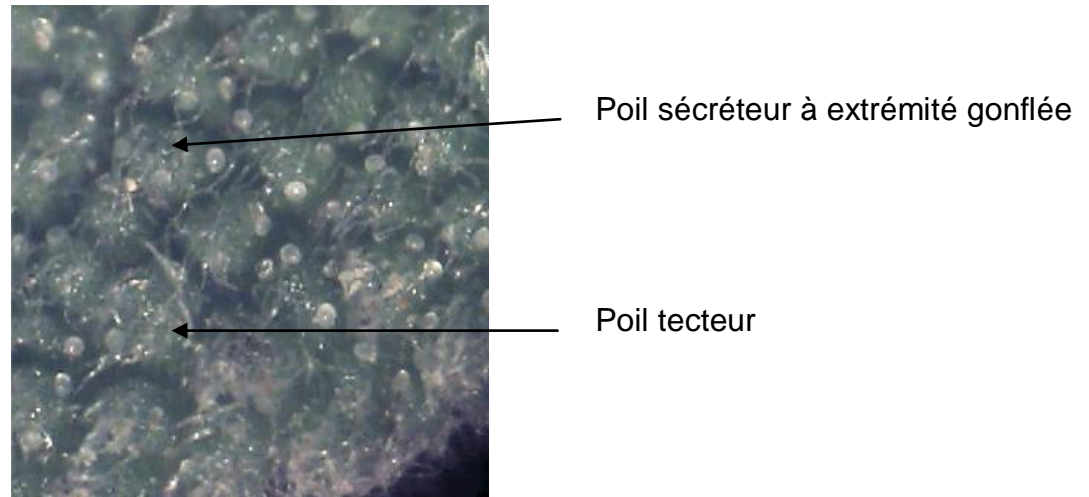


Figure3.5 : Face supérieure des feuilles de *Salvia officinalis* (original)

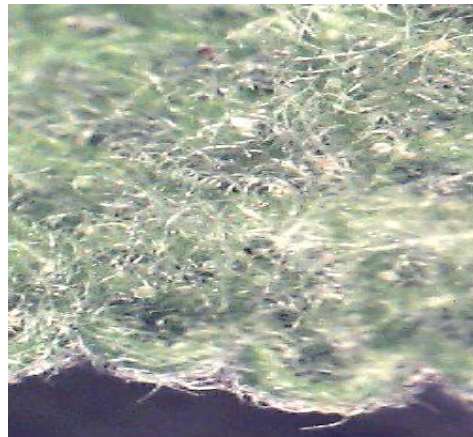


Figure 3.6 : Face inférieure des feuilles de *Salvia officinalis* (original)

### 1.1.3 La fleur de *Salvia officinalis* :

La fleur de *Salvia officinalis* est zygomorphe gamopétale (pétales violets poilues), gamosépale (sépales verts, segmentées et poilues) (figure3.7)

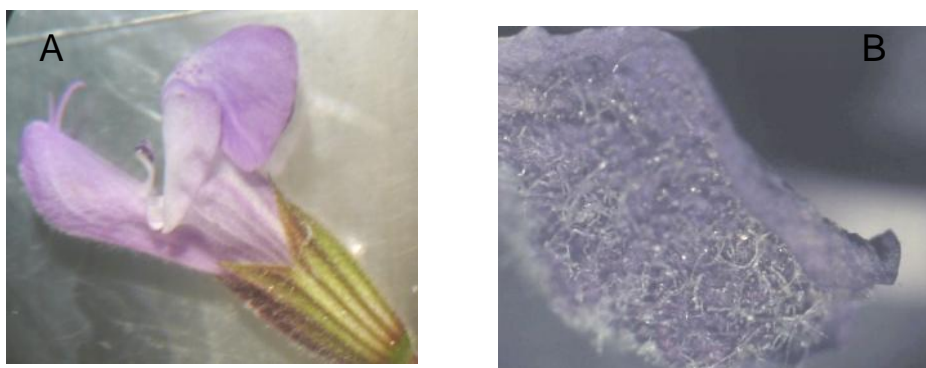


Figure3.7 : Corolle de *Salvia officinalis* observée à la loupe GX2.5 (A), GX4.5 (B) (original)

L'androcée est didyname constituée de deux étamines. Chaque étamine est formée par un long filet blanc divisé en deux branches inégales. La plus longue porte une anthère poilue de couleur jaunâtre au contour violet, composée d'un seul sac pollinique à déhiscence longitudinale, et la plus courte se termine par une sorte d'écaille (figure 3.8), qui sert de balancier pour les insectes pollinisateurs [66].

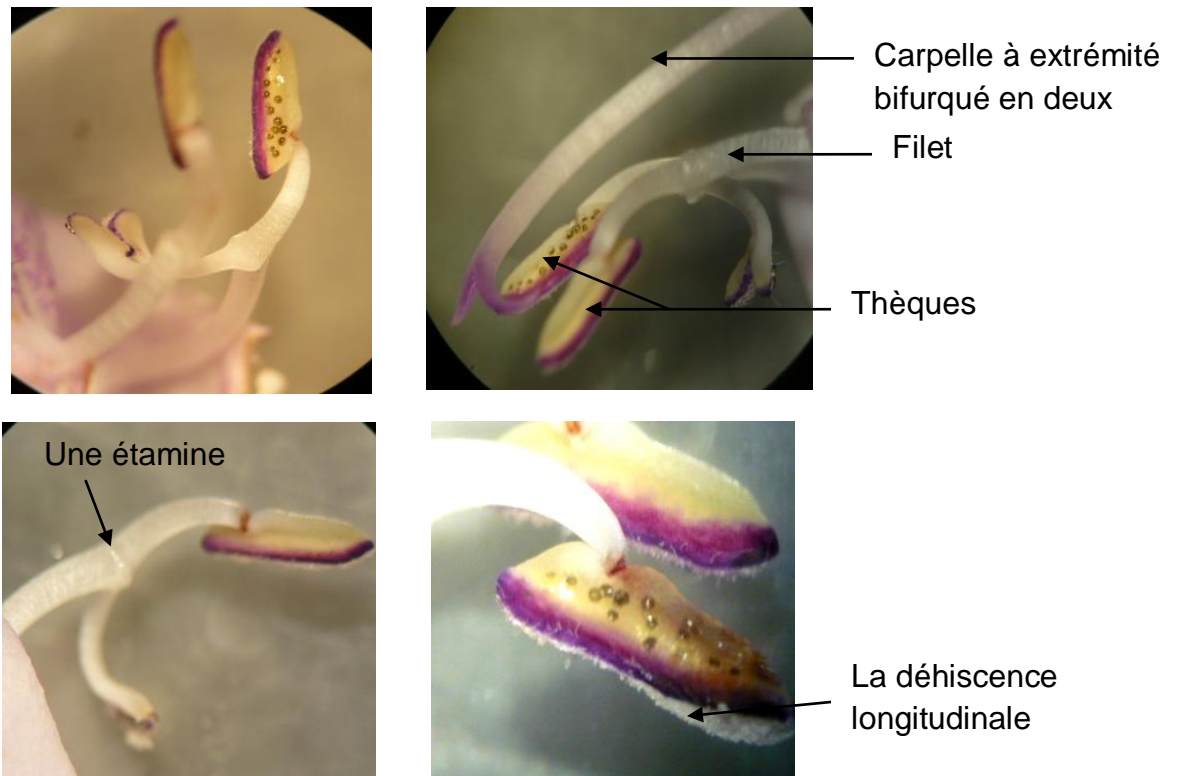


Figure 3.8: Etamines de *Salvia officinalis* vue à la loupe GX4.5 (original)

Le gynécée est central constitué par un ovaire infère à quatre ovules (figure3.9), un pistyle fin de couleur blanche et un stigmate bifurqué en deux de couleur violet (figure 3.10)



Figure3.9 : Ovaire de *Salvia officinalis* vu à la loupe GX4.5 (original)

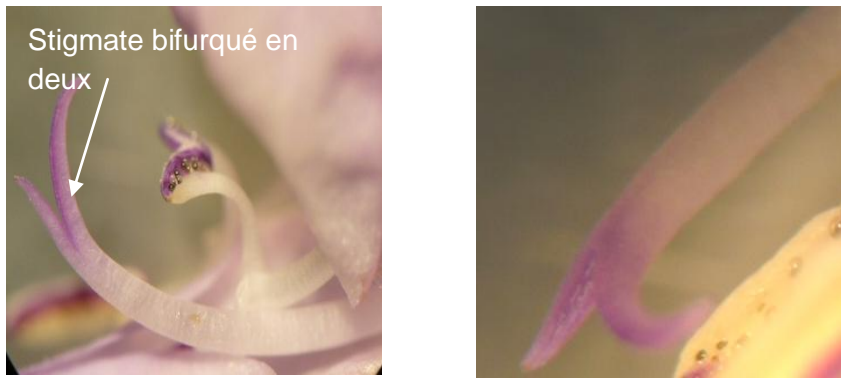


Figure 3.10 : Carpelle de *Salvia officinalis* vue à la loupeGX : 4.5 (original)

On remarque aussi la présence d'une couronne touffue de poils internes situés vers le bas de la corolle. Ils sont orientés dans les deux sens (vers le haut et le bas) (figure 3.11).

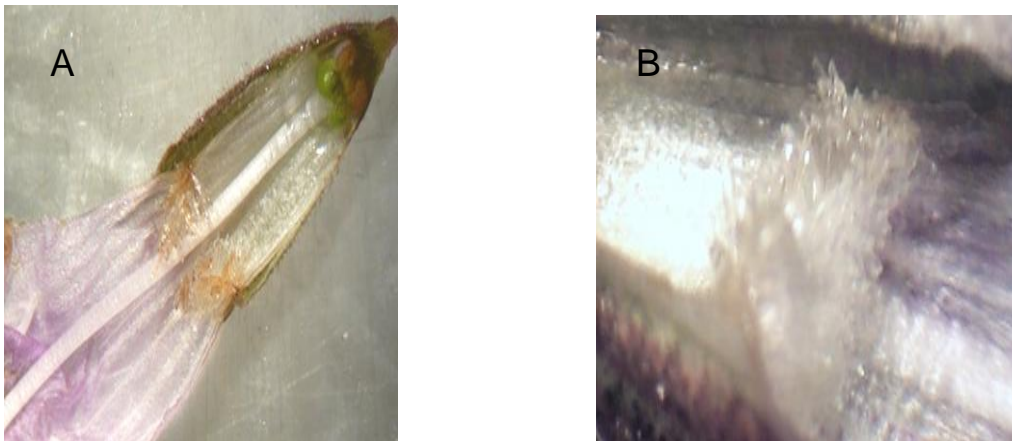


Figure 3.11: Touffe de poils des fleurs de *Salvia officinalis* observée à la loupe GX2.5 (A) et GX4.5 (B)

## 1.2 Examen microscopique :

### 1.2.1 Examen microscopique de la tige de *Salvia officinalis* :

La tige de *Salvia officinalis* se présente comme suit :

Une partie corticale constituée essentiellement d'une cuticule, un épiderme avec une seule assise cellulaire, un collenchyme angulaire composé de trois à quatre assises cellulaires avec une présence plus accentuée au niveau des angles et d'un parenchyme chlorophyllien à méats. (figure3.12) et (figure3.13).

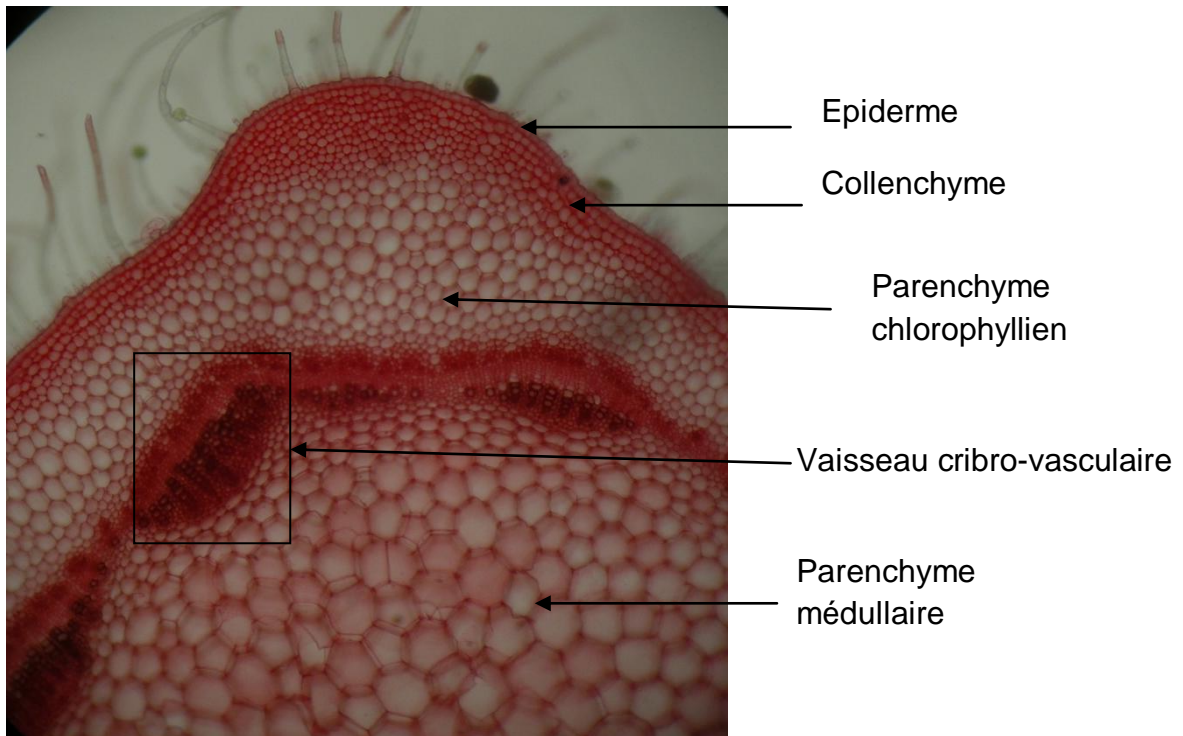


Figure 3.12 : Coupe transversale au niveau de la tige de *S.officinalis* vue au MP : GX10 (original).

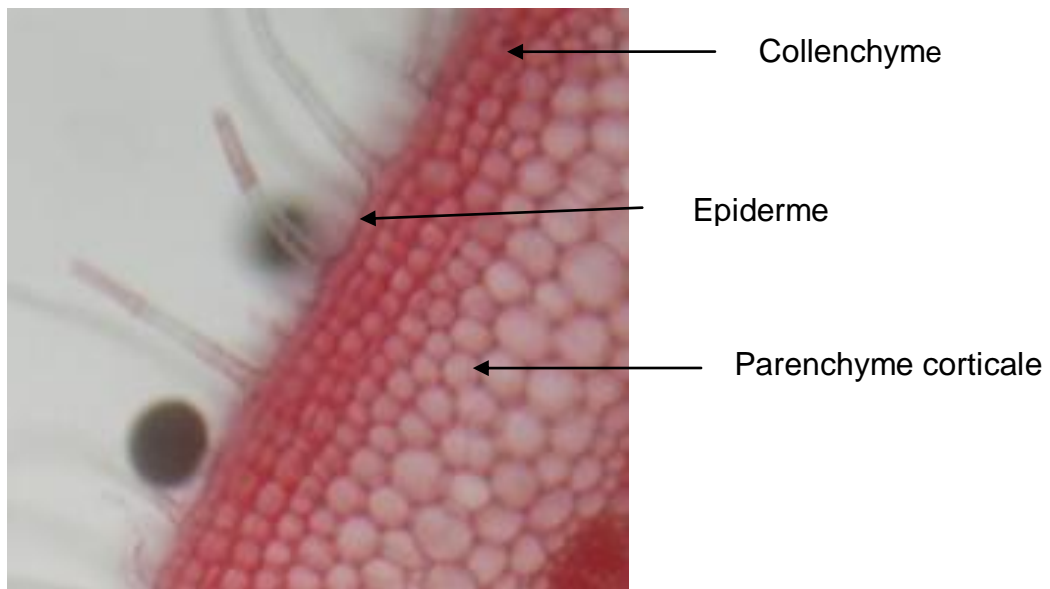


Figure 3.13 : Coupe transversale au niveau de la tige de *S.officinalis* vue au MP GX40 : Zone périphérique (original).

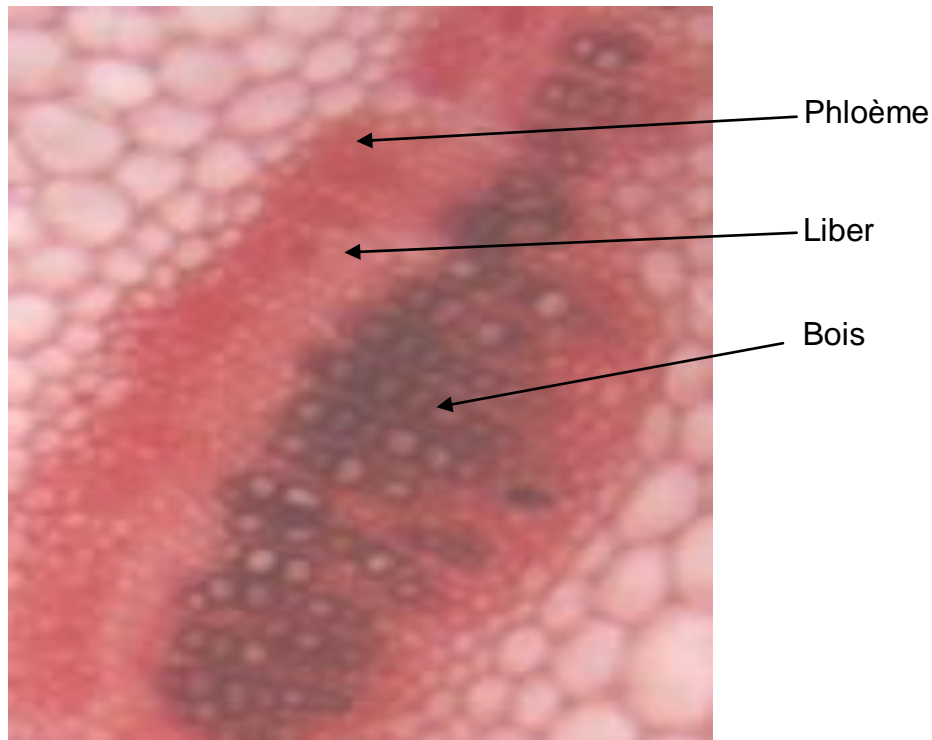


Figure 3.14 : Coupe transversale au niveau de la tige de *S.officinalis* vue au MP GX40 : Zone centrale (original).

Le cylindre central est constitué par des faisceaux cribro-vasculaires (figure 3.14) formant un pachyte continu. Chaque faisceau est constitué de l'extérieur vers l'intérieur, par un phloème, un liber (phloème secondaire), une assise libéro-ligneuse (cambium), le bois et le xylème (méta xylème et proto xylème) et enfin un parenchyme médullaire dont les parois commencent à se sclérifier .

#### 1.2.2 Examen microscopique de la tige de *Salvia chudaei* :

La tige de *Salvia chudaei* est constituée de l'extérieur vers l'intérieur d'une cuticule, une seule assise de cellules épidermiques, un anneau continu de collenchyme angulaire présentant plusieurs assises (plus de quatre) au niveau des angles, un parenchyme chlorophyllien à méats et un amas de sclérenchyme en anneau discontinu (fibres de sclérenchymes) (figure3.15 , figure3.16 )

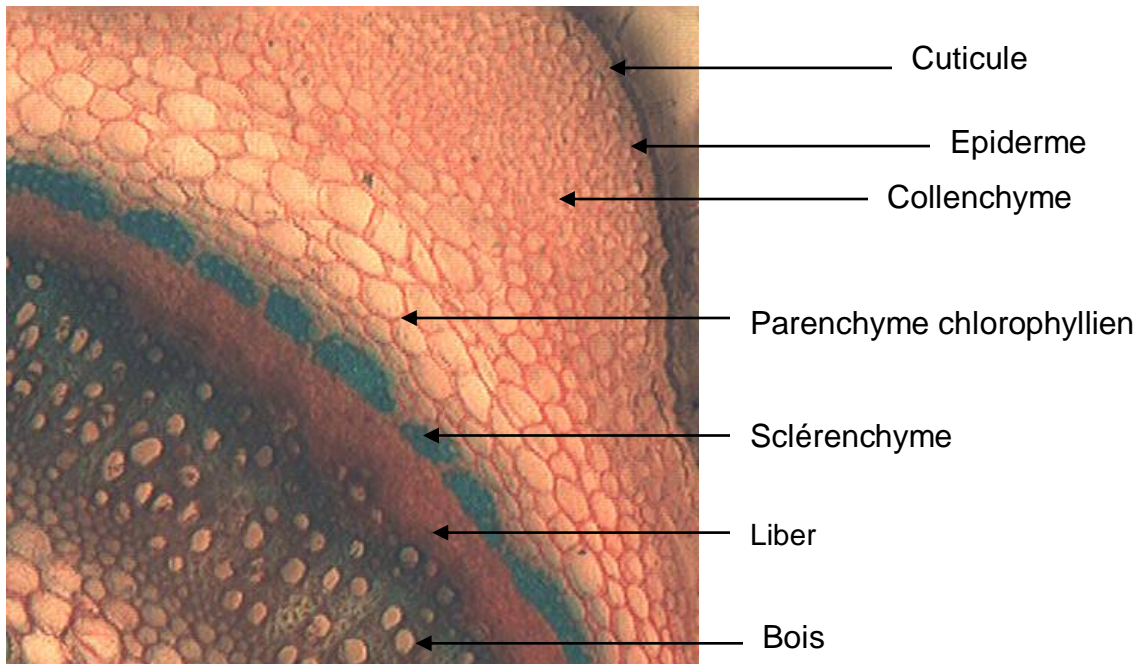


Figure 3.15 : Coupe transversale de la tige de *S.chudaei* vue au MP : GX10 (original)

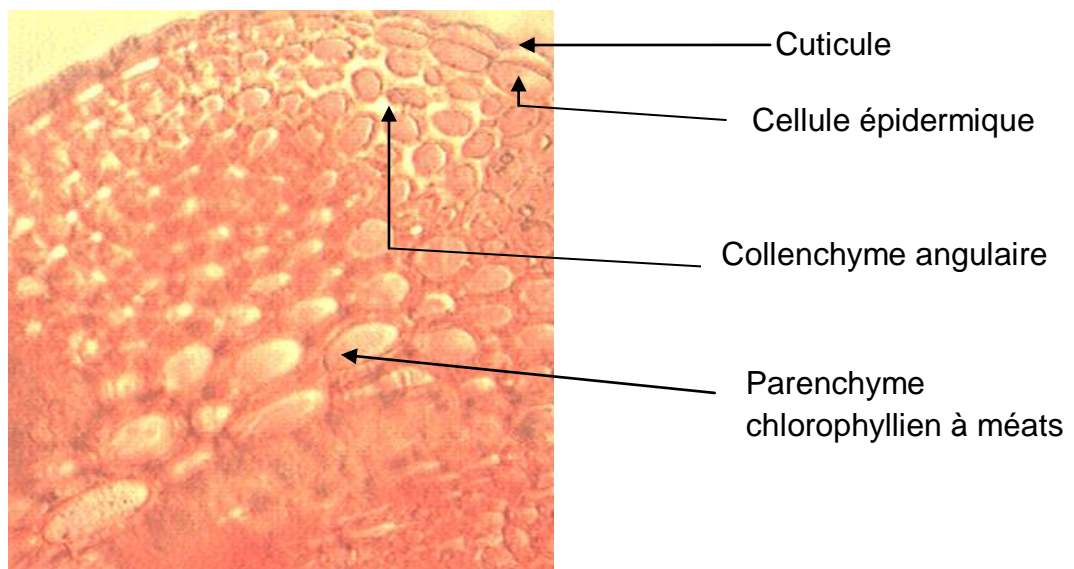


Figure 3.16 : Coupe transversale de la tige de *S.chudaei* vue au MP GX40 : Zone périphérique (original)

Le cylindre centrale est constitué par des faisceaux cribro-vasculaires disposés en pachyte continu caractérisé par la présence de structure secondaire seulement : le bois et le liber (figure 3.17), un parenchyme médullaire présentant deux types de cellules : des cellules à parois pécto-cellulosiques et des cellules productrices de tanins. Elles sont plus large avec des parois qui commence à se sclérifier et des structures granuleuse de couleur rouge (figure3.18) Il s'agit de cellules productrices de tanins.

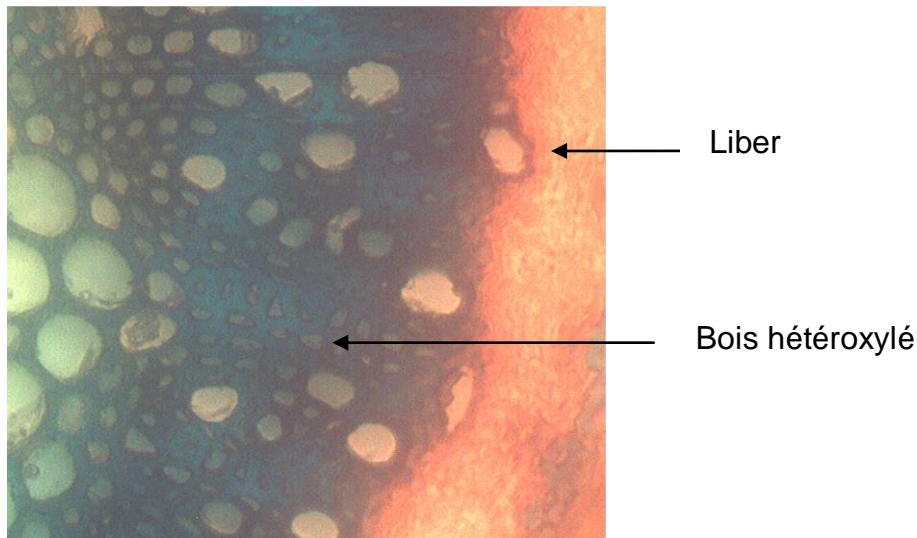


Figure 3.17: Tissus conducteurs de la tige de *Salvia chudaei* vu au MP :GX 40 (original)

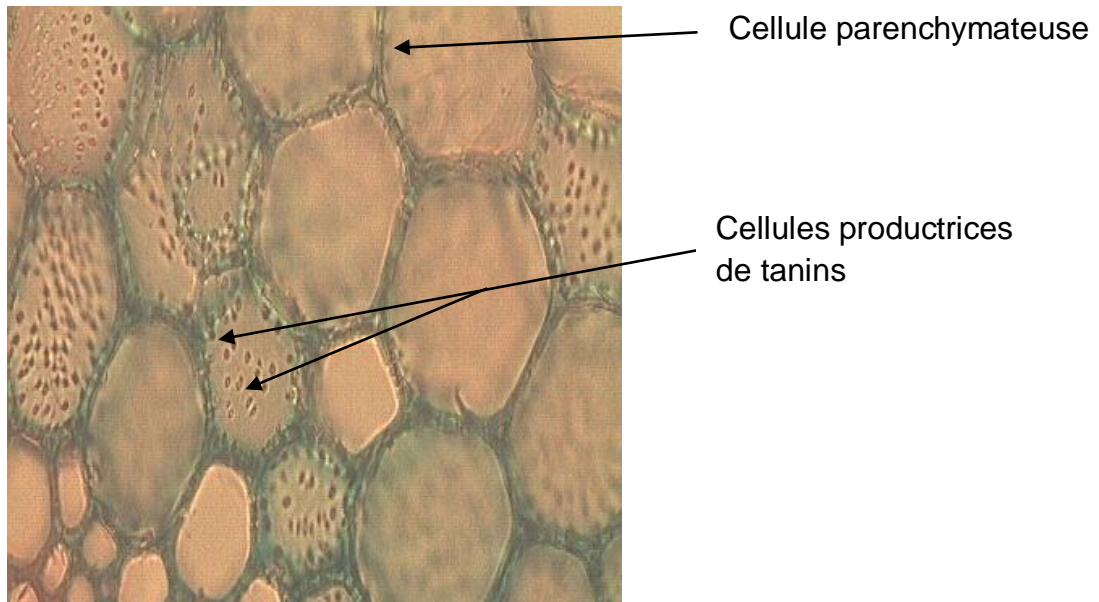


Figure 3.18: Parenchyme medulaire de la tige de *Salvia chudaei* vue au MP : GX40 (original)

### 1.3 Les différents types de poils :

L'examen macroscopique et microscopique des deux espèces a montré la présence abondante de poils. Ils sont présents au niveau des feuilles, tiges et fleurs (calice, corolle, sacs polliniques).

Au niveau des tiges et des feuilles de *Salvia officinalis* on note la présence de nombreux poils tecteurs qui sont articulés et recourbés aux extrémités pointues. Ils sont constitués de cellules étroites et allongée (figure 3.19)



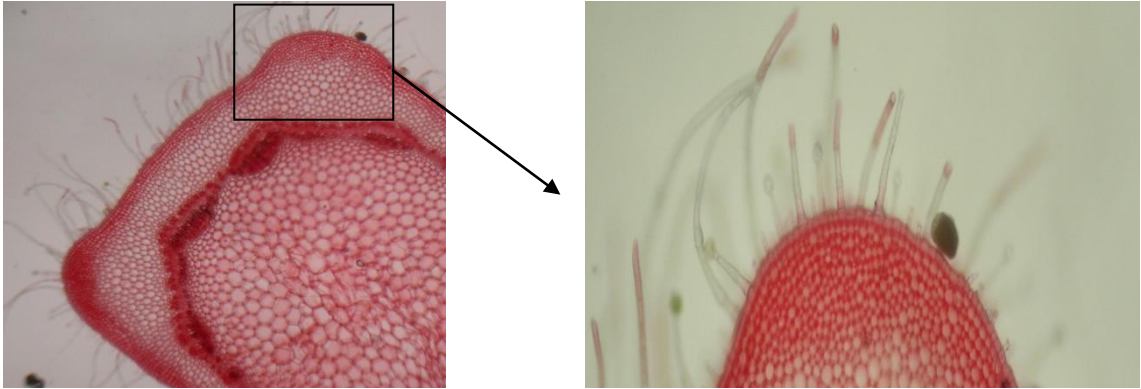


Figure 3.19 : Poils tecteurs de la tige de *S.officinalis* (original).

Ceux présents au niveau des tiges et des feuilles de *Salvia chudaei* sont courts, courbés aussi, (figure 3.20) aux extrémités pointues ou arrondies. Ils sont composés de deux à trois cellules larges. (Figure 3.21)

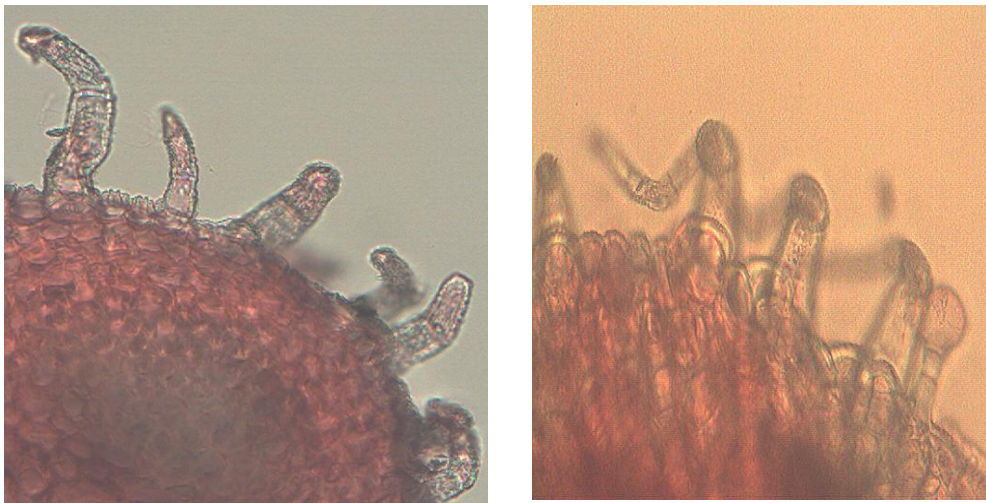


Figure 3. 20 :Poils tecteurs de la tige de *S.chudaei* vus au MP :GX40



Figure 3. 21 : Différents types de poils tecteurs de *S.chudaei* vus au MP : GX40

On note aussi la présence de nombreux poils glanduleux au niveau des tiges et des feuilles des deux espèces. C'est les poils typiques des *lamiacées*. Ils renferment une à plusieurs cellules sécrétrices, elles représentent le lieu de sécrétion des huiles essentielles.

Ces poils se présentent sous forme de :

- Poil à pédicelle unicellulaires et une tête pluricellulaire : composés de huit (figure 3.22.B), (figure3.22.D) à douze cellules rayonnantes. C'est les cellules sécrétrices (figure3.22.A). le type de poil représenté en figure 3.22.C, est observé avec un nombre important au niveau des feuilles des deux espèces

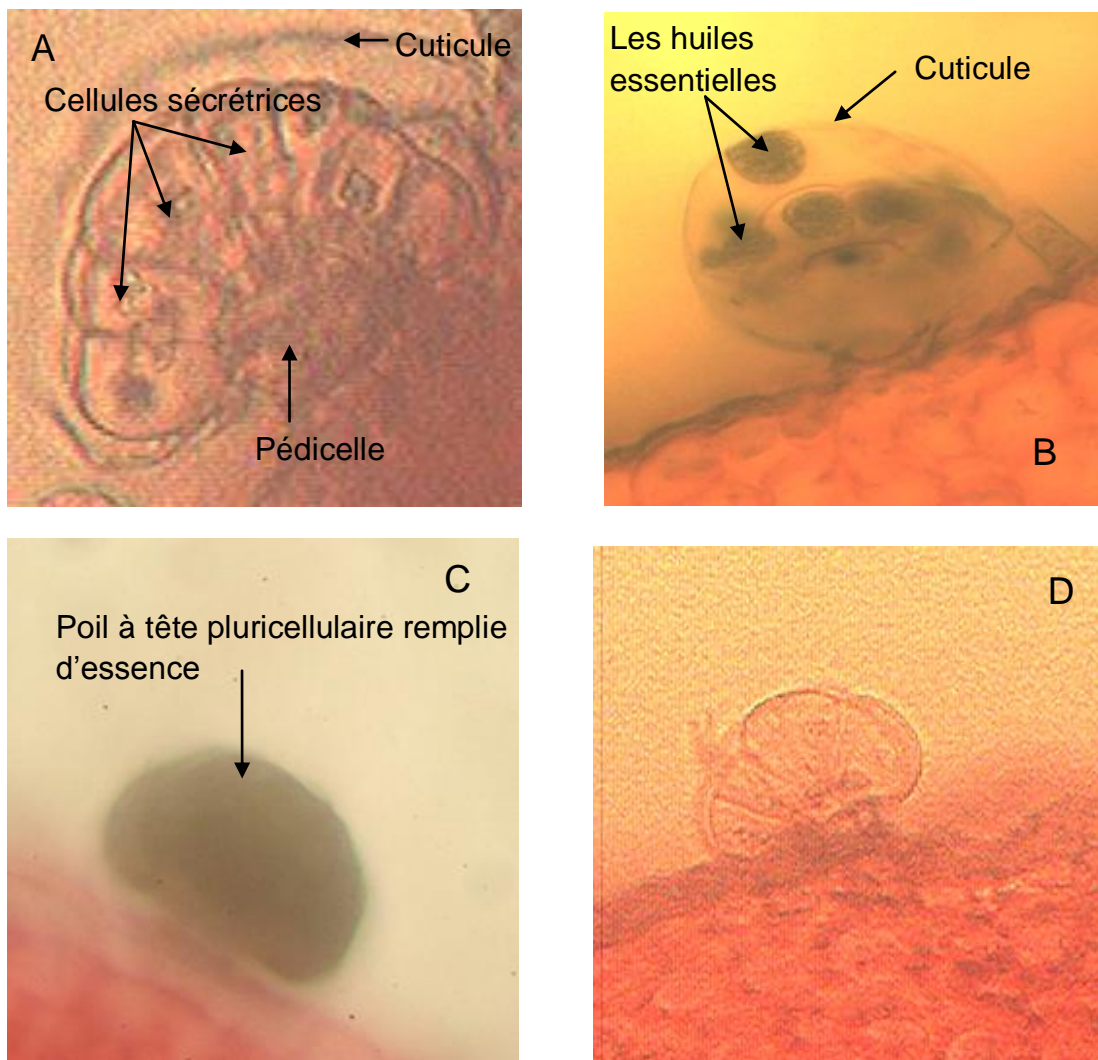


Figure 3.22 : Poils glandulaires vus au MP GX40 (original)

- poils sécréteurs sessiles à tête unicellulaire : c'est la cellule sécrétrice, et avec un pédicelle composé d'une (figure 3.23.A.B) à quatre cellules allongées. (figure 3.23 .C.D)

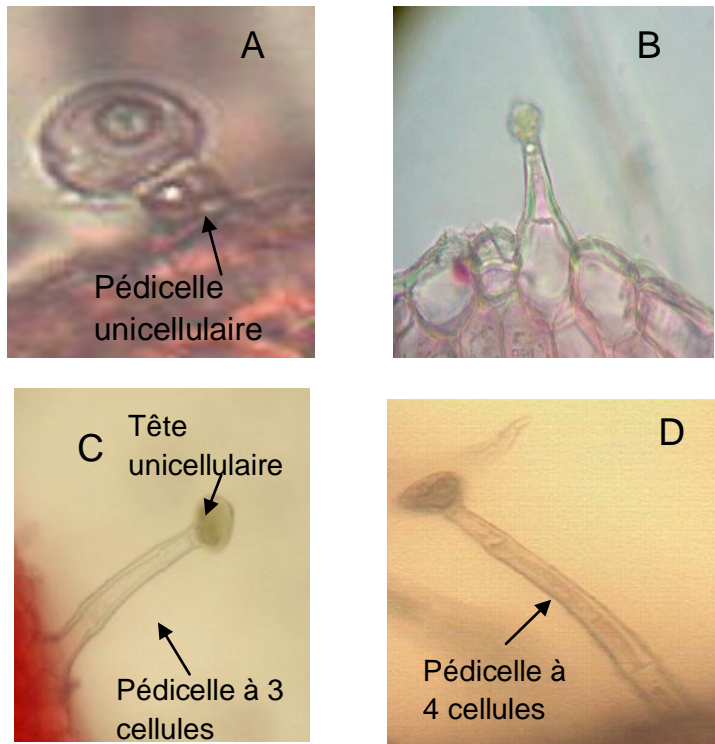


Figure 3. 23 : Poils sécréteurs sessiles vus au MP :GX40 (original)

Des structures similaires ont été observées par K.V.Venkatachalom et col chez *S.officinalis* de l'USA [67], par G.P.P.Kamatou [68] et A.Kahraman chez *S.albicaulis*, *S.dolmitica* et *S.chrysophylla* du Sud d'Afrique [69], et aussi par M.Marin et col sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* (famille des *Lamiacées*) [70].

## 2. Etude phytochimique des deux espèces :

### 2.1 Détermination du taux d'humidité :

Après un séjour de deux heures dans une étuve ventilée à 105°C.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Taux d'humidité de *S.officinalis* et *S. chudaei*

	Poids initial en (g)	Poids final en (g)	Taux d'humidité en (%)
<i>Salvia officinalis</i>	1.002	0.0102	10.02
<i>Salvia chudaei</i>	1.003	0.0867	8.67

Ces résultats sont conformes avec celles rapportés dans la pharmacopée européenne qui exige des drogues séchées avec un taux d'humidité ne dépassant pas les 15% [71].

Dans notre étude *S.officinalis* présente un taux élevé d'humidité qui est de 10.02% comparé à *Salvia chudaei*.

## 2.2. Détermination du taux des cendres totales :

Après calcination d'une prise d'essai de 1g de chaque matière végétale, les teneurs en cendres totales ont été déterminées.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.2 :

Tableau 3.2 : Teneurs en cendres totales de *S.officinalis* et *S. chudaei*

	Poids initial de la poudre en (g)	Poids des cendres en (g)	Teneur des cendres en (%)
<i>Salvia officinalis</i>	1.000	0.1311	13.11
<i>Salvia chudaei</i>	1.000	0.1579	15.79

Les taux obtenus sont supérieurs à ceux cités dans la pharmacopée européenne, qui limite le taux à 10% de maximum [71].

Les cendres de *Salvia officinalis* sont de couleur blanchâtre alors que celle de *Salvia chudaei* sont de couleur brun clair et présente un taux plus élevé. Ces différences sont dues au fait que les plantes sont originaires de deux régions géographiquement et climatiquement différentes (la méditerranée et le Sahara central :(Hoggar, Tibesti) [19].

Les plantes de la zone méditerranéenne sont plus riches en eau que celle de la zone du Sahara central. Les deux espèces sont avec un contenu en eau plus faible que celles cultivées en Europe où la pluviométrie est plus élevée durant toute l'année.

### 2.3. Caractérisation phytochimique :

La caractérisation phytochimique a pour but de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires. Les différents résultats sont résumés dans le tableau 3.3 où ils sont classés selon :

- Réaction fortement positive : ++++
- Réaction positive : +++
- Réaction moyennement positive : ++
- Test négatif : -

Tableau 3.3 : Résultats du screening phytochimique de *S.officinalis* et *S. chudaei*

	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Salvia chudaei</i>
<b>Glucosides</b>	+++	++++
<b>Flavonoïdes</b>	++++	++++
<b>tannins</b>	++++	++++
<b>Saponosides</b>	++	++
<b>mucilage</b>	++++	++++
<b>Anthocyanes</b>	++	++
<b>leucoanthocyanes</b>	+++	+++
<b>Sénnosides</b>	-	-

Ces résultats montrent d'une façon qualitative que nos deux espèces renferment des composés phénoliques comme les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes et les leuco anthocyanes. Elles contiennent aussi des saponosides et des polysaccharides qui sont sous forme de mucilage et des glucosides. Tous ces composés figurent dans la composition chimique de la sauge rapportée par Beloued [05], Max Wichtl et al [10], Bruton[15], Eberhand et al [13].

L'analyse quantitative se fera au moyen des différents dosages réalisés.

#### 2.4 Extraction des composés non volatils :

L'extraction par soxhlet a donné des condensés de couleur noir et d'aspect poudreux pour *Salvia officinalis* et glutineux pour *Salvia chudaei*. Le rendement est de 11.27% (3.38 g) pour *Salvia officinalis* et de 8.78% (4.39 g) pour *Salvia chudaei* (tableau3.4)

Tableau 3.4 : Rendement en composés non volatils.

	Poids de la poudre en (g)	Poids de l'extrait obtenu en (g)	Le rendement d'extraction en (%)
<i>Salvia officinalis</i>	30	3.38	11.27
<i>Salvia chudaei</i>	50	4.39	8.78

#### 2.4.1 Analyse de la fraction méthanolique par Spectrophotomètre UV-visible :

Nous avons effectué un balayage de l'extrait méthanolique entre 200 nm et 800 nm pour mettre en évidence la présence de molécules bioactives.

L'analyse de l'extrait méthanolique de *S.officinalis* a donné le spectre représenté en figure3.24. Les différents pics détectés sont présentés en figure 3.25

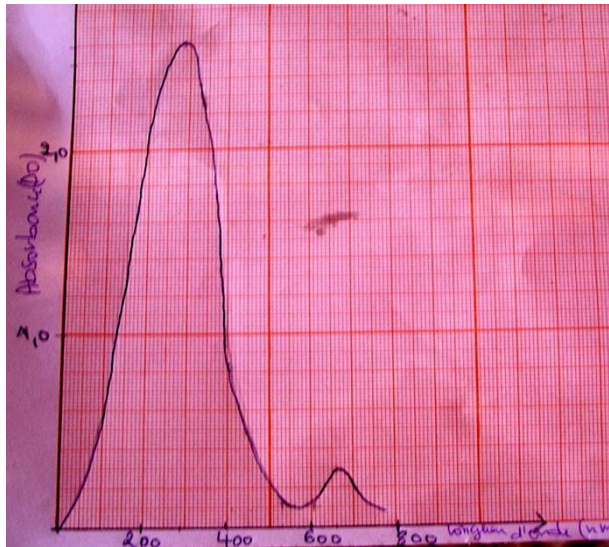


Figure 3.24: Spectre UV-visible de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis*.

Longueur d'onde en (nm)	Absorbance
286.0	2.613
410.0	0.834
536.0	0.123
607.0	0.106
664.0	0.282

Figure 3.25 : Pics détectés et leurs absorbances.

L'analyse de l'extrait méthanolique de *S.chudaei* a donné le spectre représenté en figure 3.26 :

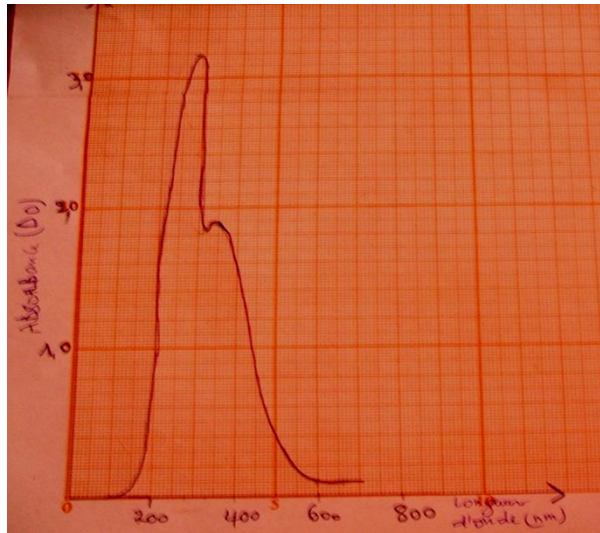


Figure 3.26 : Spectre UV-visible de l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei*

Longueur d'onde en (nm)	Absorbance
286.0	3.190
328.0	1.876
603.0	0.077
658.0	0.096

Figure 3.27 : Pics détectés et leurs absorbances.

Les deux extraits présentent un pic commun de 286 nm avec une absorbance DO = 3.190 pour *S. chudaei* et DO = 2.613 pour *S. officinalis* (figure 3.26 et 3.28).

En effet les acides phénoliques propre au genre *Salvia* comme l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et ses dérivés : carnosol, rosmanol sont détectés à 286 nm et les noyaux aromatiques généralement absorbent entre 280 et 315 nm. [72]

#### 2.4.2 Dosages des métabolites secondaires :

L'étude quantitative des extraits méthanoliques au moyen des dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur totale en polysaccharides et en composés phénoliques notamment les flavonoïdes, les flavonols et les tanins.



Après extrapolation des DO obtenues lors des dosages dans les courbes d'étalonnage, on a pu déterminer les différents taux. Ils sont exprimés en moyenne de trois essais  $\pm$  écart type. Ils sont représentés dans les figures 3.33, 3.34.

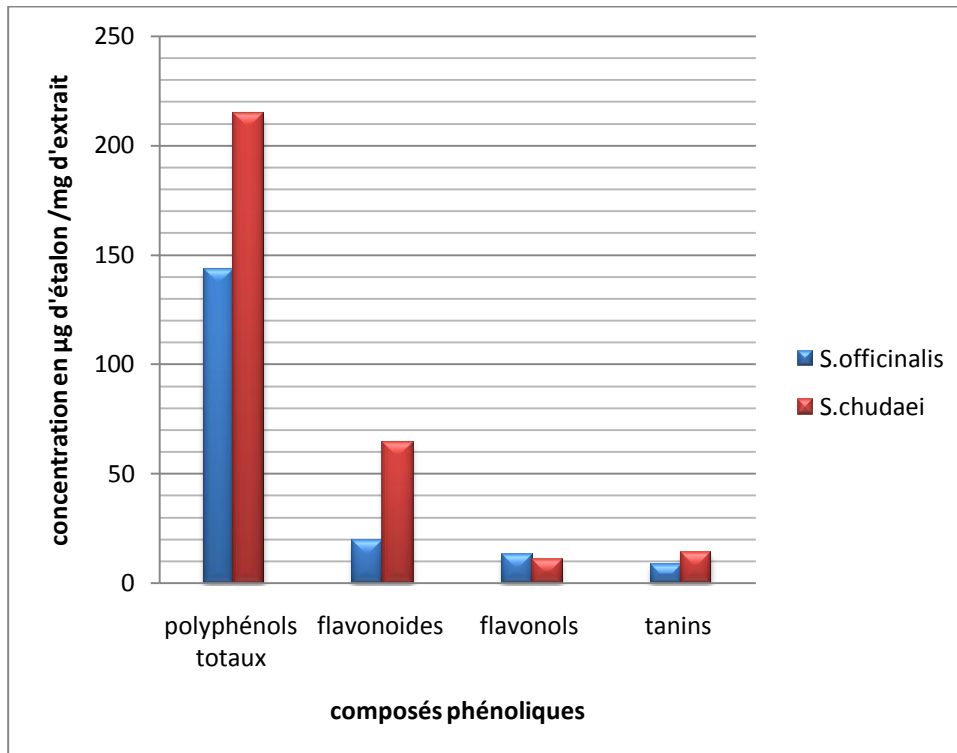


Figure 3.33 : Teneur en composé phénoliques.

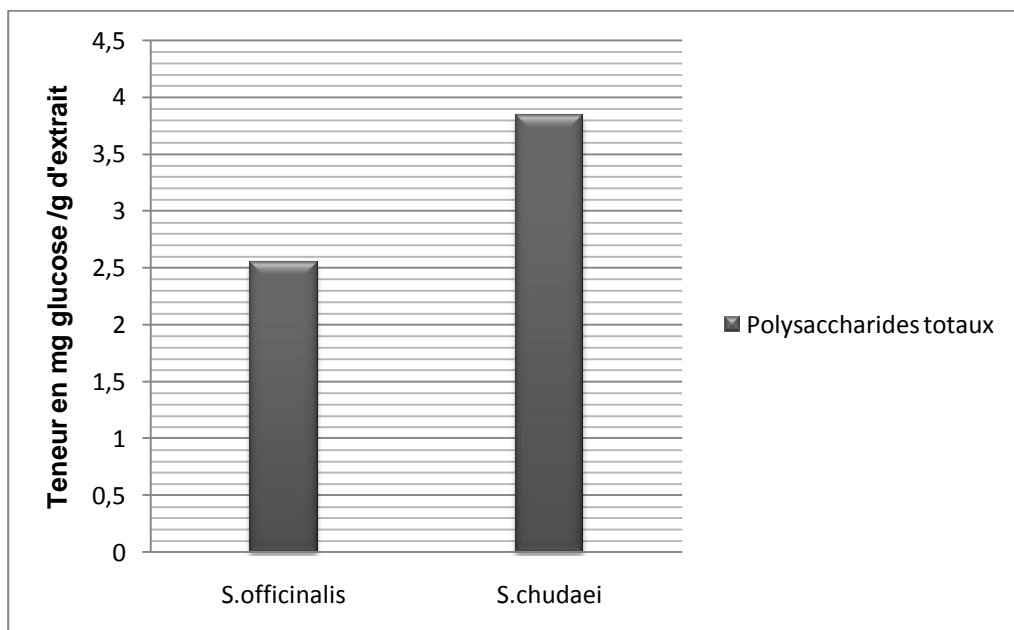


Figure3.34 : Taux des polysaccharides totaux.

Nous constatons que les deux espèces sont riches en composés phénoliques (flavonoïdes, flavonols, tanins) et que *S.chudaei* présente des teneurs plus élevées par rapport à *S.officinalis* sauf pour les flavonols (figures 3.33 et 3.34).

Les deux espèces contiennent aussi des polysaccharides, toujours avec un taux plus élevé chez *S.chudaei* qui est de 3.8 mg de glucose E/ g d'extrait.

Nous remarquons que la teneur en composés phénoliques chez *S.officinalis* qui est de :  $143.41 \pm 7.82$  est proche de celle trouvée dans les travaux de A. Wojodylo et al (2007) sur la *S.officinalis* de la Pologne [73] et N.E. Durling et al (2007) sur de la *S.officinalis* de la Nouvelle Zélande qui donnent des taux respectifs de :  $132 \pm 10 \mu\text{g}$  et  $184 \pm 0.8 \text{ GAE} / \text{mg}$  d'extrait de poly phénols totaux. [74]

En observant aussi la teneur en composés phénoliques chez les autres espèces du genre *Salvia*, (tableau 3.6) on remarque que nos résultats sont proches, et que *Salvia chudaei* présentait des teneurs plus élevées aussi bien que pour les poly phénols totaux que pour les flavonoïdes.

Tableau 3.6 : Teneur en composés phénoliques chez quelques espèces du genre *Salvia*

		<b>Poly phénols totaux</b>	<b>Flavonoïdes</b>	<b>Flavonols</b>
<b><i>S. tomentosa</i></b>	<b>[75]</b>	200±4.00	-	-
<b><i>S. virgata</i></b>	<b>[76]</b>	133.8±0.8	6.5±0.1	-
<b><i>S. hallophila</i></b>	<b>[76]</b>	73.2±1.0	2.7±0.1	-
<b><i>S. cedronella</i></b>	<b>[77]</b>	116.64±1.31	24.44±0.45	-
<b><i>S. potentillifolia</i></b>	<b>[78]</b>	214±0.02	54.2±0.15	-
<b><i>S. pisdica</i></b>	<b>[79]</b>	54.05±2.02	-	18.19±0.36
<b><i>S. sclarea</i></b>	<b>[80]</b>	204±1.1	4.5±0.8	0.7±0.1
<b><i>S. pratensis</i></b>	<b>[80]</b>	97±0.4	1.4±0.1	0.5±0.0
<b><i>S. glutinosa</i></b>	<b>[80]</b>	117±0.6	5.7±0.3	0.9±0.0

*Salvia officinalis* et *Salvia chudaei* présentent des teneurs en polysaccharides respectives de : 2.55 et 3.84 mg glucose E/ g d'extrait. Ces valeurs se rapprochent de celles trouvées par P.capek et al (2009) , ils ont réalisé l'extraction des polysaccharides de la *S.officinalis* de la Slovénie. Cette dernière présentait un rendement allant de 3.8% jusqu'à 7.9%. [81]

Et aussi les travaux de Haroma'dkova et al (1999) sur la même espèce. Ces derniers trouvent que l'extrait éthanolique de *S.officinalis* renfermait 2.4% de polysaccharides. [82]

### 2.5.Extraction des composés volatils :

L'extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau, a permis d'obtenir un rendement de 0.416% pour *Salvia officinalis* et 0.34% pour de *Salvia chudaei*.

Les caractères organoleptiques des deux huiles sont présentés dans le tableau 3.7

Tableau 3.7 : Caractères organoleptiques des huiles essentielles obtenues.

	<b>HE de <i>Salvia officinalis</i></b>	<b>HE de <i>Salvia chudaei</i></b>
<b>Aspect</b>	Liquide clair	Liquide clair
<b>Couleur</b>	jaune pâle	Bleu-vert
<b>Odeur</b>	Camphré rappelant l'odeur de la plante	Agréable, épicée rappelant l'odeur de la plante

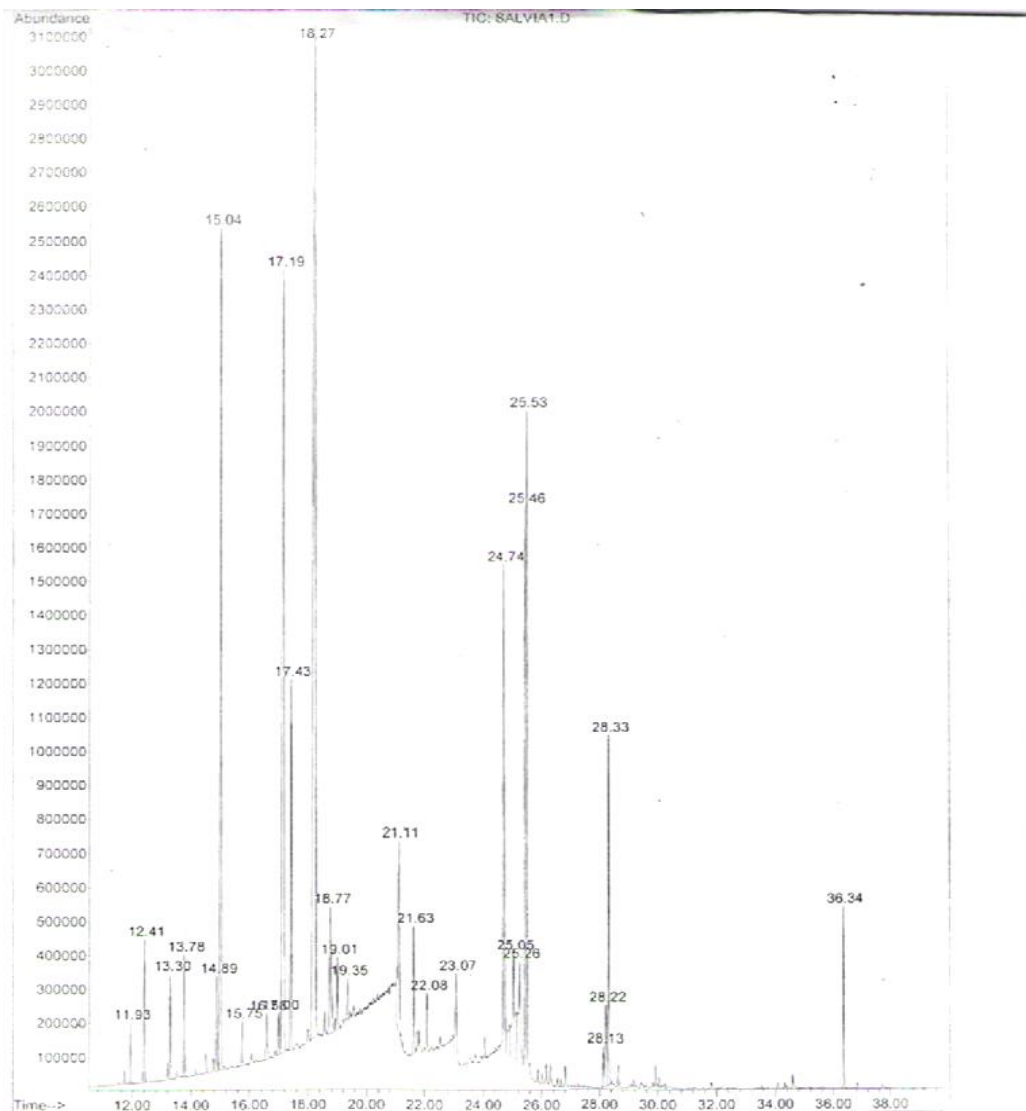
La couleur vert-bleu de l'huile de *S.chudaei* est du à sa teneur importante en l'azulène : composé de couleur bleu. [83]

## 2.5.1. Résultats de l'analyse par CG/MS :

### 2.5.1.1. La composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

L'analyse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par CG/MS révèle la présence de 29 composés (figure 3.35) avec une prédominance des mono terpènes dont : le camphre (22.32%), l' $\alpha$ -thujone (14.06%), le 1-8 cinéole (10.54%), le  $\beta$ -thujone (3.76%), le camphène (1.35%), le D-limonène (1.11%), le  $\beta$ -myrcène (1.07%), le  $\beta$ -pinène (0.94%) et l' $\alpha$ -pinène (0.55%).

Les sesquiterpènes présentent une masse totale de 15.34 % dont les composées majoritaires sont : l' $\alpha$ -caryophyllène (5.91%), le (M) caryophyllène (5.76%), le viridiflorol (3.67%).



**Figure 3.35 :** Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Le tableau 3.8 donne la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

Tableau 3.8 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

Composés	Temps de rétention (min)	Pourcentage (%)
$\alpha$ -pinène	11.93	0.55
Camphène	12.408	1.35
$\beta$ -pinène	13.30	0.95
$\beta$ -myrcène	13.78	1.08
D-limonene	14.89	1.11
eucalyptol	15.05	<b>10.55</b>
$\alpha$ -thujone	17.18	<b>14.06</b>
$\beta$ -thuyone	17.42	3.77
Camphre	18.27	<b>22.32</b>
(M)-caryophyllène	24.74	5.77
$\alpha$ -caryophyllène	25.46	5.92
Viridifloral	28.22	3.68

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* est très riche en mono terpènes. Ils représentent 68.52% de la masse totale de l'huile.

Ce sont essentiellement des composés mono terpéniques oxygénés (cétones et époxydes mono terpéniques) : le camphre (22.32%), le 1-8 cinéole (10.55%), l' $\alpha$ -thujone (14.06%) et le  $\beta$ -thujone (3.77%). Ce sont les composés majoritaires de l'huile.

Ces résultats attribuent à notre huile le chimio type : camphre/ $\alpha$ -thujone/1-8 cinéole.

On note aussi la présence des carbures mono terpéniques tel que : le camphène (1.35%), le D-limonène (1.15%), le  $\beta$ -myrcène (1.075%), le  $\beta$ -pinène (0.947%), l' $\alpha$ -pinène (0.55%).

Les composés sesquiterpéniques représentent 31.47% de la masse totale de l'huile. Ce sont essentiellement des carbures sesquiterpéniques tel que l' $\alpha$ -caryophellène (5.92%), le (M) caryophyllène (5.77%) et un alcool sesquiterpénique qui est le viridiflorol (3.68%).

Le profil défini par la norme NF ISO 9909 (1999) pour l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est le suivant :  $\alpha$ -thujone (18-43%),  $\beta$ -thujone (3-8.5%), camphre (4.5-24.5%), cinéole (5.5-13%), humulène (0-12%),  $\alpha$ -pinène (1-6.5%), camphène (1.5-7%), limonène (0.5-3%), linalol libre ou estérifié (1% au maximum), acétate de bornyle (2.5% au maximum). [15]

Nous remarquons que la composition chimique de notre huile est conforme au profil défini par la norme ISO. Les pourcentages trouvés appartiennent aussi aux intervalles proposés, sauf pour le linalol et l'acétate de bornyle qui ne figurent pas dans notre profil. Ceci s'explique soit par leur absence ou bien par le fait qu'ils sont parmi les composés non identifiés d'autant plus, qu'ils présentent de faible pourcentage.

Les études réalisées sur la *Salvia officinalis* récoltées dans d'autres régions comme la Tunisie, sud de Brésil, la Serbie et l'Italie donnent les profils suivants :

**Tableau 3.9 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis* récolté dans différents régions.

<b>Composés</b>	<b>HE d'Algérie</b>	<b>Norme</b>	<b>HE de Tunisie [84]</b>	<b>HE d'Italie [85]</b>	<b>HE de Serbie [86]</b>	<b>HE de S. Brésil [87]</b>
<b><math>\alpha</math>-pinène</b>	0.55	1-6.5	2.74	1.21	3.9	3.07
<b>Camphène</b>	1.35	1.5- 7	1.03	0.85	2.0	4.40
<b><math>\beta</math>-pinène</b>	0.95	–	0.80	7.22	7.6	9.87
<b>Myrcène</b>	1.08	–	0.63	0.75	–	–
<b>Limonène</b>	1.14	0.5-3		0.67	0.8	
<b>1,8-cinéol</b>	10.55	5.5-13	33.27	7.73	16.2	14.8
<b><math>\alpha</math>-thujone</b>	14.06	18- 43	13.45	39.32	21.5	24.8
<b><math>\beta</math>-thujone</b>	3.77	3- 8.5	18.40	3.07	2.7	3.97
<b>Camphre</b>	22.32	4.5-24.5	3.31	2.12	4.0	10.9
<b>Bornéol</b>		–	7.39		3.2	11.1
<b><math>\beta</math>-caryophyllène</b>	5.77	–	0.12		5.0	2.89
<b><math>\alpha</math>-Humulène</b>	5.92	0- 12	0.30	12.42	11.2	1.47
<b>Viridiflorol</b>	3.67	–	–		6.0	–

L'huile essentielle de *S.officinalis* de la Tunisie est composée essentiellement de : L' $\alpha$ -thujone (13.45%), l' $\alpha$ -humulène (0.30%), le 1,8-cinéol (33.27%), le  $\beta$ -pinène (0.80%), le  $\beta$ -thujone (18.40 %) et le camphre (3.31%). [84]

Alors que celle d'Italie donne le profil suivant :

L' $\alpha$ -thujone (39,32%), l' $\alpha$ -humulène (12,42%), le 1,8-cinéol (7,73%), le  $\beta$ -pinène (7,22%), le  $\beta$ -thujone (3,07%) et le camphre (2,12%). [85]

A.Velīčkovič et al (2003) ont trouvés que l'huile essentielle de Serbie est caractérisée par la présence du :  $\alpha$ -thujone(21.5%),1,8-cinéol (16.2%), $\alpha$ -humulène(11.2%), viridiflorol (6.0%), caryophyllène (5.0%),  $\beta$ -pinène(7.6%), $\alpha$ -pinène (3.9%), bornéol(3.2%), camphre(4%),  $\beta$ -thujone( 2.7%), camphène (2.0%).[86]

Alors que l'étude faite par A .Delamare et al sur l'huile extraite de la *Salvia officinalis* du sud brésilien présente la composition suivante :  $\alpha$ -thujone(24.8%),1,8-cinéol (14.8%), $\alpha$ -humulène(1.47%),  $\beta$ -caryophyllène (2.89%),  $\beta$ -pinène(9.87%), $\alpha$ -pinène (3.07%), bornéol(11.1%), camphre(10.9%),  $\beta$ -thujone( 3.97%), camphène (4.40%).[87]

Nous remarquons que les différentes huiles présentent une composition similaire avec la notre mais avec des pourcentages différents (tableau3.9). Ceci est due d'un coté aux différences environnementales : climatique, saisonnière et géographiques et d'un autre coté aux différences génétiques [88]

#### 2.5.1.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia chudaei* :

L'analyse de l'huile essentielle de *Salvia chudaei* par CG/MS révèle la présence de 53 composés (figure 3.36). Ils donnent un profil totalement différents de celui de *salvia officinalis* (tableau3.10), a part la présence de quelques composés tel que :  $\alpha$ -pinène, limonène,  $\beta$ -pinène, camphène, caryophyllène qui sont communs aux deux espèces.



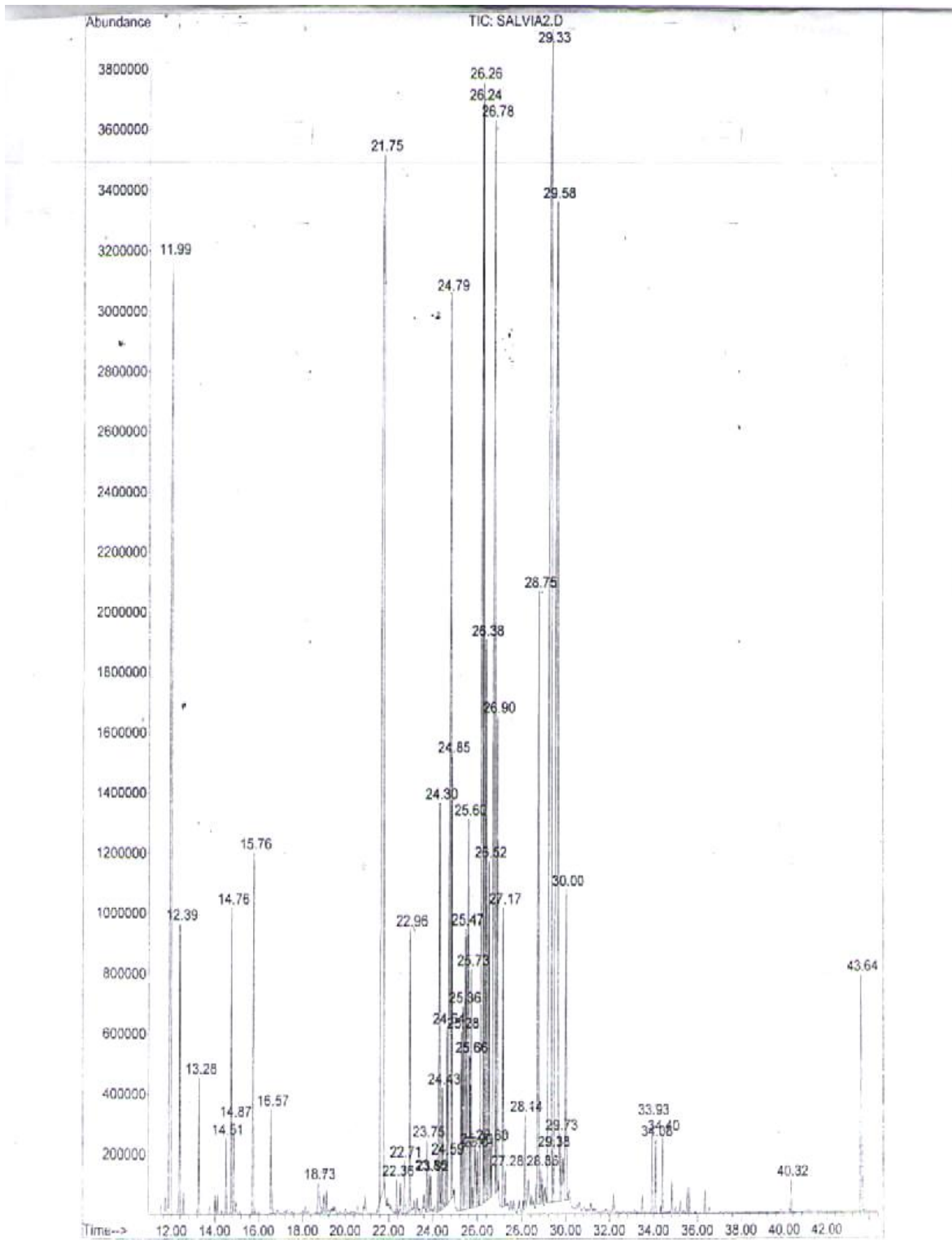


Figure 3.36 : profil chromatographique de l'huile essentielle de

*Salvia chudaei*.

Tableau 3.10 : Composition chimique de l'huile essentielle de *S.chudaei*

Composé	Temps de rétention (min)	Pourcentage (%)
$\alpha$ -pinène	11.98	<b>6.22</b>
camphène	12.39	1.02
$\beta$ -pinène	13.27	0.45
cymène	14.75	1.06
D-limonène	14.88	0.30
$\Delta^3$ - carène	15.75	1.26
Bornéol	18.74	0.27
Acétate de bornyl	21.75	<b>11.37</b>
Caryophyllène	24.79	<b>5.51</b>
(R)-Azulène	26.24	<b>8.43</b>
Delta-selinène	26.37	2.62
Ylangène	26.60	0.17
$\alpha$ -Muurollène	27.17	1.10
Cubenol	28.75	2.71
isoledeène	29.34	<b>20.36</b>
Guaiol	29.58	<b>10.26</b>
Bisabolol	29.99	1.40
Verticiol	34.08	0.26

L'huile essentielle de *Salvia chudaei* est plus riches en composés sesquiterpéniques. Ils représentent 59.22 % de la totalité des composés et présentent une masse totale de 44.11%.

Ce sont essentiellement des alcools sesquiterpéniques tel que le guaiol (10.26%), le cubenol (2.72%), le bisabolol (1.40%) et des carbures sesquiterpéniques : (M)-isoledeène (20.36%), (M)-caryophyllène (5.51%),  $\delta$ -selinène (2.62%),  $\alpha$ -muurolène (1.10%), yalangène (0.17%).

Les composés monoterpéniques représentent 44.78% de la masse totale.

Ils sont essentiellement sous forme de carbures mono terpéniques : (R)-azulène

(8.43%),  $\alpha$ -pinène (6.22%),  $\Delta^3$ -carène (1.26%), cymène (1.06%), camphène (1.02%),  $\beta$ -pinène (0.45%), (D)-limonène (0.30%).

On note également la présence d'un alcool mono terpénique et son ester, le bornéol (0.27%) et l'acétate de bornyle (11.37%) et la présence aussi d'un di terpène, le verticiol (0.26%).

on comparant la composition chimique de l'huile essentielle de *S.chudaei* avec les espèces du genre *Salvia*, nous avons trouvé qu'elle présentait avec *Salvia stenophylla*, *Salvia repens* et *Salvia runcinata* (originaires du Sud d'Afrique) [68], plusieurs composés en commun tel que : l' $\alpha$ -bisabolol , le guaiol, le cadinène, le bornéol, l'acétate de bornyle, l' $p$ -cymène, l' $\delta$ -selinène et le  $\Delta^3$ -carène.

### 3.Résultats de l'étude des activités biologiques :

#### 3.1.Activité anti-microbienne :

L'étude qualitative de l'activité anti-microbienne des deux espèces au moyen de la méthode de diffusion sur milieu gélosé et en utilisant des disques absorbants, a donné les résultats présentés dans le tableau3.11 :

Tableau 3.11: Résultats de l'activité anti-microbienne des deux espèces.

	<i>Salvia officinalis</i>		<i>Salvia chudaie</i>	
	HE	EM	HE	EM
<i>Escherichia coli</i> ATTC 25922	27.67±2.60	11.67±0.33	N.A	13.67±0.67
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853	N.A	N.A	N.A	N.A
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923	27.34±0.88	11.34±0.33	11.34±0.33	19.34±0.88
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATTC 12228	28±4.72	20±0.57	11±0.57	21.34±1.45
<i>Sterptococcus pneumoniae</i> ATTC 49619	30±0.88	11.33±0.88	27.66±1.45	14.34±1.85
<i>Enterococcus faecalis</i> ATTC 29122	21.33±1.33	N.A	24±4.58	N.A
<i>Shigella flexneri</i>	22±0.57	N.A	N.A	15.66±0.88
<i>Sallmonella sp</i>	26±3.05	N.A	N.A	N.A
<i>Candida albicans</i>	39± 2.33	10.66±0.33	N.A	10.34±0.33

(HE : huiles essentielle, EM : extrait méthanolique, N.A : non actif)

Les différents extraits testés (huiles essentielles et extraits méthanoliques) ont tous montrés une activité anti-microbienne marquée, contre la gamme de microorganismes testés. Sauf pour *Pseudomonas aeruginosa*, qui a résisté aussi bien aux extraits méthanoliques que les huiles essentielles des deux espèces.

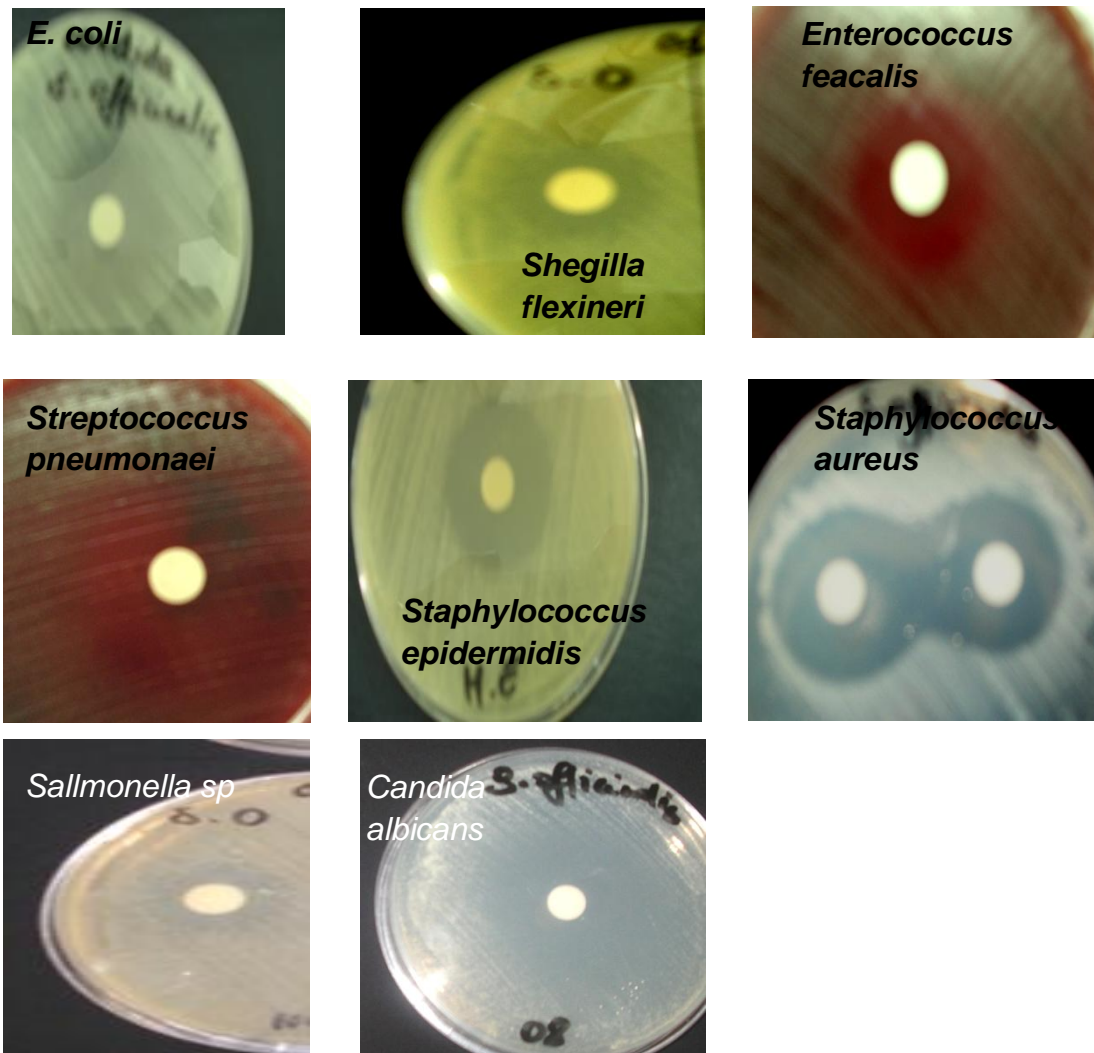
✓ Les huiles essentielles :

La plupart des souches montre plus de sensibilité pour l'huile essentielle de *S.officinalis* que celle de *S.chudaei*. Ceci se traduit par une zone d'inhibition plus importante.

Toutes les souches testées : *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri* et *Sallmonella sp* présentent des zones d'inhibition respectives de 27.67 - 27.34 -28- 21.33 - 22 et 26 mm de diamètre pour l'huile essentielle de *S.officinalis*.

On note plus de sensibilité chez la souche *Candida albicans* et *Sterptococcus pneumoniae* et qui donnent des zones d'inhibition respectives de 39 et 30 mm de diamètre.(figure 3.37)

Ces résultats confirment les vertus de *Salvia officinalis* dans le traitement des diarrhées [89], la tuberculose et aussi son efficacité contre le champignon responsable du muguet [09].



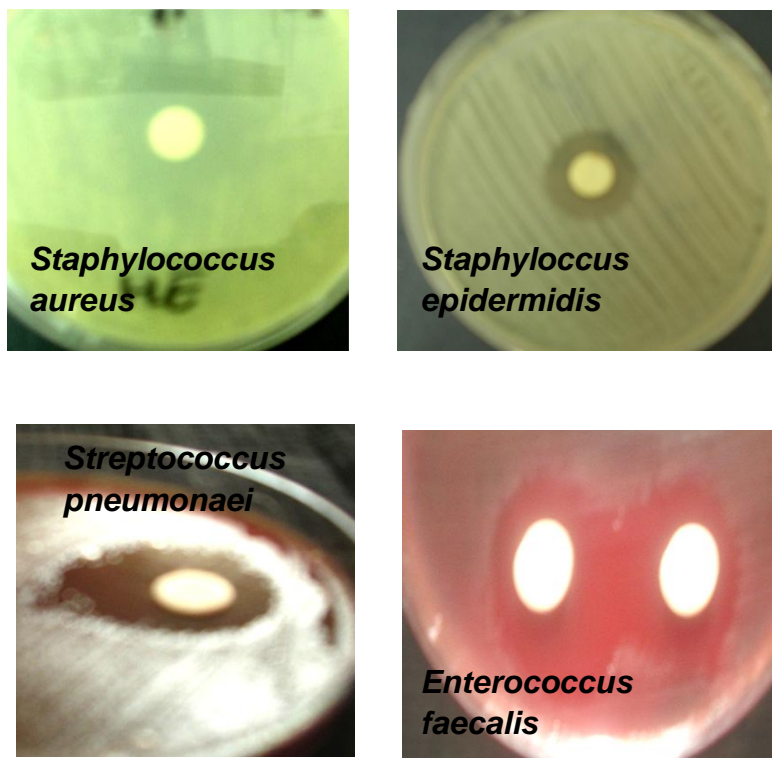
**Figure 3.37 :** Résultats de l'activité anti-microbienne de l'huile essentielle de *S.officinalis*.

Le fort pouvoir anti-microbien de l'huile essentielle de *S.officinalis* peut être attribué à la présence et en grande concentration du thujone (14.06%), 1,8-cinéole (10.55%) et le camphre (22.32%), dont l'activité antimicrobienne a fait l'objet de plusieurs études [90], [91], [92]. Ces derniers rapportent que les trois composés mono terpéniques possédaient un potentiel antimicrobien et antifongique important.

Les études faites par Azaz et al [93], Ulubelen et al [94] sur *Salvia sclarea* et *Satureja coerulea*, rapportent aussi les propriétés anti-microbiennes du caryophyllène et son oxyde. Ces deux composés figurent dans le profil de notre huile essentielle. Ils présentent des pourcentages respectifs de 5.77% et 5.92%.

L'huile essentielle de *S.chudaei* montre moins d'effet antimicrobien que l'huile essentielle de *S.officinalis*.

Elle est inactive sur les bactéries Gram<sup>-</sup> testés comme *E.coli*, *Salmonella sp*, *Shigella flexneri*, et la levure *Candida albicans*, mais elle a inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, qui présentent des zones d'inhibitions respectives de 11.34 -11- 27.66 – 24 mm de diamètre. (figure3.38)



**Figure 3.38 :** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *S.chudaei*.

En général, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée est plus prononcée contre les bactéries Gram<sup>+</sup> que les bactéries Gram<sup>-</sup>[95], [96]. Cette résistance peut être due à la présence de membrane phospholipidique imperméable aux composés lipophiles [97].

L'absence de cette barrière chez les bactéries Gram<sup>+</sup> permet le contact direct entre les constituants hydrophobes de l'huile essentielle et la bicouche phospholipidique de la membrane bactérienne d'où ils agissent soit en augmentant la perméabilité des

ions libérant ainsi les constituants vitaux intracellulaires, ou bien en altérant le système enzymatique bactérien. [98], [99].

L'activité anti-microbienne des constituants de l'huile essentielle de *S.chudaei* tel que le caryophyllène (5.51%) et l'acétate de bornyle (11.37%) a été rapportée dans les travaux d'Azaz et al [93].

✓ Les extraits méthanoliques :

L'extrait méthanolique de *S.officinalis* s'est montré actif contre *E.coli* (11.34 mm), *Staphylococcus aureus* (11.34 mm), *Staphylococcus epidermidis* (20 mm), *Sterptococcus pneumoniaei* (11.33 mm), *Candida albicans* (10.66 mm) (figure 3.39)

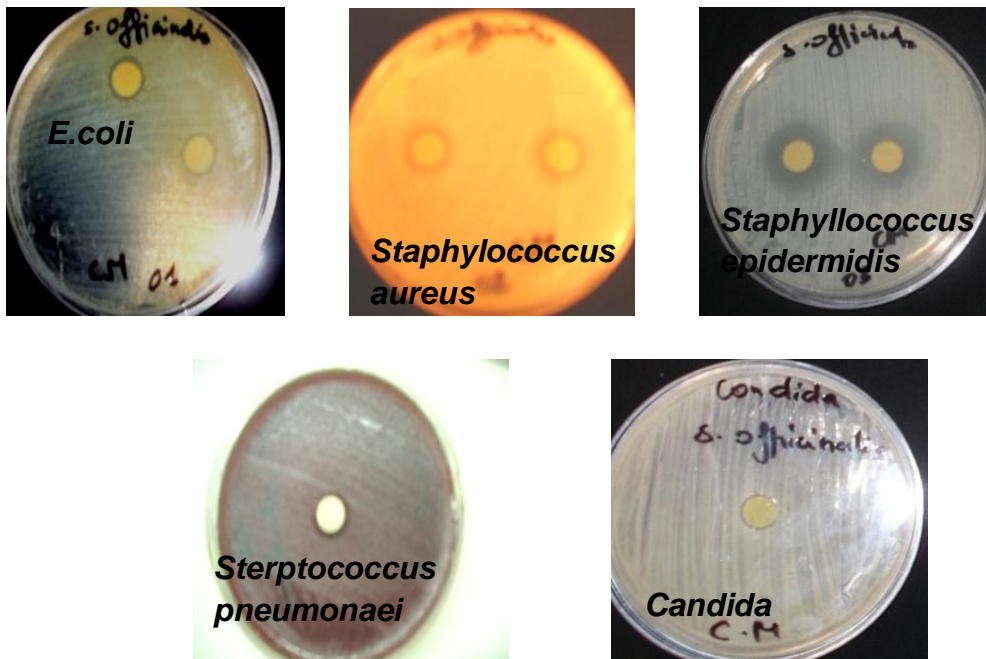


Figure3.39 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *S.officinalis*

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* a inhibé la croissance de *E.coli* (13.67mm), *Staphylococcus aureus* (19.34mm), *Staphylococcus epidermidis* (21.34mm), *Streptococcus pneumoniaei* (14.34 mm), *Shigella flexneri* (15.66mm), *candida albicans* (10.34 mm) (figure3.40)



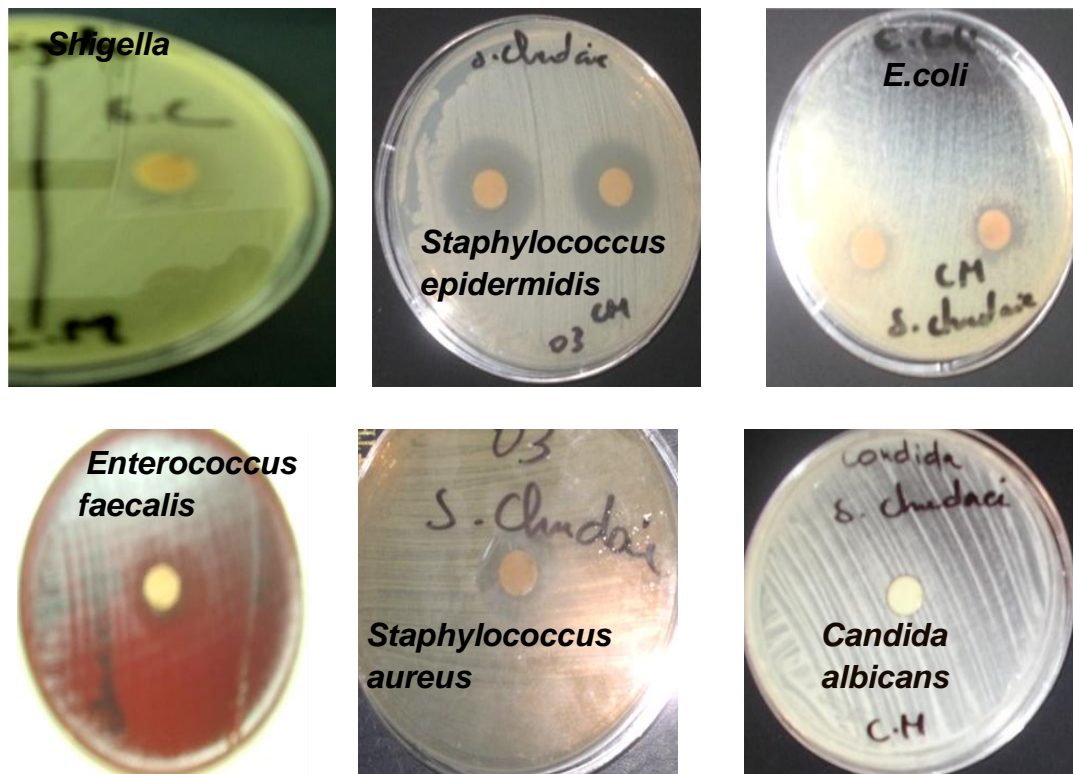


Figure 3.40 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *S.chudaei*.

Nous remarquons que l'extrait méthanolique de *S.chudaei* est plus actif contre la gamme de microorganismes testés que l'extrait méthanolique de *S.officinalis*. Ce dernier qui présente de faible zone d'inhibition (de 10.66 à 11.33 mm).

Cette différence peut s'expliquer par le fait que *S.chudaei* présente un taux plus élevé en composés phénoliques (249.08 mg GAE/ g d'extrait) que *S.officinalis* (143.41 mg GAE/ g d'extrait).

Ces derniers sont connues pour leurs effets antimicrobiens [15]

Les études de B. Tepe et al (2004, 2005) sur l'huile essentielle et l'extrait méthanolique de *S.cryptantha* et *S. multicaulis* [100] et *S.tomentosa* [75] ont montré que l'extrait méthanolique a un pouvoir antimicrobien modéré par rapport à l'huile essentielle. Cette dernière présente une activité antimicrobienne importante avec plus d'inhibition sur la croissance de *Candida albicans*, qui présente une zone d'inhibition de 25mm.

Alors que les études d'I.Kivrak et al (2009) sur l'huile essentielle et l'extrait éthanolique de *S.potentillipholia* de la Turquie [78], ont montré que l'huile essentielle possédait un pouvoir antimicrobien plus important que l'extrait éthanolique.

Ce dernier donne des zones d'inhibition de 4 à 22 mm de diamètre, alors que l'huile essentielle donne des zones d'inhibition de 8 à 40 mm de diamètre avec plus de sensibilité chez les souches : *Candida tropicalis* (40 mm) et *Candida albicans* (33 mm).

Ces résultats et les nôtres confirment l'activité antimicrobienne des espèces appartenant au genre *Salvia*. Les huiles essentielles sont effectivement responsable en grande partie de cet effet.

### 3.2. L'activité anti-inflammatoire :

Le test anti-inflammatoire avait pour objectif de déterminer l'activité anti-inflammatoire locale des deux espèces étudiées. Pour cela nous avons testé le pouvoir anti-inflammatoire des différents extraits obtenus (huiles essentielles et extraits méthanoliques) et celui d'un produit de référence indomét®, contre un œdème provoqué à l'oreille droite de la souris par agent inflammatoire : solution d'huile de croton à 5%.

Il faut noter que tous les extraits sont appliqués à la dose de 0.5 mg par oreille et l'activité anti inflammatoire est exprimée en pourcentage d'inhibition d'œdème.

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 3.12 et figures 3.41 et 3.42.

Tableau 3.12: Résultats de l'activité anti inflammatoire exprimé en Pourcentage d'inhibition

	Le poids de l'œdème en mg $\pm$ SEM	Le pourcentage d'inhibition
<b>Control</b>	7.88 $\pm$ 0.324	—
<b>Indométhacine</b>	4.68 $\pm$ 0.444	40.53%
<b>HE de <i>S.officinalis</i></b>	6.38 $\pm$ 0.358	19.21%
<b>EM de <i>S.officinalis</i></b>	5.98 $\pm$ 0.481	24.01%
<b>HE de <i>S.chudaei</i></b>	6.73 $\pm$ 0.35	14.58%
<b>EM de <i>S.chudaei</i></b>	4.82 $\pm$ 0.749	38.71%

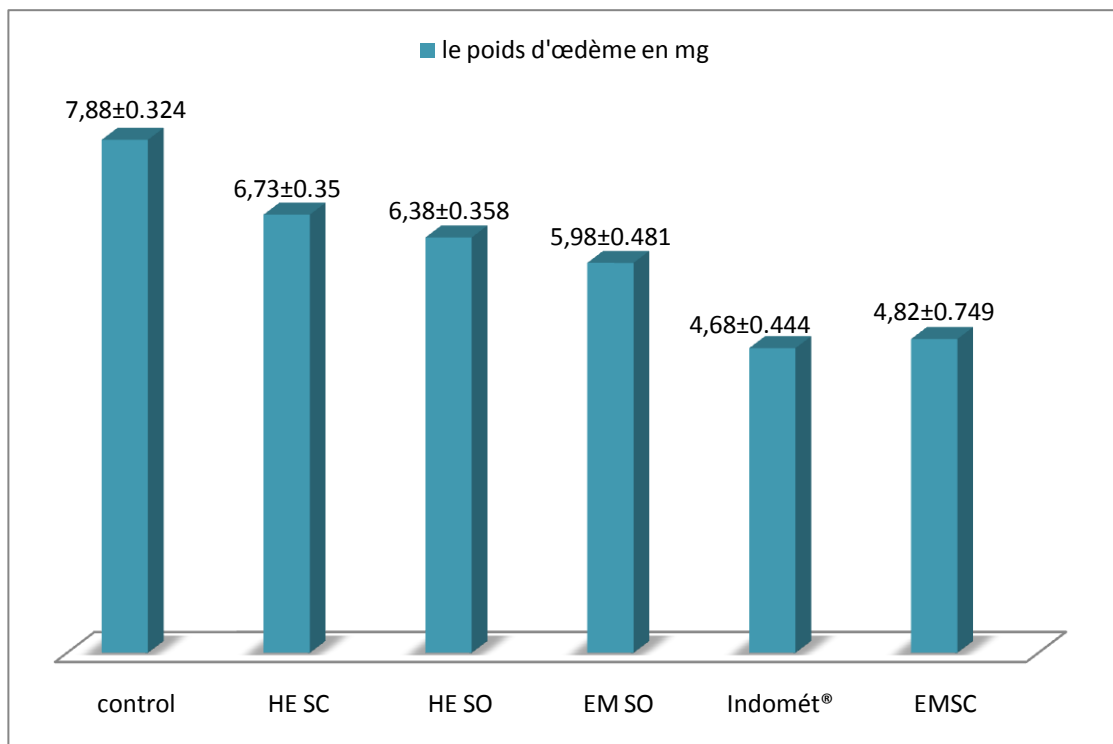
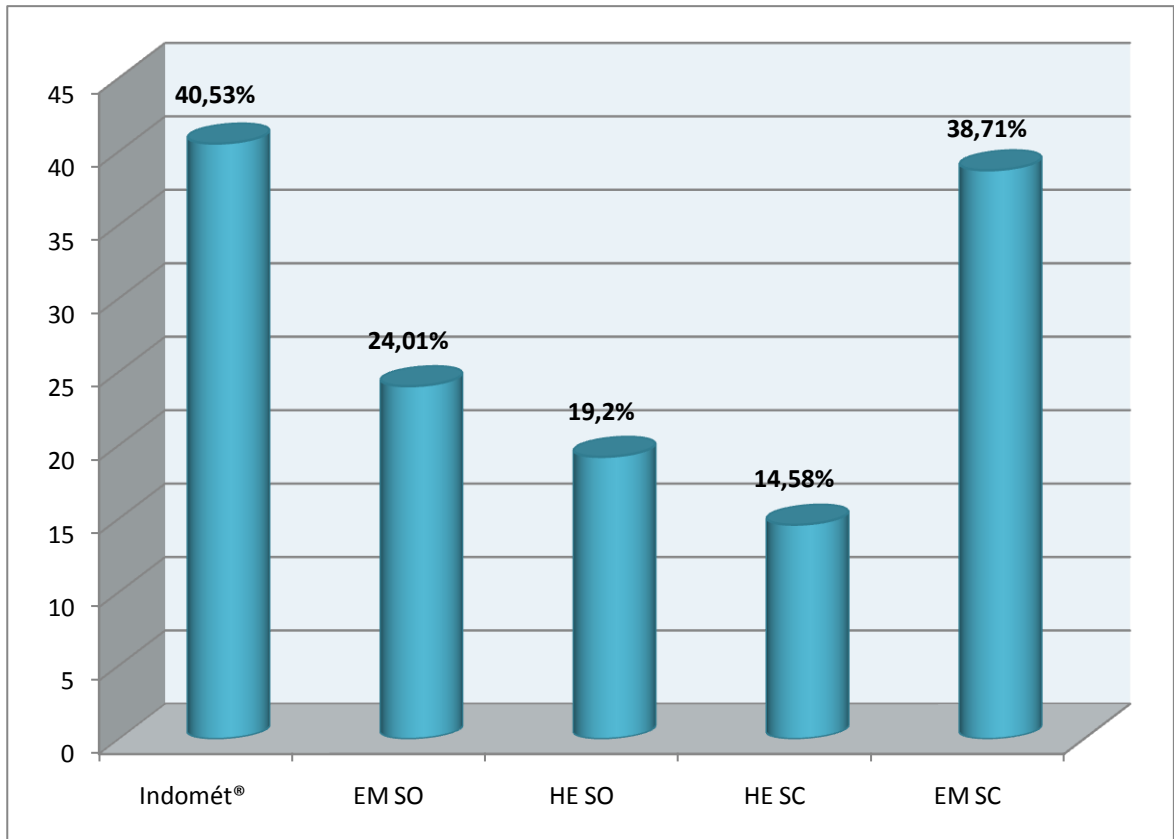


Figure 3.41: Réduction du poids d'œdème exprimée en mg $\pm$ SEM.



**Figure 3. 42:** Pourcentages d'inhibition d'œdème.

On peut constater que les huiles essentielles possèdent un faible pouvoir anti-inflammatoire par rapport aux extraits méthanoliques.

L'huile essentielle de *S.officinalis* donne 19.2% de réduction d'œdème alors que celle de *S.chudaei* présente un pourcentage d'inhibition de 14.58%.

L'extrait méthanolique de *S.officinalis* donne un pourcentage d'inhibition de 24.01%.

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* présente le plus grand pouvoir anti-inflammatoire avec un pourcentage d'inhibition de 38.71%, alors que le produit de référence (Indomet ®) donne un pourcentage de 40.53%.

Il n'ya pas de différence significative entre les deux pourcentages. L'extrait méthanolique de *S.chudaei* est aussi efficace que l'Indomet ® sur la réduction de l'inflammation.

Plusieurs auteurs attribuent l'activité anti inflammatoire aux polysaccharides qui calment et protègent les tissus enflammés [05] et aussi aux composés phénoliques, plus spécialement les flavonoïdes [101],[15],[24] et les tanins[102],[103] .

Ceci explique le fait que l'extrait méthanolique de *S.chudaei* donne le plus grand pourcentage d'inhibition d'œdème, puisqu'il présente des teneurs plus élevées en composés phénoliques (249.08 mg GAE/g d'extrait), en flavonoïdes (64.38 mg de rutine équivalent /g d'extrait), en tanins (13.9 mg GAE/g d'extrait) et en polysaccharides (3.84mg de glucose équivalent/g d'extrait) par rapport à l'extrait de *S.officinalis*.

Des résultats semblables ont été rapportés dans les travaux d'K.Akkol et al [76] sur l'extrait méthanolique de *S.Halophila* et *S.virgata*.

Elles donnaient des pourcentages d'inhibition d'œdème respectives de 10.3 % et 17.2 % et des teneurs : 73.2 mg GAE/g d'extrait de poly phénols totaux, 2.7mg de rutine équivalent/g d'extrait de flavonoïdes pour *S.Halophila* et de 133.8 mg GAE/g d'extrait de poly phénols totaux, 6.5 mg de rutine équivalent/g d'extrait de flavonoïdes pour *S.virgata*.

### 3.3. L'activité anti-oxydante :

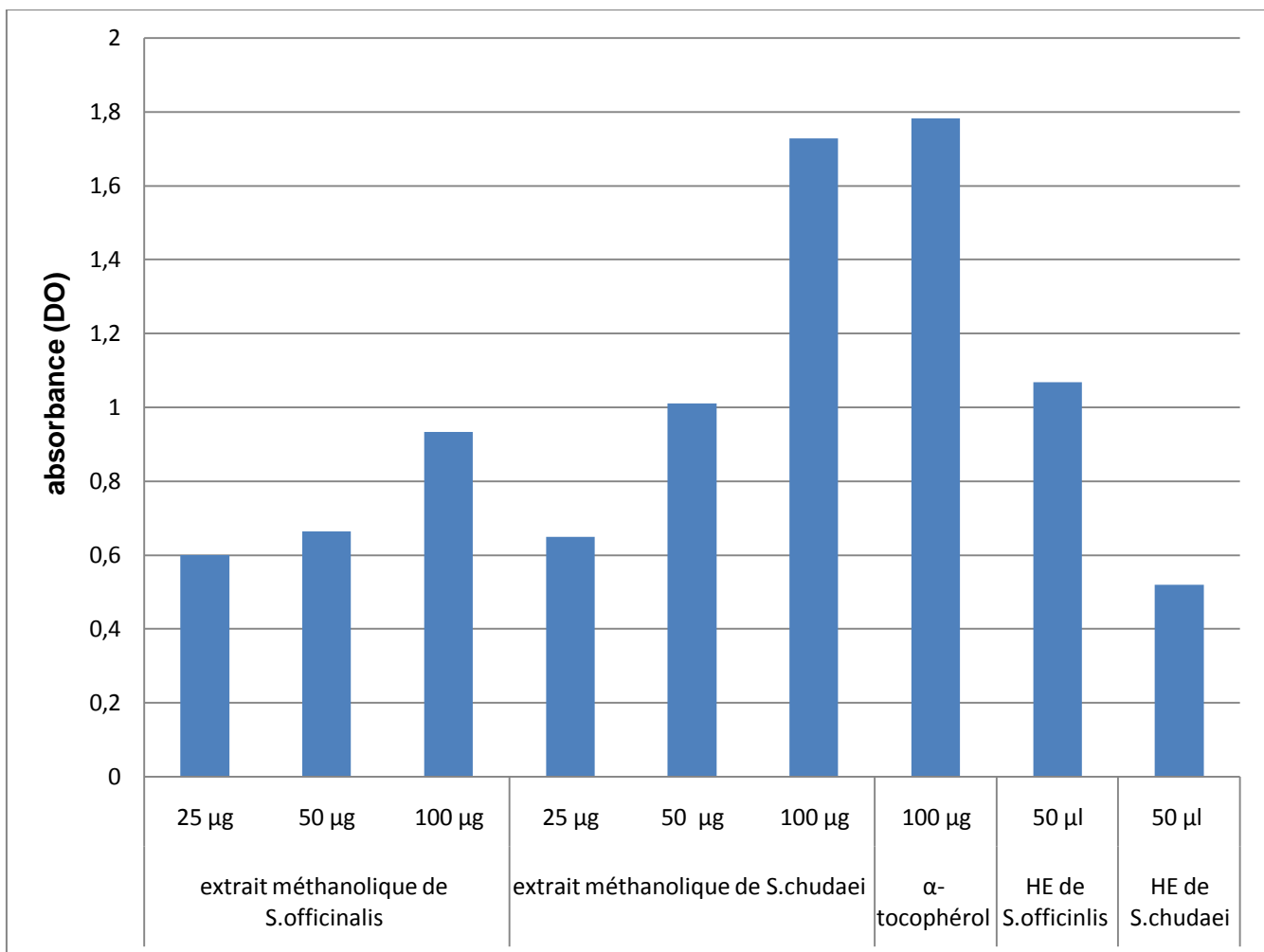
En raison de l'implication des radicaux libres dans diverses pathologies, la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale pouvant pallier au déficit du système de défense endogène s'est largement intensifiée.

L'activité anti oxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres quelque soit leur nature. Pour tester le pouvoir anti oxydant de nos extraits, nous avons d'abord évalué la capacité anti oxydante totale par la méthode de phospho-molybdène puis nous avons utilisés différentes méthodes ou tests selon la nature du radical ciblé :

Le test au DPPH, le test de peroxydation d'acide linoléique et l'évaluation du pouvoir chélateur du fer.

### 3.3.1. Evaluation de la capacité anti oxydante totale par la méthode de phosphomolybdène:

La capacité anti oxydante totale des différents extraits a été déterminée d'une façon quantitative par la formation du complexe phosphomolybdène. Cette méthode est basée sur la réduction du MO(VI), par un composé antioxydant et la formation du MO(V) de couleur verte qui absorbe le maximum à 695 nm (figure 3.43). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide ascorbique et présentés dans le tableau 3.13



**Figure 3.43 :** Capacité anti oxydante totale.

Tableau 3.13 : Capacité anti oxydante totale exprimée en µg/ml équivalent d'acide ascorbique

Les extraits	concentration	Capacité anti oxydante totale exprimée en µg/ml équivalent d'acide ascorbique
Extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	25 µg	19.54±1.027
	50 µg	21.59±0.59
	100 µg	30.35±2.13
Extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	25 µg	21.123±0.40
	50 µg	32.89±4.41
	100 µg	57.94±1.95
Huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	50 µl	33.08
Huile essentielle de <i>Salvia chudaei</i>	50 µl	15.18
L'α-tocophérol	100 µg	56.19

Le transfert des électrons et des hydrogènes du composé antioxydant au complexe molybdène (VI), dépend des différents potentiels redox et de la structure de l'antioxydant. L'habilité de céder un électron ou un hydrogène par des composés tel que : l'acide ascorbique, glutathionne, cystéine, tocophérols, poly phénols et des amines aromatiques, peut être détectée par la méthode de phospho-molybdène [58].

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* possède le plus grand potentiel de réduction. Une concentration de 100 µg/ml présente une capacité anti oxydante égale à celle de l'α-tocophérol qui est de 57,94 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique pour l'α-tocophérol et de 56,19 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique pour l'extrait méthanolique de *S.chudaei*

L'extrait méthanolique de *S.officinalis* présente un potentiel de réduction modérée, puisque à des concentrations de 25 µg /ml, 50 µg /ml et 100 µg /ml il donne des capacités anti oxydante respectives de l'ordre de : 19.54±1.027 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique, 21.59 ±0.59 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique et 30.35 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique.

Ces résultats sont proches de ceux de Matkowski et col qui trouvent une capacité anti oxydante totale de 39.15 µg/ml équivalent d'acide ascorbique [53].

Un volume de 50 µl d'huile essentielle de *S.officinalis* donne un pouvoir anti oxydant totale de 33.08 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique et le même volume d'huile essentielle de *S.chudaei* présente une capacité totale de 15.18 µg/ ml équivalent d'acide ascorbique.

### 3.3.2. Pouvoir chélateur du fer :

Le pouvoir chélateur des ions Fe <sup>+2</sup> des extraits a été déterminé selon la méthode de Decker et Welch [63]. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.14

Tableau 3.14 : Pouvoir chélateur du fer des deux espèces.

<b>Extraits</b>	<b>Pouvoir chélateur du Fer exprimés en %</b>
EM de <i>S.officinalis</i>	32.69%
EM de <i>S.chudaei</i>	66.71%
Acide ascorbique	43.21%
Quercétine	4.98%
HE de <i>S.chudaei</i> (50µl)	59.96%
HE de <i>S.officinalis</i> (50µl)	81.40%



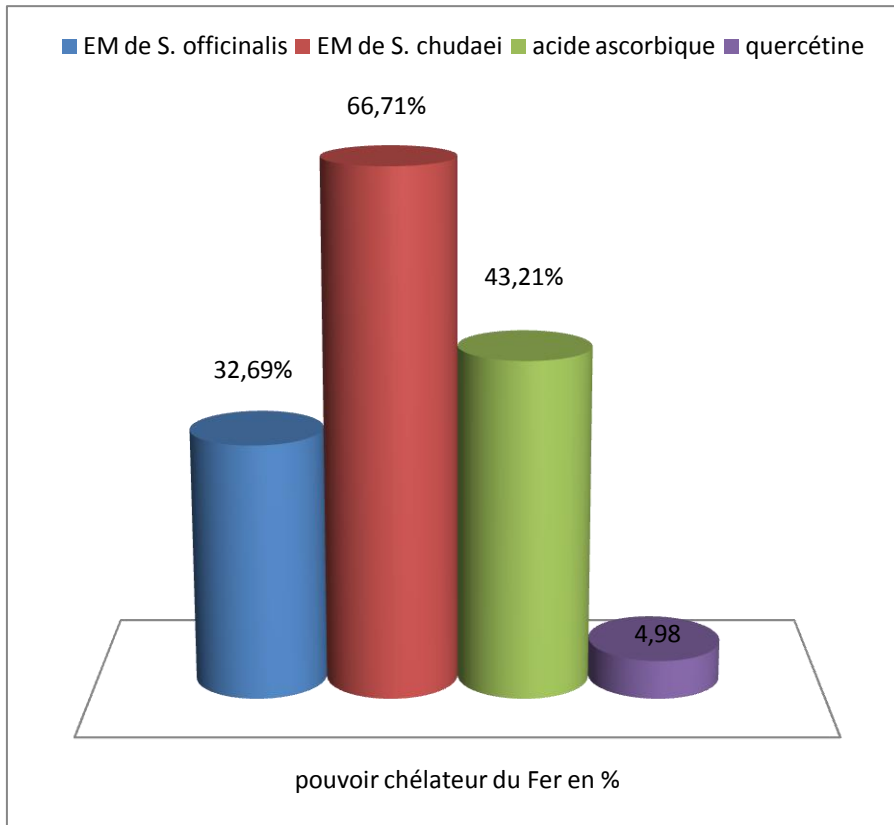


Figure 3.44 : Pouvoir chélateur des extraits méthanoliques.

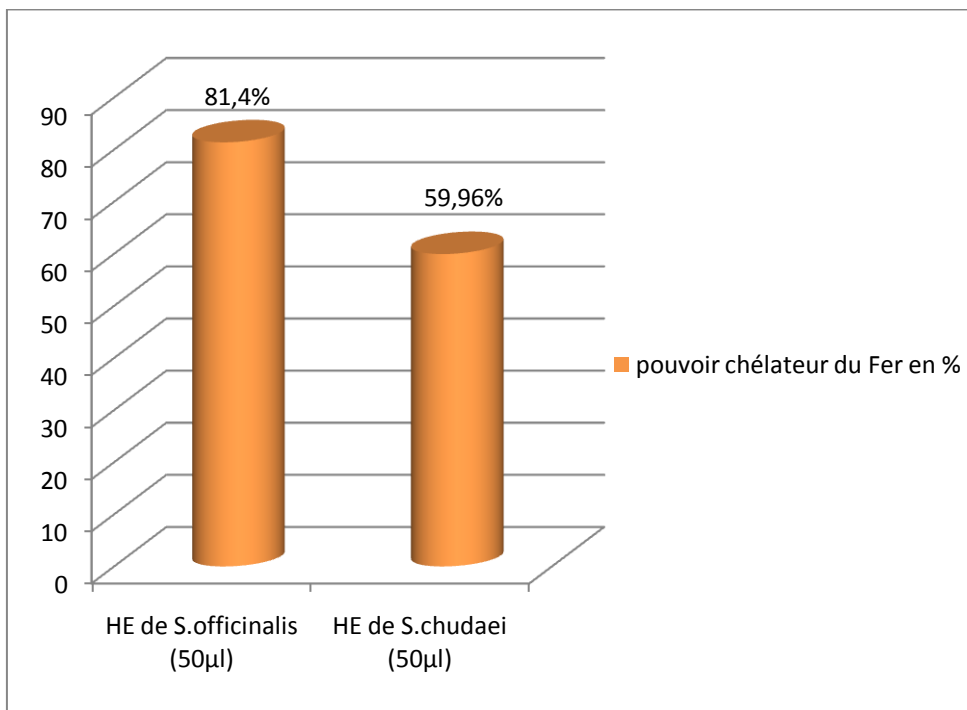


Figure 3.45 : Pouvoir chélateur des huiles essentielles.

Les figures 3.44 et 3.45 montrent le pouvoir réducteur des ions  $Fe^{+2}$  par les extraits méthanoliques, les huiles essentielles et les standards comme l'acide ascorbique et la quercétine.

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* possède le plus grand pourcentage de réduction 66.71%. Il est supérieur à celui d'acide ascorbique 43.21% et la quercétine 4.98%. Cette dernière ne présentait pas de pouvoir chélateur vu son faible pourcentage de réduction.

L'extrait méthanolique de *S.officinalis* présente un pouvoir de réduction égale à 32.69% alors que les huiles essentielles et à des volumes de 50  $\mu$ l donnent des pourcentages de réduction : 59.96% pour l'huile essentielle de *S.chudaei* et 81.40% pour l'huile essentielle de *S.officinalis*.

Ces observations viennent confirmées ceux du test de réduction du phospho molybdène qui montre que 50  $\mu$ l d'huile essentielle de *S.officinalis* possédait un potentiel de réduction plus important que celui de l'huile essentielle de *S.chudaei* ( $DO_{SO} = 1.068$ ,  $DO_{SC} = 0.520$ ) et une capacité anti oxydante totale de 33.08  $\mu$ g équivalent d'acide ascorbique/ ml qui supérieur à celle de *S.chudaei* qui est de 15.15  $\mu$ g équivalent d'acide ascorbique/ ml.

### 3.3.3. Test anti oxydant au DPPH :

Le 1-2 diphényl 1- picryl hydrazyl (DPPH) est un radical libre de couleur violet sombre. Lorsqu' il est réduit par des substances anti oxydantes, il confère à la solution une coloration jaune pâle. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la couleur, dépend essentiellement de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti radicalaire.

Nous avons déterminé le pouvoir anti-radicalaire des différents extraits testés et à différentes concentration. Il est exprimé en pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH.

- Les extraits méthanoliques :

Les différents résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.15:

Tableau 3.15 : Pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH des extraits méthanoliques à différentes concentration

Les extraits	Les concentrations en µg/ml	Le pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH en %
Extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i>	50	15.66
	100	31.44
	150	31.82
	200	34.20
Extrait méthanolique de <i>Salvia chudaei</i>	50	35
	100	45.65
	150	53.68
	200	58.10
Huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	50 µl	27
Huile essentielle de <i>Salvia chudaei</i>	50 µl	71.61
Acide ascorbique	50	86.62
α-tocophérol	50	51.27
Quercétine	50	85.56

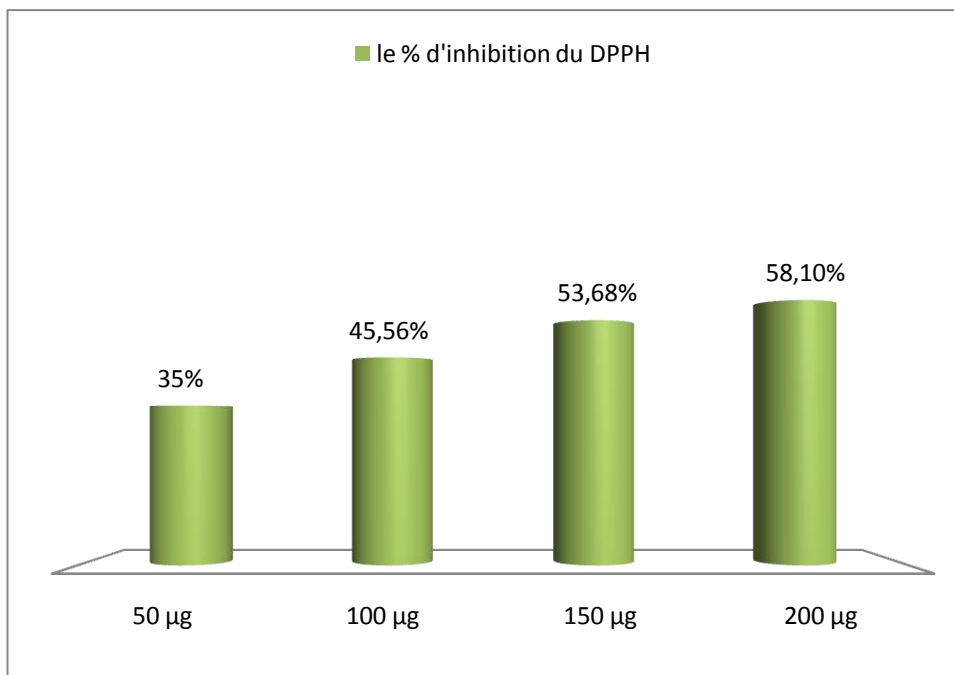


Figure3.46 : Activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *S.chudaei*.

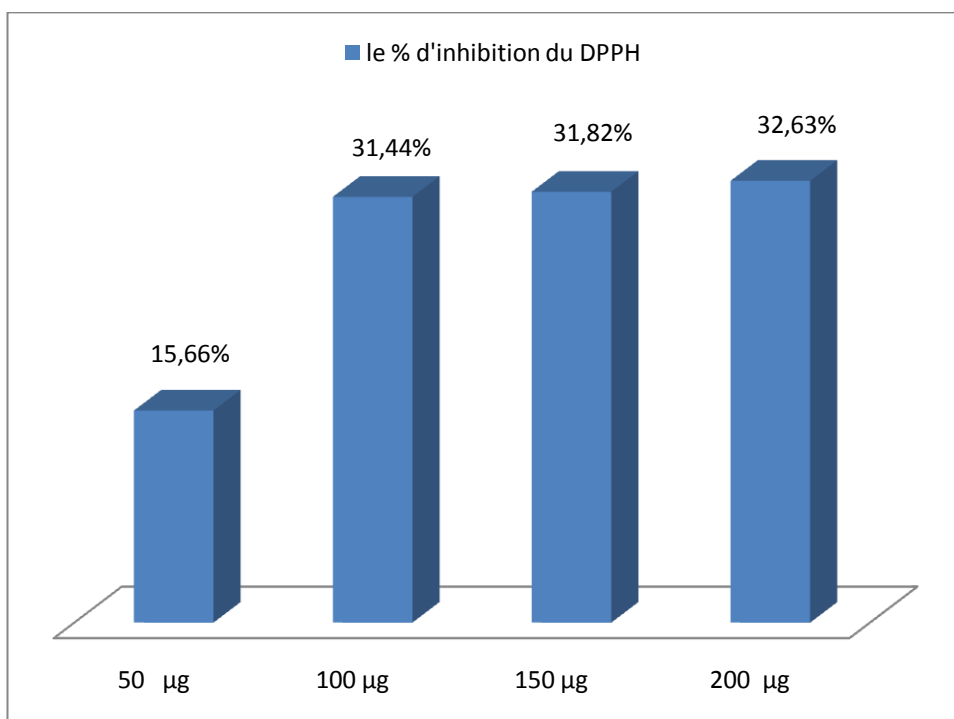


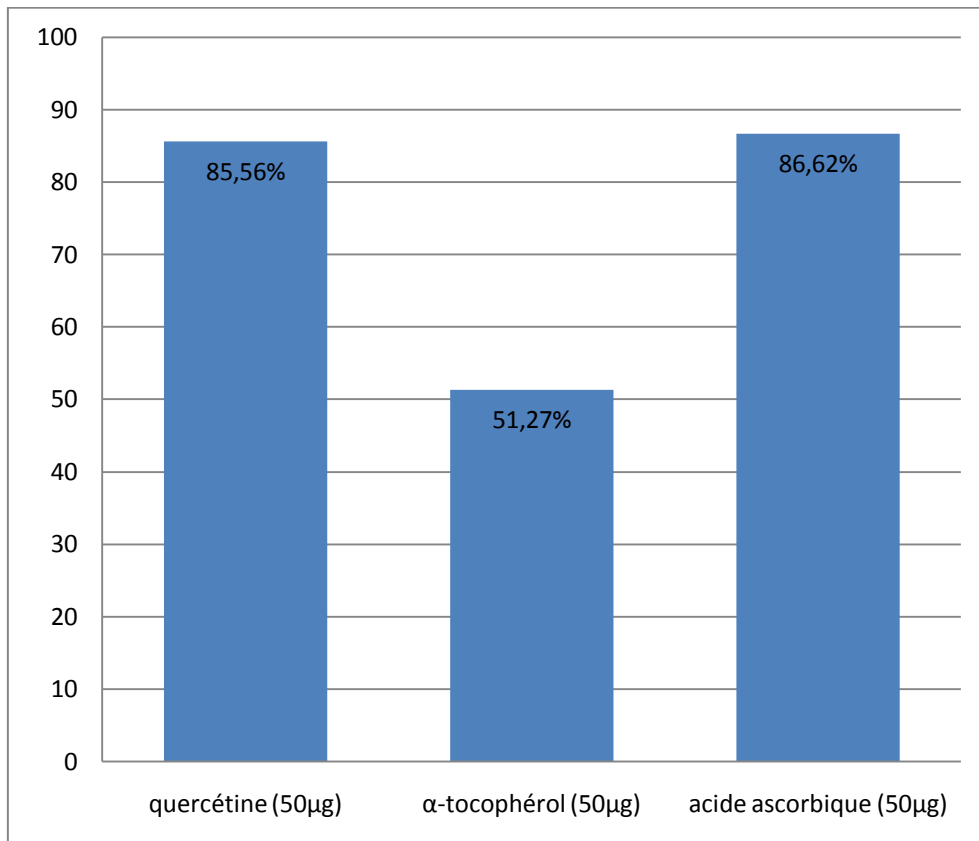
Figure 3.47 : Activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *S.officinalis*

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* montre une bonne activité antiradicalaire (figure3.46) avec des pourcentages de 35%-39.35%-53.68%-58.10% pour des

concentrations respectives de : 50 – 100 – 150 – 200  $\mu\text{g/ml}$ , en revanche l'extrait méthanolique de *S.officinalis* (figure3.46) ne dépasse pas les 32.63% à la concentration de 200  $\mu\text{g/ml}$ .

Ces pourcentages restent inférieurs à ceux des standards à 50  $\mu\text{g/ml}$  (figure3.48).

La quercétine donne un pourcentage de réduction égale à 85.56%, l'acide ascorbique donne 86.62% de réduction, alors que l'  $\alpha$ -tocophérol donne un pourcentage de 51.27%.



**Figure3.48** : Activité anti-radicalaire des antioxydants standards

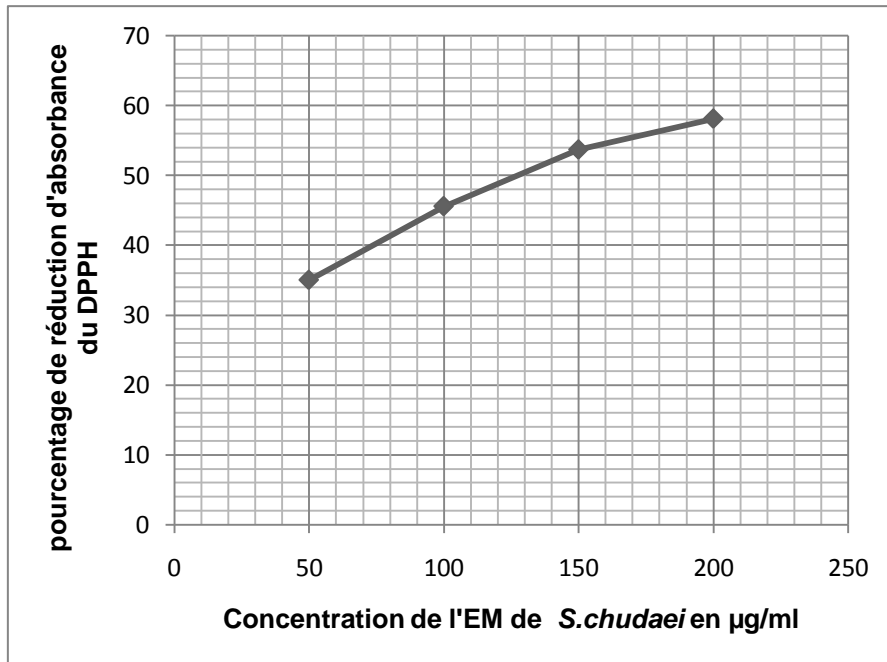


Figure 3.49 : Activité anti oxydante de l'extrait méthanolique de *S. chudaei*.

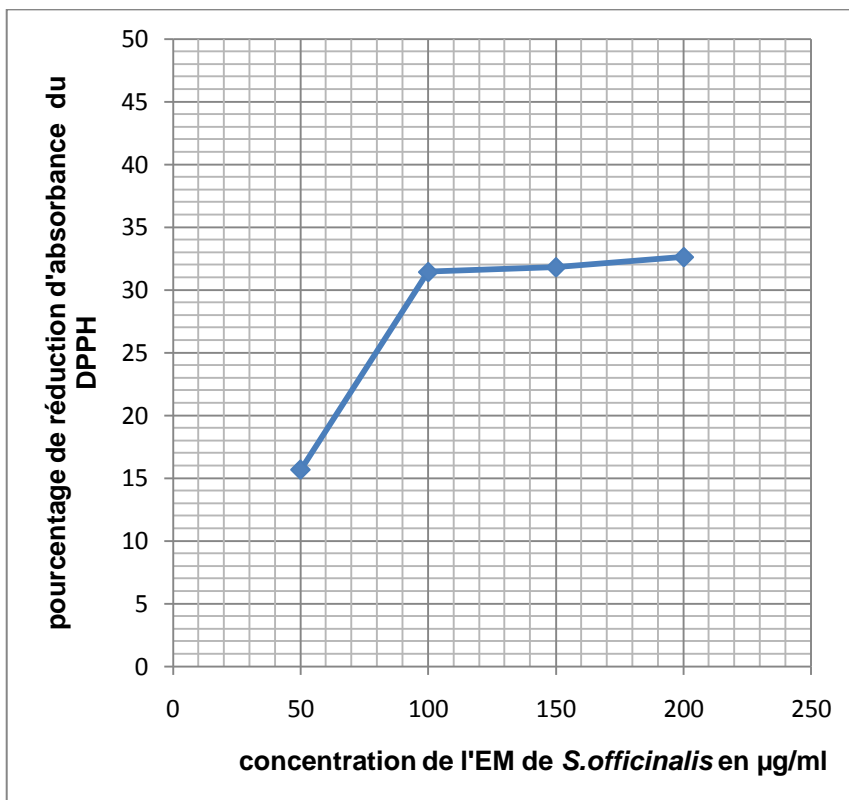


Figure 3.50: activité anti oxydante de l'extrait méthanolique du *S. officinalis*.

La figure 3. 49 nous renseigne sur la nature de l'activité anti oxydante de *S. chudaei*, cette dernière augmente d'une façon significative en fonction de la concentration

d'extrait. Le pourcentage de réduction du DPPH s'échelonne de 35% pour 50 µg d'extrait jusqu'à 58.10% pour 200 µg d'extrait.

L'activité antiradicalaire de *S.chudaei* augmente en fonction des concentrations, que se soit pour l'extrait méthanolique ou pour l'huile essentielle.

Ceci nous ramène à dire que *S.chudaei* possède une activité antiradicalaire dose-dépendante.

La figure 3.50 montre qu'à partir de la dose de 100 µg (31.44%), l'activité anti oxydante de *S.officinalis* est presque la même pour les doses de 150 µg (31.82%) et 200 µg (32.63%).

L'activité antiradicalaire de *S.officinalis* peut être considéré comme une activité dose-indépendante.

- Les huiles essentielles :

L'activité antiradicalaire des huiles essentielles est rapportée dans la figure 3.51

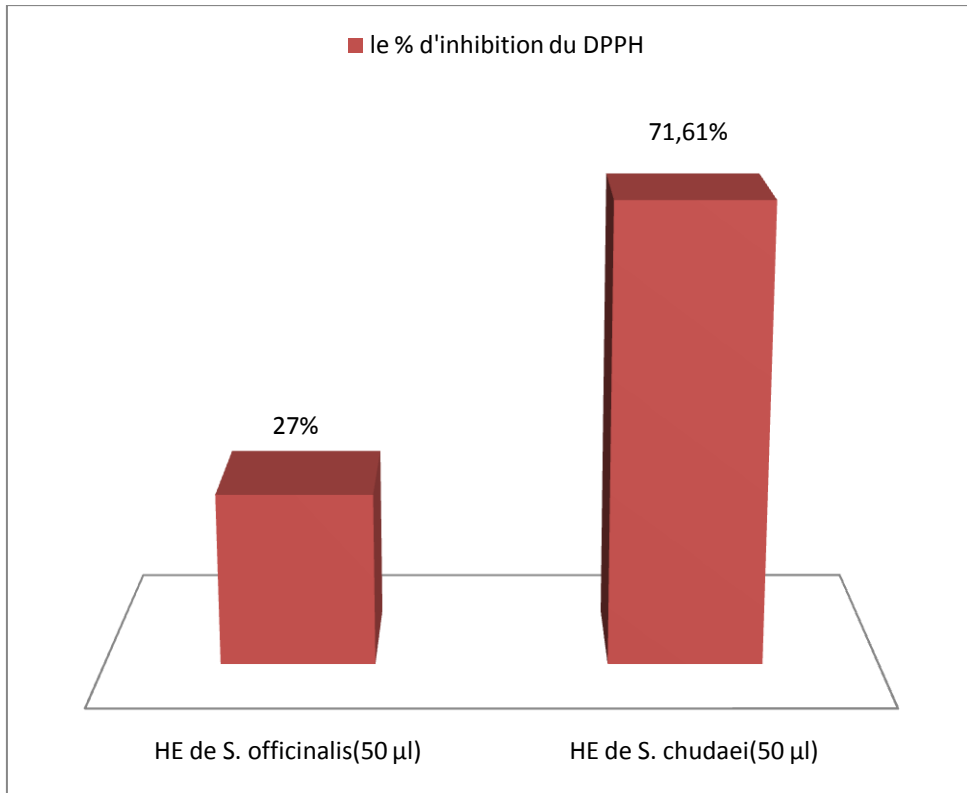


Figure 3.51 : Activité anti radicalaire des huiles essentielles.

L'huile essentielle de *S. chudaei* possède une forte activité anti radicalaire. Un volume de 50 $\mu$ l donne un pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH égale à 71.61%.

En revanche l'huile essentielle de *S.officinalis* possède un pouvoir antioxydant modéré avec un pourcentage de réduction d'absorbance du DPPH égale à 27%.

- Les EC<sub>50</sub> :

L'activité anti radicalaire de nos différents extraits (huiles essentielles, extraits méthanoliques) est exprimée en EC<sub>50</sub> dans le tableau 3.15

L'EC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration efficace d'extrait qui réduit 50% des molécules du DPPH. Elle est déterminée graphiquement à partir d'une droite linéaire dont l'axe des abscisses représente les concentrations croissantes d'extrait et l'axe des ordonnées donne l'activité anti radicalaire en pourcentage d'inhibition.

Tableau 3.16 : EC<sub>50</sub> des différents extraits exprimées en mg/ml.

<b>Les EC<sub>50</sub> en mg / ml</b>	
<b>EM de <i>S.chudaei</i></b>	0.138
<b>EM de <i>S.officinalis</i></b>	0.342
<b>HE de <i>S.chudaei</i></b>	9,32
<b>HE de <i>S.officinalis</i></b>	160.17

L'extrait méthanolique de *S.chudaei* possède la plus forte activité anti radicalaire avec une EC<sub>50</sub> de 0.138 mg/ml suivis par l'extrait méthanolique de *S.officinalis* avec une EC<sub>50</sub> égale à 0.342 mg/ml, puis l'huile essentielle de *S.chudaei* et *S.officinalis* aux EC<sub>50</sub> respectives de 9.32 mg/ml et 160 mg/ml.



Malgré le fait que l'huile essentielle de *S.chudaei* présente une EC<sub>50</sub> de 9.32 mg/ml, mais un volume de 50 µl (41.95 mg) donne un pourcentage de réduction égale à 71.61%.

Les différents résultats que donne l'extrait méthanolique de *S.officinalis* ne concorde pas avec les travaux de Adam Matkowski et col [53] qui trouvent une EC<sub>50</sub> de l'ordre de 1.10 µg/ml et les travaux de G.Miliauskas et col [80] qui donnent des pourcentages de réduction de 55.5% à 91.7%

Si on compare l'activité anti oxydante de l'extrait méthanolique de *S.chdaei* avec celle des autres espèces du genre (tableau 3.16) on trouve qu'elle présente une EC<sub>50</sub> supérieur à la plupart des autres espèces sauf *S.picidica* qui présente une EC<sub>50</sub> égale à 488 µg/ ml.

Tableau3.17 : EC<sub>50</sub> des espèces du genre *Salvia*

Espèces du genre <i>Salvia</i>	EC <sub>50</sub>
<i>Salvia chudaei</i>	138 µg/ml
<i>Salvia cryptantha</i> [100]	18.1 µg/ml
<i>Salvia multicaulis</i> [100]	16.3 µg/ml
<i>Salvia picidica</i> [79]	488 µg/ml
<i>Salvia tomentosa</i> [75]	18.7µg/ml
<i>Salvia virgata</i> [105]	65.70 µg/mg
<i>Salvia staminea</i> [105]	75.40µg/mg
<i>Salvia verbenaca</i> [105]	14.30 µg/mg
<i>Salvia potentifolia</i> [78]	69.4 µg/ml

### 3.3.4. Test de peroxydation d'acide linoléique :

Les systèmes biologiques sont des matrices très riches en lipides, susceptible d'auto-oxydation si ils ne sont pas protégés par des mécanismes enzymatiques endogènes ou exogènes.

Un antioxydant peut agir sur la peroxydation lipidique par différents mécanismes :

- Diminuer la concentration d'oxygène localisé.
- Arrêter la chaîne d'initiation en captant le radical initiateur ou bien le catalyseur comme le fer et le cuivre.
- Décomposer les peroxydes pour qu'ils ne soient pas reconvertis en radicaux initiateurs.

Les plantes aux composés phénoliques sont connues d'être des antioxydants multifonctionnels. Ils peuvent agir à différents stades de la chaîne oxydative. [106]

La capacité des différents extraits à capter les peroxydes générés par l'oxydation d'acide linoléique a été déterminée par la méthode de thiocyanate d'ammonium. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 3.17 et la figure 3.52,

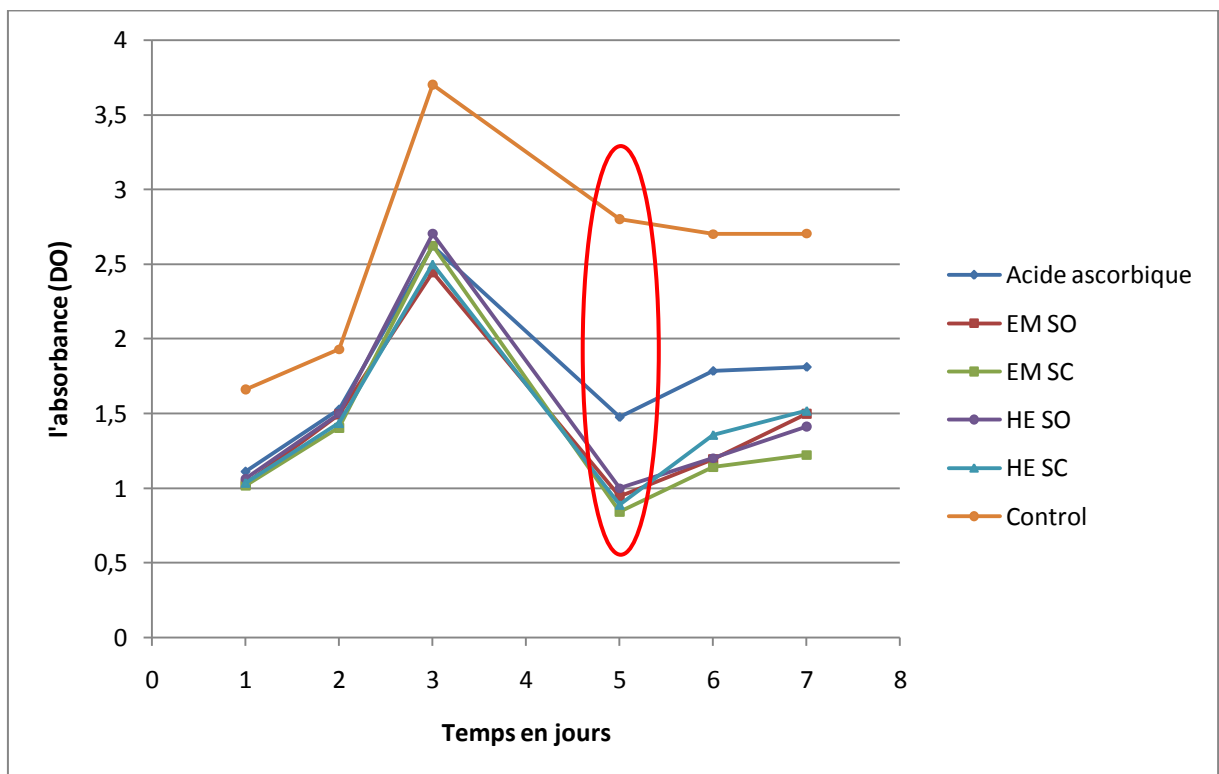


Figure 3.52 : Activité anti peroxydase des deux espèces.

L'absorbance du control augmente jusqu'à une DO = 3.7 au troisième jour puis diminue. Ceci est du à l'oxydation d'acide linoléique générant ainsi les hydro peroxyde qui regroupent différents produits d'oxydation [106]. Ces produits d'oxydation réagissent avec le chlorure ferreux pour former le chlorure ferrique puis le thiocyanate ferrique de couleur rouge sanguine. Le développement et l'intensité de cette couleur est mesuré à 500 nm. L'acide ascorbique et les extraits des deux espèces diminuent la vitesse d'oxydation d'acide linoléique et retardent ainsi l'apparition des hydro peroxydes par rapport au control. Ces produits intermédiaires seront convertis en produits finaux stables. Ceci se traduit par une diminution d'absorbance à partir du troisième jour.

Tableau 3.18 : Pourcentages d'inhibition de peroxydation d'acide linoléique

<b>Les extraits</b>	<b>Pourcentage d'inhibition des peroxydes</b>
HE de <i>S. officinalis</i>	80.1%
EM de <i>S.officinalis</i>	85.5%
HE de <i>S. chudaei</i>	91%
EM de <i>S.chudaei</i>	96 %
Acide ascorbique	32.4%

On constate que les différents extraits donnent une très bonne activité anti peroxydase. Ils présentent tous des pourcentages élevés de 80.1% jusqu'au 96%. Ils sont nettement supérieurs à celui de l'acide ascorbique qui est de 32.4%. L'activité anti peroxydase des différents extraits peut être classée selon l'ordre suivant :

EM de *S.chudaei* > HE de *S.chudaei* > EM de *S.officinalis* > HE de *S.officinalis* > acide ascorbique. Cet ordre décroissant corrèle très bien avec celui de l'activité antiradicalaire révélée par le test au DPPH.

Ces résultats viennent renforcées ceux trouvées par M. Kelen et al (2008) [107], B.Tepe (2004, 2008) [105], [100], A.Matkowski et al (2006)[53] et M.Estévez et al (2007) [108] qui confirment l'activité anti peroxydase des différentes espèces du genre *Salvia*.

Les poly phénols ont un rôle important dans le control et la stabilité de l'oxydation lipidique qui est associé à leur pouvoir antioxydant. Il est suggéré qu'un apport quotidien de 1g en composés phénoliques possède un effet inhibiteur sur la mutagenèse et la carcinogenèse [101].

Les poly phénols totaux ont été quantifiés dans les deux espèces, ainsi que les flavonoïdes, les flavonols et les tanins. Ces composés possèdent un très large spectre d'activités chimiques et biologiques incluant la propriété de capter les radicaux libres.

On observant les résultats de l'activité anti oxydante des deux espèces et leur contenu en composés phénoliques, on remarque que tous les tests réalisés pour évaluer l'activité anti oxydante ont montré que *S.chudaei* possédait un pouvoir anti oxydant plus important que *S.officinalis*. D'autant plus que cette dernière présente de faibles teneurs en composés phénoliques (flavonoïdes, tanins) par rapport à *S.chudaei*.

Nous avons trouvé que le potentiel antioxydant augmente d'une façon significative avec l'augmentation du contenu phénolique des deux espèces.

Cette corrélation entre le contenu phénolique et le pouvoir antioxydant des *Lamiaceae* en général et plus précisément les espèces appartenant au genre *Salvia*, a été rapportée dans plusieurs travaux. [109], [110], [111], [80].

Ainsi que Y.Rong Lu et al (2001) trouvent que les poly phénols du genre *Salvia* tell que :

Les flavonols, l'acide rosmarinique et ses dérivés présentent des capacités antioxydantes 4-6 et 15-20 fois plus grande que celle du trolox, et des pourcentages de réduction du DPPH respectifs de : 35%-75% et 88%-95% [112].

### 3.4. Activité cicatrisante :

L'activité cicatrisante des deux espèces à été déterminée par un essai préliminaire » sur lapins. Les plaies ont été traitées par des pommades à base de différents extraits (2%). La durée de traitement est de huit jours et les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 3.53, 3.54, 3.55, 3.56, 3.57, 3.58, 3.59.



Figure 3.53 : Cicatrisation des plaies traitées par l'huile essentielle de *S.officinalis*



Figure 3.54: Cicatrisation des plaies traitées par Madécassol ®



Figure 3.55 : Cicatrisation des plaies traitées par l'extrait méthanolique de *S.officinalis*



Figure 3.56 : Cicatrisation des plaies traitées par l'huile essentielle de *S.chudaei*



Figure 3.57 : Cicatrisation des plaies traitées par l'extrait méthanolique de *S.chudaei*



Figure 3.58 : Cicatrisation des plaies traitées par l'excipient seulement.

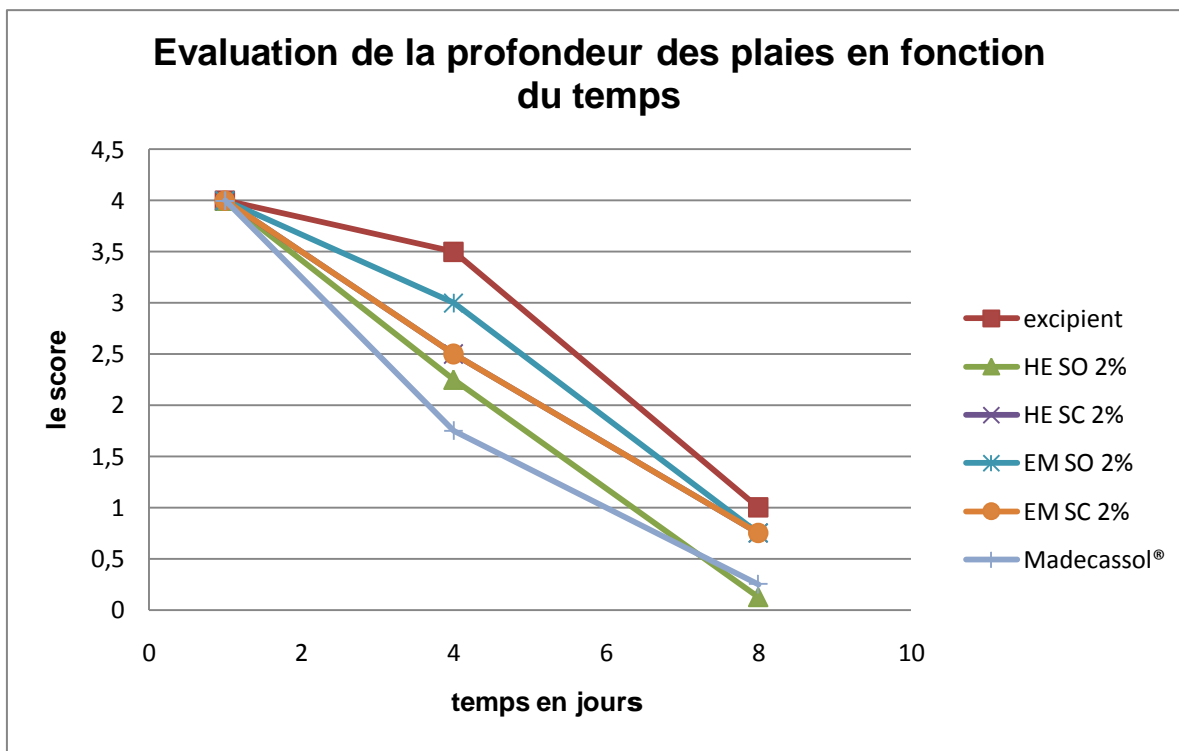


Figure 3.59 : Évolution de la profondeur des plaies en fonction du temps.

La totalité des plaies traitées (sauf celles traitées par l'excipient seulement) ne présentaient ni œdème ni bourgeon. Ceci confirme l'activité anti inflammatoire des deux espèces démontrée en amont.

Une poussée de poils abondante et rapide (figure 3.53), a été remarquée sur les lapins du lot traité par la pommade à base d'huile essentielle de *S.officinalis*. Ceci peut être dû au fait que dans la bibliographie [113], [114], on trouve souvent que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est conseillée pour le traitement et élongation des cheveux.

L'ensemble des plaies traitées par l'huile essentielle de *S.officinalis* et le Madécassol® ont répondu rapidement et positivement au traitement. Ils présentent une cinétique de régénération relativement rapide dans les premiers 5 jours. A partir du 6<sup>ème</sup> jour, la cinétique de régénération est moins pertinente.

Les plaies traitées par l'huile essentielle de *S.chudaei* cicatrisent mieux que celle traitées par les extraits méthanoliques (des deux espèces). Ces derniers présentent une activité cicatrisante modérée.

Si on classe le pouvoir cicatrisant des extraits par ordre décroissant on a : HE de *S.officinalis* > Madécassol® > HE de *S.chudaei* > EM de *S.officinalis* > EM de *S.chudaei* > excipient.

Ce test clinique est loin d'être à lui seul suffisant pour se prononcer sur l'activité cicatrisante de *S.officinalis*. Il faudrait approuver et confirmer d'avantages ces résultats par d'autres tests tel que la méthode de Heite sur les rats ou les scarifications sont plus importantes et homogènes, et de meilleurs moyens sont offerts pour l'appréciation du déroulement du processus de cicatrisation.



## CONCLUSION GENERALE

Le présent travail avait pour objectif de déterminer la composition chimique de *Salvia chudaei* Bat & Trab espèce endémique du Sahara central, ainsi que *Salvia officinalis* L. et la mise en évidence de certaines de leurs propriétés thérapeutiques.

Cette étude visait à déterminer si *Salvia chudaei* Bat & Trab présentait un profil chimique similaire à celui des autres espèces du genre *Salvia* notamment *Salvia officinalis* L., et aussi si elle jouissait des mêmes propriétés thérapeutiques.

L'étude macroscopique et microscopique a révélé la présence chez les deux espèces de différents types de poils sécréteurs. Ce sont les poils caractéristiques des Lamiacées. Ils représentent le site de sécrétion des huiles essentielles.

L'étude phytochimique des deux espèces *Salvia officinalis* L. et *Salvia chudaei* Bat & Trab a pu déterminer la teneur de certains métabolites secondaires. Elles présentent des teneurs respectives de 0.416% - 0.34% pour les huiles essentielles, 0.25% - 0.38% pour les polysaccharides, 14.34% - 21.44% pour les composés phénoliques dont 1.93% - 6.43% de flavonoïdes, 1.30% - 1.08% de flavonols et 0.85% - 1.39% de tanins.

L'analyse par CG/MS a permis de déterminer le profil chromatographique des huiles essentielles. L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. est essentiellement composée de monoterpènes. Elle présente le chémotype suivant : camphre 22.32%, 1,8-cinéol 10.55% ,  $\alpha$ -thujone 14.06 % et  $\beta$ -thujone 3.77 % .

En revanche l'huile essentielle de *Salvia chudaei* Bat & Trab s'est révélé riche en sesquiterpènes avec la prédominance de l'isodène 20.36%, l'acétate de bornyle

11.36%, le guaiol 10.26%, l'azulène 8.43 %, l' $\alpha$ -pinène 6.22% et le caryophyllène 5.51%.

L'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits a montré que :

L'huile essentielle de *salvia officinalis* possédait le plus grand potentiel anti microbien puisqu'elle a inhibé la croissance de la plus part des souches testés (sauf *Pseudomonas aeruginosa*) avec plus de sensibilité chez *Candida albicans* et *Sterptococcus pneumoniae*.

Les extraits méthanoliques possédaient une activité antimicrobienne modérée par rapport aux huiles essentielles. Ils restent inactifs sur les bactéries Gram<sup>-</sup> testées.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des deux espèces comparativement à celle de l'indomét<sup>®</sup> a révélé que *Salvia chudaei* possédait un pouvoir anti-inflammatoire important et similaire à celui de l'indomét<sup>®</sup>.

L'étude du pouvoir antioxydant par différents tests a montrés les propriétés puissantes des extraits méthanoliques à capter les radicaux libres et plus précisément l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* qui donne les plus grands pourcentages d'inhibition.

Les huiles essentielles sont anti oxydantes mais à des concentrations plus élevées. (Des volumes de 50 à 100  $\mu$ l).

L'étude du pouvoir cicatrisant des deux espèces a montré que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est la plus cicatrisante. Son effet surpasse celui du Madécassol<sup>®</sup> alors que les extraits méthanoliques montraient une activité cicatrisante moyenne à faible.

A la lumière de ces résultats, l'étude phytochimique et biologique de *Salvia chudaei* a permis à la fois de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires retrouvés chez les autres espèces du genre *Salvia* mais aussi avec des teneurs plus élevées et de confirmer son effet anti-microbien, anti-inflammatoire et son remarquable pouvoir antioxydant.

Il n'en demeure pas moins qu'elles nécessitent des études plus approfondis notamment une étude toxicologique, et des méthodes chromatographique plus fine comme HPLC-MS et cela pour une éventuelle utilisation comme antioxydants naturels dans l'industrie alimentaire et cosmétique.

## REFERENCES

1. Dellile, L., « Plantes médicinales d'Algérie », Berti Edition, (2007).
2. Quezel, R., Santa, S., « Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales » Tome II, Edition Centre National de la Recherche Scientifique, (1962), 1170.
3. Ozenda, P., « les relations biogéographiques des montagnes Sahariennes avec la région Méditerranéenne » Revue de la Géographie Alpine, (1991), 43-45.
4. Hammiche, V., Maiza, K., «Traditional medicine in central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer» Journal of Ethnopharmacology, (2006), 358-367.
5. Iserin, P., « Encyclopédie des plantes médicinales » Larousse, (2001),
6. Grundwald, J., Janicke, C., « Guide de la phytothérapie » Edition Marabout, (2004), 341-342.
7. Rodozko, V., « Abécédaire de la phytothérapie » (2000), 125.
8. Schauenderg, P., « Guide des plantes médicinales » Delachaux Niestlé, Paris, (1977), 396.
9. Beloued, A., « Plantes médicinales d'Algérie » O.P.U, (2001), 196.
10. Wichtl M. et Anton R., « Plantes Thérapeutiques : tradition, pratiques , officinales », Tec & Doc, 2003, 692.
11. Sallé, Jean-Luc., «Le totum en phytothérapie», Edition Frison-Roche, (1991).
12. Paris, R.R., Moyses, H., « Précis de matière médicale ; Pharmacognosie générale, Pharmacognosie spéciale : Schizophytes (bactéries) – Actinomycétales -- Thallophytes, ptéridophyte – spermaphytes » Edition Masson, (1976).

13. Teuscher, E., Anton, R., Labstein, A., « Plantes aromatiques, épices, aromates et huiles essentielles », Ed. Tec &Doc, Lavoisier, (2005), 522.
14. Ticli, B., « Votre herbier 160 plantes médicinales », Edition Devecchi, (2006), 218.
15. Bruneton, J., « Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinales », Edition Lavoisier, (1999), 1119.
16. Bartels, A., « Guide des plantes du bassin méditerranéen », Les Editions Eugen Ulmen, (1998).
17. Cecchini, T. et Ticli, B., « Encyclopédie des plantes médicinales » Edition Devecchi. Paris, (2003), 351.
18. « La phytothérapie de A à Z. La santé par les plantes », Edition Alpen 75pp.
19. Ozenda, P., « Flore du Sahara », 2<sup>o</sup> édition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris , (1977), 622.
20. Burkill,H.M., «The useful plants of plants of west tropical Africa», V.3, (1985).
21. Nicolaisen, J., « Ecology and culture of the pastoral Tuareg »,National museum, (1963) , 548.
22. Veremerris, W., Nicholson, R., «Phenolic compounds Biochemistry», Edition Springer, (2006), 267.
23. Harborne, J.B., «The flavonoïds : recent advances» Goodwin TW, Academic Press Londres, (1988), 229-313 pp.
24. Roux, Danielle., Catier , Odile., « Botanique, pharmacognosie, phytothérapie », Wolters Kluwer, (2007), 141.
25. William, G.Hopkins., «Physiologie végétale », De Boek Université, (2003), 273-276.
26. Hagerman, Ann.E., «Tannin Chemistry », Department of Chemistry and Biochemistry, Miami, (2002).

27. Sallé, Jean Luc., « Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie », Edition Frison-Roche, Paris, (1991), 166. .
28. Svoboda, KaterinaP., Svoboda, ThomasG ., « Secretary Structures of Aromatic and Medicinal Plants », Microscpix Publications, (2000), 59.
29. Telphon, T., « ABC des huiles essentielles », Ed Grancher, (2005), 398.
30. Garnero, J., « Huiles essentielles », Technique de l'ingénieur, 39.
31. Michot, J. « Module 8 Immuno-pathologie. Réaction inflammatoire ». Médecine interne, Edition Vernazobres, 290 pp.
32. Peltier, A., S.Polla, B. « L'inflammation » Edition John Libbeg Eurotext, Paris, 1998, 505 pp.
33. Bessard, M., «Cours de pharmacologie» Ed Marketing, Paris, (1985), 523.
34. Dangoumau, J., « Pharmacologie générale », Département Pharmacologie, Université Victor Segalen Bordeaux, (2006), p.547.
35. Berger, G., « Encyclopédie Française », V.04, Edition Société Desgestion de L'encyclopédie Française, (1935).
36. Ferrq, Y., « Développement d'un model de cicatrisation épidermique après une dés-épidermisation laser », Université de Toulouse, 130.
37. Verola, O., « Aspect anatomo-pathologique de la cicatrisation », Hôpital Saint-Luis, Paris, (1996).
38. Authier, Guy., « La cicatrisation », Edition Saint-Germande, Paris, (1976), 44.
39. Celloni, Marco Claudio., « Evolution à long terme de la cicatrisation après voie d'abord sous-ciliaire ou trans-conjonctivale », (2005).
40. Robert, M., La Touse, A., « Cicatrisation -Physiologie- Pathologie et chirurgie cutanée de l'enfant », XII<sup>eme</sup> Séminaire d'enseignant du collège de chirurgie pédiatrique, Edition Chirurgicales pédiatriques, Strasbourg, (1993).

41. Vilain, R., «Plaies-Brulures », conseil au Praticien, 2<sup>e</sup>edition Les cahiers Bailère, (1980).
42. Boyd,B., Ford,C., Koepke,MichaelC., Gay,K., Mc Analley,S et Mc Analley,B., « Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Anbrotose AOTM sur des personnes en bonne santé », Glyco-science et Nutrition, (2003), 7.
43. Perlival, M., « Antioxydants », Clinical nutrition, 4.
44. Favier,A., « Le stress antioxydant .Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiels thérapeutiques », L'actualité chimique, (2003), 108-115.
45. Cavin, A., « Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés anti oxydantes et anti radicalaires : *Tinospora crisp*, *Merremia emarginata*, *Orophera enneadra* », thèse doctorat, Lausanne, (1999), 243.
46. Delattre, J., « Radicaux libres et stress oxydant : Aspect biologiques et pathologiques », Edition Tec et Doc, (2007).
47. Twidwell, E. K., Wagner, J. J., Thiex Nancy J., « Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages», (2002), 2.
48. Simpson, William T., « Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes», Madison, Forest Products Laboratory, (1999), 463.
49. Pinta. M, «Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux », Oléagineux, n°2, France (1973), 1.
50. Bouquet M., «Travaux et documents de l'Orstom», Paris, (1971).
51. William. B. J., «The original of the soxhlet extractor », Journal of Chemical Education, V.84, n°12, Canada, (2007), 1913.
52. Singleton, R., Orthofer, R., Lamuela, R.M., Aventos, R., « Analys of total phenols and other oxidation substracts and antioxidant by mean of Folin-Ciocalteu Reagent», Methods in enzymology, (1999), 152-178.

53. Matkowski, A., Piotrowska, M., « Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae », *Fitoterapia*, (2006), 346-353.
54. Jivan W.V, Jia., Chun Lin, Jung., Hang Wang, Chih., « Extraction of antioxidative compounds from Wine Tess using supercritical fluids and associated anti-tyrosine activity » *The Journal of Super Critical Fluids*, (2009)
55. National Committee of Clinical Laboratory (NCCLS), « Performance standards antimicrobial susceptibility testing », 9<sup>th</sup> Supplement, (1999).
56. Tubaro, A., Dri, P., Deloello, G., Zilli, C., Della Loggia, R., « The Croton oil ear test revised » *Agents Action*, 347-349.
57. Wang, S.Y., Lan, X.Y., Xiao, L.H., Yang, L.C., Kao, Y.T., Chang, S.T., « Anti-inflammatory activity of *Lindera erythrocarpa* fruit », *Phototherapy*, (2005), 5.
58. Preto, P., Pinada, M., Aguilar, M., « Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex : specific application to determination of Vitamin E », *Analytical Biochemistry*, (1999), 337-341.
59. Cuendet, M., Hostettman, K., Potterat, O., « Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei* », *Helvetica Chimica Acta*, 1144-1152 .
60. Brand-Williams, W., Cuvelier, ME., Berset, C., « Use of free radical method to evaluate antioxidant activity » , *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 25-30.
61. Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.K., «Antioxidant activity of grape seeds (*Vitis vinifera*). Extraction, per oxidation, models in vitro», *Food Chemistry*, (2001), 285-290.



62. Duh, Pin-Der., « Antioxidant activity of Budrock (*Arctium lappa*): its scavenging effect on free radical and active oxygen», Journal of American Oil Chemical Society, 1998, 455-461.
63. Decker, E.A., Welch, B., «Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food», Journal of Agriculture and Food Chemistry, (1990), 674-677 pp.
64. Vilain, Robert., « Critères chimiques pour qu'une plante soit reconnue comme médicament en usage externe», I.P.I., (2009).
65. Pourrat, A., Lejeune, B., Bastide, P., Privat, A.M., Legret, P., « Extrait de Propolis : Etude de la cicatrisation de plaies chez le lapin », Journal de Pharmacie de Belgique, V48, n° 3, (1993), 171-178.
66. Monod, Jean Daniel., « Botanique Systématique des plantes à fleurs », Presse Polytechnique et Universitaires Romandes, (2002), 413.
67. Venkotachalom, K.V., Kojonnas, Robert., Croteau, Rodney., «Development and essential oil content of secretory glands of Sage (*Salvia officinalis*) », Plant Physiol, (1984), 148-150.
68. Kamatoua, G.P.P., Viljoen A.M., Gono-Bwalya, A.B., van Zyl, R.L., van Vuuren S.F., Lourens, A.C.U., Basler, K.H.C., Demirci, B., Lindsey, K.L., van Staden, J., Steenkamp, P., «The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species », Journal of Ethnopharmacology, (2005), 382–390.
69. Kahraman, A., Celep, F., Dogan, M., « Anatomy, trichome, morphology and polynology of *Salvia chrysophylla* Stapf», South Africa Journal of Botany, (2009), 9.
70. Marin, M., Koko, V., Duletić-Laušević, S., Marin, P.D., Rančić, D., Dajić-Stevanovic, Z., « Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology, stereology and histochemistry », South African Journal of Botany, (2006), 378–382.

71. Pharmacopée Européenne, Tome 2, Paris, (2008).

72. Başkan, Selda., öztekin, Nevin., Bedia Erim, F., « Determination of carnosic acid and rosmarinic acid in Sage by capillary electrophoresis » ,Analytical, Nutritional and Clinical Methods, (2007), 1748- 1752.

73. Wojdylo, Anetza.,Oszmianski,Jan., Cezemerys,Renata., « Antioxidant activity and phenolics compounds in 32 selected herbs » , Food Chemistry, (2007), 940-949.

74. Durling, Nicola E., Catchpole, Owen J., Grey, John B., Webby, Rosemary F.,Mitchell, Kevin A., Foo,Yeap., Perry, Nigel B., « Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) with ethanol-water mixtures » , Food Chemistry , (2007), 1417-1424.

75. Tepe, Bektas., Daferera, Dimitra., Sokmen, Atalay., Sokmen, Munevver., Polissiou, Moschos., «Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae) » , Food Chemistry, (2005), 333–340.

76. Küpeli Akkol, Esra. , Göger, Fatih. , Koşar, Müberra., Hüsnü Can Başer, K. ,« Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey», Food Chemistry , (2008), 942–949.

77. Yeşilyurt, Volkan., Halfon, Belkis., öztürk, Mehmet., Topçu, Gülaçti., « Antioxydant potential and phenolics constituents of *Salvia cedronella*», Food Chemistry, (2008), 31-39.

78. Kivrak, Ibrahim., Emin Duru, Mehmet ., Ozturk, Mehmet., Mercan, Nazime., Harmandar, Mansur., Topcu, Gulact., «Antioxidant, anti cholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia* » , Food Chemistry, (2009), 470-479.

79. Ozkan, Gulcan., Sagdic, Osman., Suleyman Gokturk, R., Unal, Orhan., Albayrak, Sevil., « Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisdica*», Food Science and Technology, (2010), 186–190.

80. Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Beek, T.A. van., «Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts», Food Chemistry, (2004), 231–237.

81. Capek, P., Machova, E., Turjan, J., «Scavenging and antioxidant activities of immunomodulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis* L», International Journal of Biological Macromolecules, (2009), 75–80.

82. Hroma´dkova, Z., Ebringerova´ ,A., Valachovicˇ ,P., « Comparison of classical and ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Salvia officinalis* L », Ultrasonics Sonochemistry ,(1999), 163–168.

83. Gilvray, M.C., «The birth of blue Cypress oil», International Journal of Aromatherapy, (1998), 12-14.

84. Hayouni, El Akrem., Chraief, Imed., Abedrabba, Manaf M., Bouix, Marielle., Leveau, Jean-Yves., Hammami, Mohammed., Hamdi, Moktar., « Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat », International Journal of Food Microbiology, (2008), 242–251.

85. Pace, L., Piccaglia, R., J. Essent. Oil., (1995), 443.

86. Veličković, Anas., Ristić, Mihailos., Veličković, Dragant., Ilić, Stevan., Mitić, Natašad., «The possibilities of the application of some species of Sage (*Salvia*L.) as auxiliaries in the traitment of some diseases», J.Serb.Chem.Soc, (2003), 435-445 pp.

87. Longaray Delamare , Ana Paula., Moschen-Pistorello, Ivete T., Artico, Liane., L Atti-Serafini, uciana., Echeverrigaray, Sergio., «Antibacterial activity of the essential

oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil», *Food Chemistry*, (2007), 603–608.

88. Nikaido, H., Vaara, M., «Molecular basis of bacterial outer membrane permeability», *Microbiological Reviews*, (1985), 1–32.

89. Mushu, Luchi., « Le petit herboriste illustré : plante médicinale, herboristerie, phytothérapie », 744.

90. Jalsenjak, V., Peljnjak, S., Kustrak, D., « Microcapsules of sage oil, essential oils content and antimicrobial activity », *Pharmazie*, (1987), 419–420.

91. Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. « Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,(1997), 3197–3201.

92. Sur, S.V., Tuljupa, F.M., Sur, L.I., « Gas chromatographic determination of monoterpenes in essential oil medicinal plants» ,*Journal of Chromatography*, (1991), 451–458.

93. Azaz, D., Demirci, F., Satil, F., Kurkçuoğlu, M., Baser K.H.C., «Antimicrobial activity of some *Satureja* essential oils», *Zeitschrift für Naturforschung* , (2002), 817–821.

94. Uluben, A., «Chemical constituents, terpenoids in genus *Salvia* », *Medicinal and Aromatic plants*, Harwood Academic Publishers, (2002), 55-68.

95. Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M.A., «Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity», *Letters in Applied Microbiology* , (2000), 379–384.

96. Cowan, M.M., « Plant products as antimicrobial agents», *Clinical Microbiology Reviews*, (1999), 564–582.

97. Wendakoon, C.N., Sakaguchi, M., « Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components of spices », *Journal of Food Protection*, (1995), 280–283.
98. Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M. J., « Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs », *Food Chemistry*, (2003), 255-262.
99. Perry, N. B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas, M.H., Heaney, A.J., McGrimpsy, J.A., Smallfield, B.M., « Essential oil from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.), variations among individuals, plant parts, seasons and sites », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1999), 2048–2054.
100. Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., Sokmen, A., « Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex. Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl) », *Food Chemistry*, (2004), 519–525.
101. Koga, T., Meydau, M., « Effect of plant metabolite of (+) catechin and quercetin on monocyte adhesion to human aortic endothelial cells », *Am. J. Clin. Nutrition*, (2001), 941-948.
102. Baytop, T., « Therapy with medicinal plants in Turkey », V. 2, Nobel Tipkitabevleri, Istanbul, (1999), 142.
103. Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette G.J.P., Bégin, A., « Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms », *International Journal of Food Microbiology*, (1997), 155–162.
104. Shahidi, F., Wanasundra, R.K.J.P.D., « Phenolics antioxidants », *Critical Review in Food Science and Nutrition*, (1992), 67- 103.
105. Tepe, Bektas., « Antioxidant potential and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbert & Aucher ex

- Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey», Bioresource Technology, (2008), 1548-1588.
106. Chen, Hua-Ming., Muromoto, Kaji., Yanauchi, Fumio., Nokiharo, Kiyoshi., «Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidants peptides isolated from digest of Soy bean protein», Journal of Agriculture and Food Chemistry, (1996), 2619-2623.
107. Kelen, Mustafa., Tepe, Bektas., « Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora», Bioresource Technology, (2008), 4096-4104.
108. Estévez, Mario., Ramírez, Rosario., Ventanas, Sonia., Cava, Ramón. «Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté», LWT, (2007), 58–65.
109. Bolshakova, I. V., Lozovskaya, E. L., Sapezhinskii, I. I., «Antioxidant properties of a number of plant extracts» , Biofizika, (1998), 186–188.
110. Zupko, I., Hohmann, J., Redei, D., Falkay, G., Janicsak, G., Mathe, I., «Antioxidant activity of leaves of *Salvia* species in enzyme-dependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents , » Planta Medica, (2001), 366–368.
111. Ohsugi, M., Fan, W. Z., Hase, K., Xiong, Q., Tezuka, Y., Komatsu, K., Namba, T., Saitoh, T., Tazawa, K., & Kadota, S., «Active-oxygen scavenging activity of traditional nourishing-tonic herbal medicines and active constituents of *Rhodiola sacra*», Journal of Ethnopharmacology, (1999), 111–119.
112. Yinrong, Lu., Yeap Foo, L., « Antioxidant activities of polyphenols from Sage », Food chemistry, (2001), 197–202.
113. Boyd, E.L., « Home remedies and the black elderly », Ann Arbor, University of Michigan, (1984).

114. Lewis, W.H., Elwin-Lewis, M.P.F., «Medical Botany», John Wiley & Sons, New York, (1977), 339.

## APENDICE A

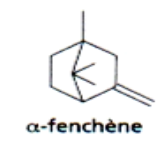
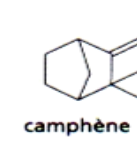
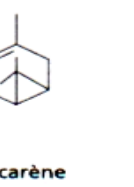
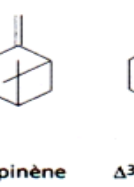
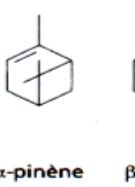
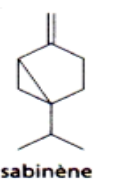
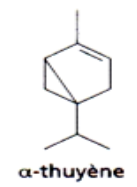
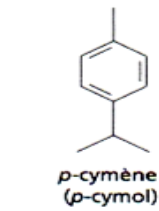
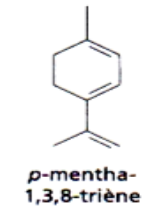
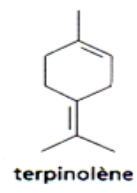
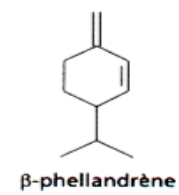
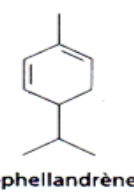
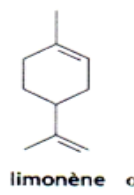
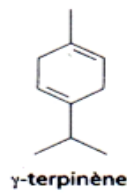
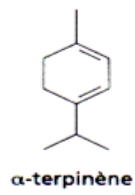
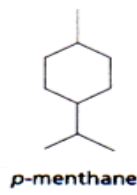
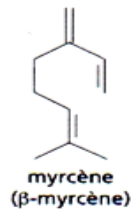
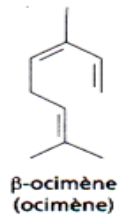
### Liste des abréviations

Bat	Battendier
Trab	Trabut
L	Linné
HE	huile essentielle
EM	extrait méthanolique
U.V	ultra violet
PG	prostaglandines
A.I.N.S	anti inflammatoire non stéroïdiens
A.I.S	anti inflammatoire stéroïdiens
MO	molybdène
DPPH	1,2 diphényl 1- picryl hydrazyl
DO	absorbance
S	<i>Salvia</i>
G	grossissement
MP	microscope photonique
TR	temps de rétention
CG/MS de masse.	chromatographie en phase gazeuse coulée à la spectrométrie de masse.
N.A	non actif
HPLC-MS	chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse.
FeCl <sub>3</sub>	trichloride ferreux
NaCO <sub>3</sub>	carbonate de sodium



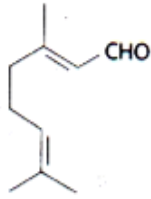
## APPENDICE B

### Structures chimiques des hydrocarbures mono terpéniques

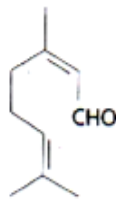


## APPENDICE C

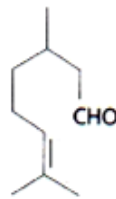
### Structures chimiques des aldéhydes et alcools mono terpéniques



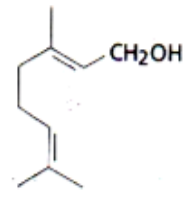
géralial  
(citral a ;  
forme *trans*)



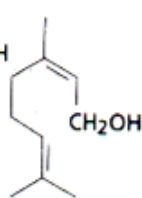
néral  
(citral b ;  
forme *cis*)



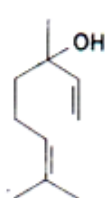
citronellal



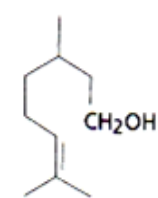
géraliol



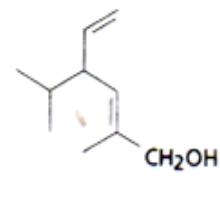
nérol



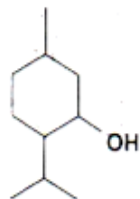
linalol



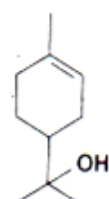
citronellool



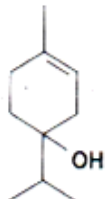
lyratol



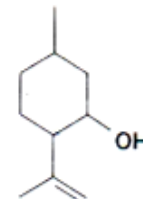
menthol



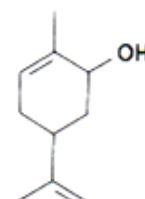
$\alpha$ -terpinéol



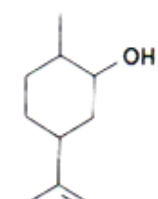
terpinéol-4



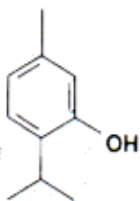
isopulégol



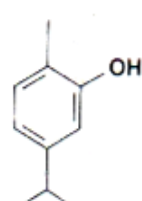
carvéol



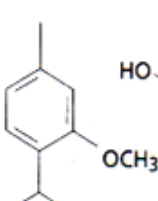
dihydrocarvéol



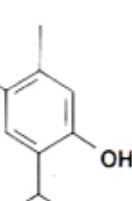
thymol



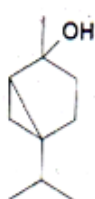
carvacrol



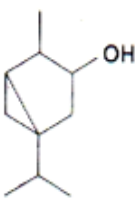
thymol  
méthyléther



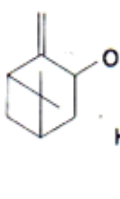
thymol  
hydroquinone



hydrate  
de sabinène



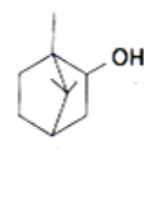
thuyan-3-ol



pinocarvéol



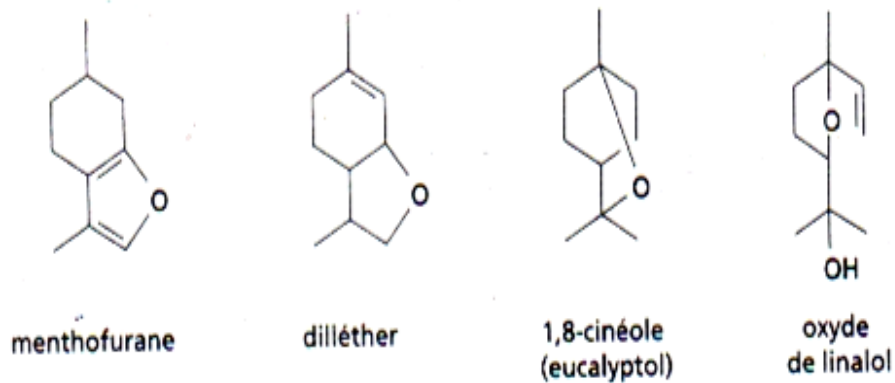
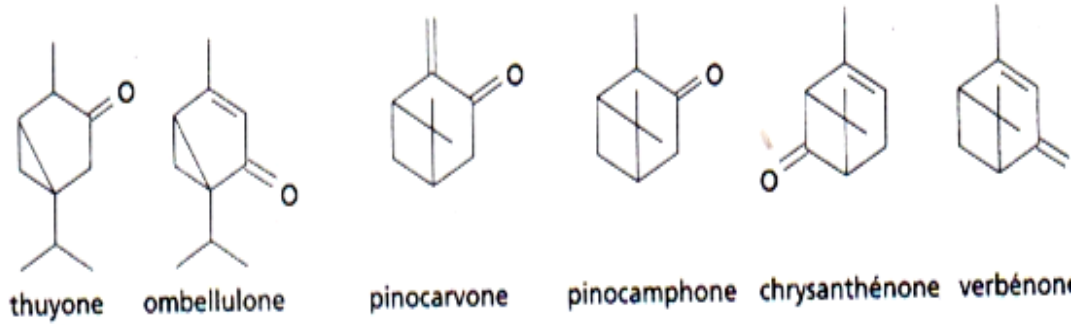
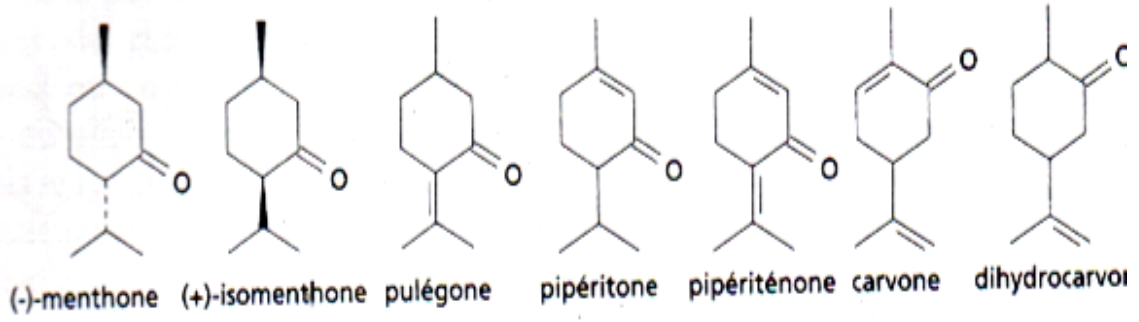
chrysanthéol



bornéol

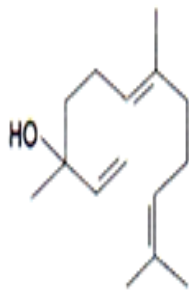
## APPENDICE D

Structures chimiques des cétones et époxydes mono terpéniques

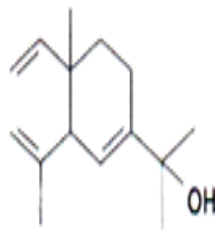


## APPENDICE E

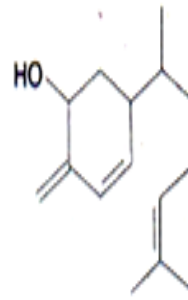
### Structures chimiques des alcools sesquiterpéniques



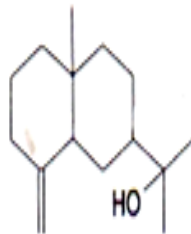
$\beta$ -nérolidol



élémol



$\beta$ -sesquiphellandrol



$\beta$ -eudesmol



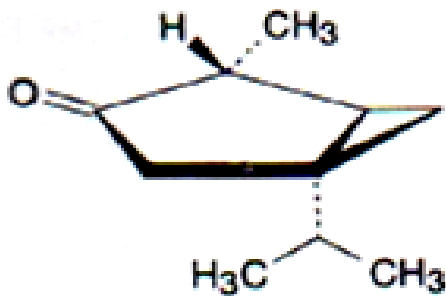
spathuléol



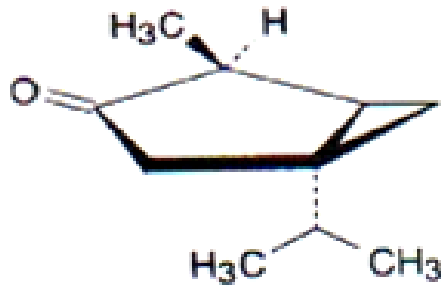
viridiflorol

APPENDICE F

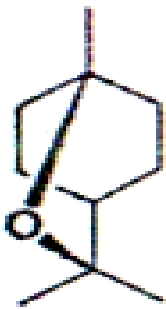
Structures chimiques de quelques composés de l'huile essentielle de *Salvia sp*



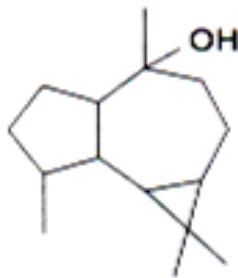
$\alpha$ -thuyone



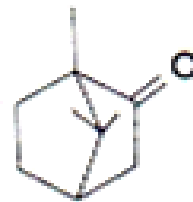
$\beta$ -thuyone



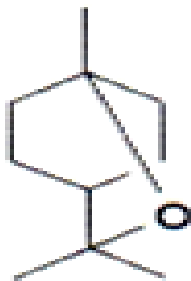
Bornéol



viridiflorol



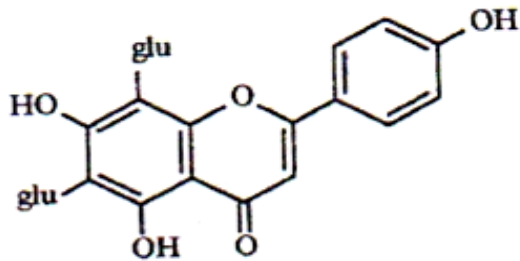
camphre



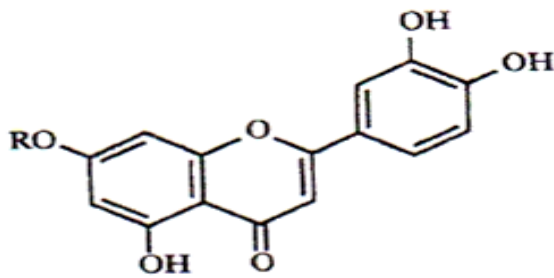
1,8-cinéole (eucalyptol)

## APPENDICE I

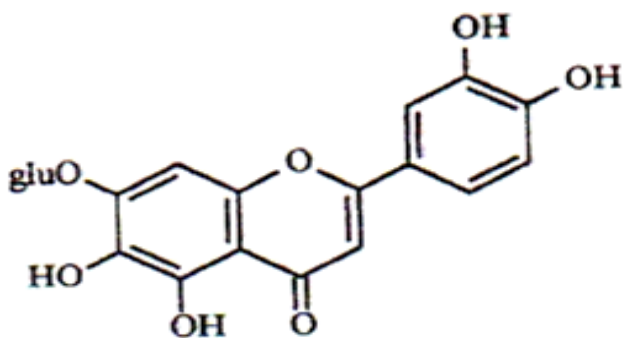
Structures chimiques de quelques flavonoïdes isolées de *Salvia sp*



**Apigenine 6,8-di-C-glucoside**



**R= glu, luteoline 7-glucoside**



**6-hydroxyluteoline 7-glucoside**

## APPENDICE J

### Matériels non biologiques

#### La verrerie :

- Béchers
- Erléne Meyer
- creusets
- Ballon à fond plat à col rodé
- Ballon sans fond
- Ampoules à décanter
- Tubes à essai
- Pipettes graduées
- Entonnoirs

#### Le petit matériel :

- Micropipette
- Pincés
- Scalpels
- ciseaux
- tendeuse
- Portoirs
- Lames en Verre
- Lamelles
- Ecouvillons Stériles
- Boite De Pétri
- Disques D'antibiogramme Stériles
- Pipettes Pasteurs
- Tubes à Essai

L'appareillage :

- Balance de précision
- Etuve ventilée
- Plaque chauffante
- Agitateur
- Bain marie
- Evaporateur rotatif
- Autoclave
- Etuve bactériologique
- Bec benzène
- Loupe binoculaire avec caméra
- Microscope photonique avec caméra
- Spectrophotomètre UV – Visible
- Vortex
- Centrifugeuse
- Four à moufle
- Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse



## APPENDICE K

### Courbes d'étalonnage

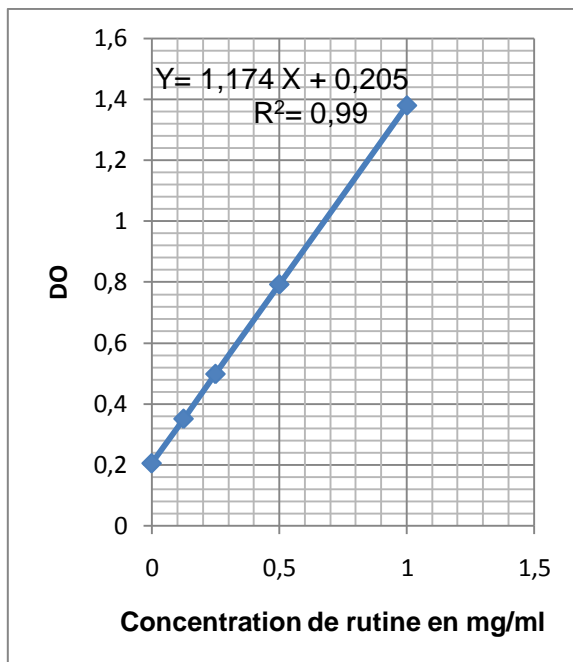


Figure 3.29 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes

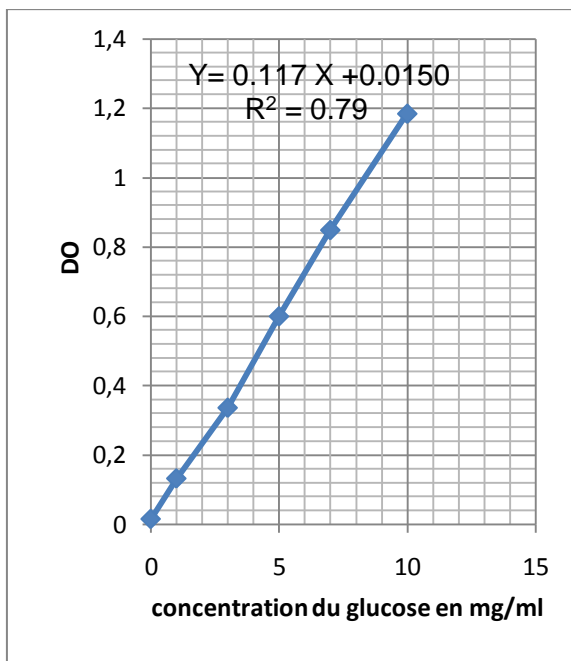


Figure 3.28 : Courbe d'étalonnage des polysaccharides

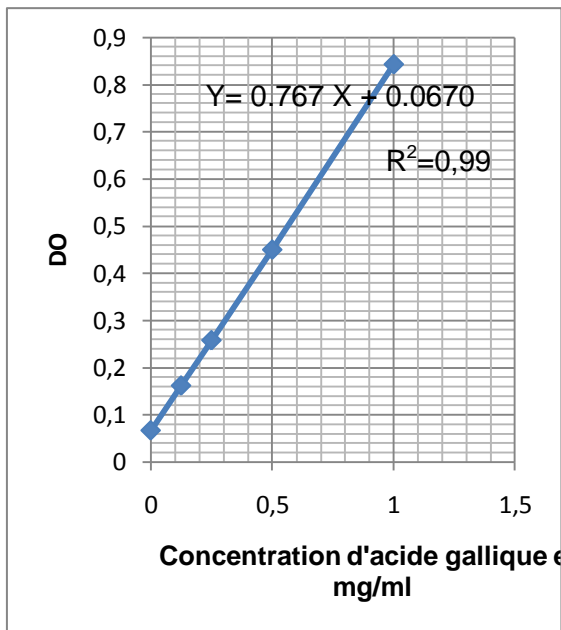


Figure 3.30 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

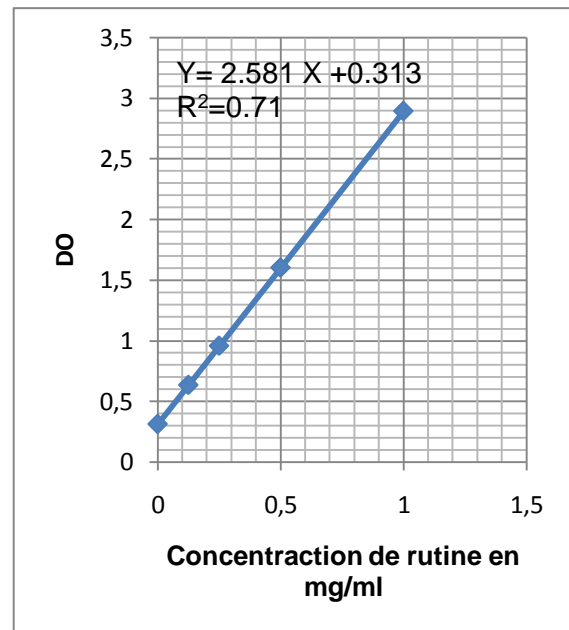


Figure 3.31 : Courbe d'étalonnage des Flavonols.

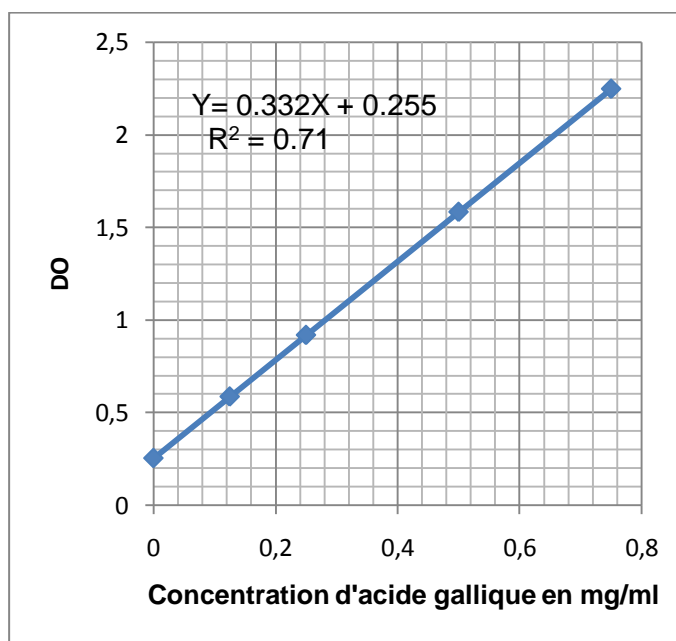


Figure 3.32 : courbe d'étalonnage des tanins

Tableau 3.5 : Taux des métabolites secondaires exprimés en mg d'étalon équivalent/g d'extrait

	<i>S. officinalis</i>	<i>S.chudaei</i>
<b>Poly .phénols totaux</b> (mg GAE/g d'extrait)	143.41±7.82	214.41± 5.74
<b>Flavonoïdes</b> (mg rutine équivalent/g d'extrait)	19.37±6.33	64.38±4,20
<b>Flavonols</b> (mg rutine équivalent/g d'extrait)	13.08±2.33	10.89±2.39
<b>Tanins</b> (mg GAE/g d'extrait)	8.5±0.7	13.9±0,7
<b>Polysaccharides</b> (mg glucose E/ g d'extrait)	2.55	3.84

## APPENDICE L

### Etude statistique

#### 1. Activité anti inflammatoire :

##### 1. Statistiques descriptives :

variable	observation	Moyenne	Ecart type	Intervalle de confiance
<b>Control</b>	6	7.833	0.331	7.300 – 8.200
<b>HE de <i>S.officinalis</i></b>	6	6.388	0.366	5.800 – 6.900
<b>HE de <i>S.chudaei</i></b>	6	6.733	0.308	6.200 - 7.100
<b>EM de <i>S.officinalis</i></b>	6	5,967	0.288	5.600 – 6.400
<b>EM de <i>S.chudaei</i></b>	6	4,817	0.183	4.600 – 5.000
<b>Indométhacine</b>	6	4,642	0.273	4.250 – 5.000

#### 2. Comparaison entre le control et les différents extraits testés (HE, EM de *S.officinalis* et HE, EM de *S.chudaei*) :

<b>Groupes</b>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
<b>Colonne 1</b>	6	47,3	7,88333333	0,10966667
<b>Colonne 2</b>	6	38,3	6,38333333	0,13366667
<b>Colonne 3</b>	6	40,4	6,73333333	0,09466667
<b>Colonne 4</b>	6	35,9	5,98333333	0,08166667
<b>Colonne 5</b>	6	27,85	4,64166667	0,07441667

#### **ANALYSE DE VARIANCE**

<b>Source des variations</b>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
<b>Entre Groupes</b>	33,2933333	4	8,32333333	84,2300557	3,9194E-14	2,75871047
<b>A l'intérieur des groupes</b>	2,47041667	25	0,09881667			
<b>Total</b>	35,76375	29				

### 3. Comparaison entre le control et l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* :

<b>RAPPORT DÉTAILLÉ</b>						
<b>Groupes</b>	<b>Nombre d'échantillons</b>	<b>Somme</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Variance</b>		
Colonne 1	6	47,3	7,88333333	0,10966667		
Colonne 2	6	28,9	4,81666667	0,03366667		
<b>ANALYSE DE VARIANCE</b>						
<b>Source des variations</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Degré de liberté</b>	<b>Moyenne des carrés</b>	<b>F</b>	<b>Probabilité</b>	<b>Valeur critique pour F</b>
Entre Groupes	28,2133333	1	28,2133333	393,674419	2,3199E-09	4,9646027
A l'intérieur des groupes	0,71666667	10	0,07166667			
<b>Total</b>	<b>28,93</b>	<b>11</b>				

Le F calculé est >> F théorique. Différence significative, l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* à la dose de 1mg provoque la diminution du l'œdème et la suppression de la réaction inflammatoire provoquée par l'huile de croton.

### 4. Comparaison entre l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* et l'indométacine :

<b>Groupes</b>	<b>Nombre d'échantillons</b>	<b>Somme</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Variance</b>		
Colonne 1	6	28,9	4,81666667	0,03366667		
Colonne 2	6	27,85	4,64166667	0,07441667		
<b>ANALYSE DE VARIANCE</b>						
<b>Source des variations</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Degré de liberté</b>	<b>Moyenne des carrés</b>	<b>F</b>	<b>Probabilité</b>	<b>Valeur critique pour F</b>
Entre Groupes	0,091875	1	0,091875	1,7000771	0,22149287	4,9646027
A l'intérieur des groupes	0,54041667	10	0,05404167			
<b>Total</b>	<b>0,63229167</b>	<b>11</b>				

Le F calculé << F théorique. Pas de différence significative, l'extrait méthanolique de *Salvia chudaei* et l'indométacine possèdent le même effet sur la réduction de l'inflammation.

5. Test d'homogénéité entre indométhacine et l'EM de *Salvia chudaei*:

Variance S <sup>2</sup>	t calculé	t du tableau (α=0.05, ddl= 11)
5.941 10 <sup>-8</sup>	0.9985	2.201

2. Activité cicatrisante :

1. Statistiques descriptives :

variable	observation	Moyenne	Ecart type	Intervalle de confiance
Témoin	3	1.833	0,289	1.500 – 2.000
Excipient	3	1.250	0,250	1.000 – 1.500
HE de <i>S.officinalis</i>	3	0.167	0,144	0.000 – 250
HE de <i>S.chudaei</i>	3	0.667	0,382	0.250 - 1.000
EM de <i>S.officinalis</i>	3	0.750	0,250	0.500 – 1.000
EM de <i>S.chudaei</i>	3	0.833	0,144	0.750 – 1.000
Madécasol ®	3	0.250	0,250	0.000 – 0.500

2. Test d'homogénéité entre l'huile essentielle de *Salvia officinalis* et Madécasol ® :

Variance S <sup>2</sup>	t calculé	t du tableau (α=0.05, ddl= 5)
0.041616	0.411	2.57

## APPENDICE M

### Glossaire

**Androcée** : Ensemble des étamines (partie mâle de la fleur).

**Anthère** : Partie de l'étamine portée par le filet, contenant le pollen dans les loges polliniques.

**Antiphlogistique** : qui combat l'inflammation.

**Antispasmodiques** : (contre les spasmes) c'est-à-dire les contractions musculaires excessives et persistantes soit des muscles, soit des fibres contractiles internes.

**Calice** : Enveloppe extérieure d'une fleur, formée des sépales, libres ou soudés, généralement de couleur verte, très rarement colorés.

**Carpelle** : Organe reproducteur femelle de la fleur, formé d'un ovaire contenant le ou les ovules, et d'un stigmate.

**Chélateur** : Ce dit d'une substance capable de former avec un ion chargé positivement un complexe soluble éliminable.

**Cytotoxique** : La cytotoxicité est la propriété qu'a un agent chimique ou biologique d'altérer des cellules, éventuellement jusqu'à les détruire.

**Drogues végétales** : Les plantes ou parties de plantes sont utilisées entières ou coupées, le plus souvent après avoir été séchées, plus rarement à l'état frais.

**Étamine** : Organe reproducteur mâle d'une fleur ; elle est composée d'une anthère habituellement à deux loges fixée à un filet.

**Emménagogues** : Les plantes médicinales dites emménagogues sont des plantes qui ont la propriété de régulariser les menstruations. On utilise ces plantes pour les menstruations peu abondantes, irrégulières ou pour les menstruations qui retardent à cause d'une forte émotion ou même un retard causé par la maladie.

**Fibrinogène** : est une protéine qui augmente dans les états inflammatoires.

**Gynécée** : Ensemble des organes reproducteurs femelles d'une fleur ; il peut être formé d'un carpelle unique ou de plusieurs carpelles libres ou soudés.

**Infère** : Se dit de l'ovaire quand il est situé au-dessous du plan d'insertion des autres pièces florales.

**Inflorescence** : Ensemble de fleurs groupées sur un même axe.

**Ischémie** : Diminution de la vascularisation artérielle, donc de l'apport sanguin, au niveau d'une zone plus ou moins étendue d'un tissu ou d'un organe.

**Lancéolé** : En forme de fer de lance ; feuille rétrécie en pointe à l'extrémité et plus large à la base.

**Ostéoporose** : est une maladie caractérisée par une fragilité excessive du squelette, due à une diminution de la masse osseuse .

**Ovaire** : Partie inférieure creuse et généralement renflée du gynécée, renfermant un ou plusieurs ovules.

**Oxygène singulet** : forme instable et très réactive de dioxygène.



**Peroxyde** : est un composé chimique contenant un groupe fonctionnel de formule générale :  $R-O-O-R'$ . La liaison  $O-O$  est instable, le groupe fonctionnel est ainsi très réactif et peut réagir en tant qu'oxydant.

**Plasminogène** : est une enzyme protéolytique initiant la fibrinolyse.

**Phytothérapie** : est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des médicinales. On peut distinguer deux types de phytothérapie : Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes.

**Poudres** : sont obtenues par pulvérisation de la plante sèche. Elles peuvent être absorbées telles quel ou sous formes de gélule

**Stigmate** : Partie supérieure du pistil qui réceptionne le pollen.

**Stomachique** : qui facilite la digestion.

**Thrombose** : correspond à la formation d'un caillot sanguin.

**Trolox** : analogue structural hydrosoluble de la vitamine E.

