

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : Biodiversité et physiologie
végétale

N° :

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par: DAHMANI Somia

DAHMANI Feyrouz

Intitulé

**Evaluation de l'activité biologique des
différents extraits, et des huiles essentielles de
la plante : *Salvia officinalis* L.**

Soutenu devant le jury composé de:

BISKRI Mohammed	MAA	Université de M'Sila	Président.
BELKASSAM Abdelouahab	MCB	Université de M'Sila	Rapporteur.
SMAILI Tahar	MCA	Université de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2017 /2018

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction.....1

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre 01 : Présentation de la plante étudiée

I. La famille lamiacées

I.1. généralité sur la famille lamiacées.....3

I .2.Description botanique de la famille des lamiacées.....3

I.3.Intérêt économique de la famille lamiacées.....3

I.4. Le Genre *Salvia*.....4

I.4.1. Toxicité de Genre *Salvia*.....4

I.4.2. Utilisation traditionnelle de plante du Genre *Salvia*.....4

II.L'espèce *Salvia officinalis*.....5

II.1.Description botanique de la plante *Salvia officinalis*.....5

II.2.position systématique de la plante *Salvia officinalis*.....5

II.3. Répartition géographique de la plante *Salvia officinalis*7

II.4. Les principes actifs de la plante *Salvia officinal*.....7

Chapitre 02 : Metabolisme secondaire

I.Métabolisme.....8

I.1.Métabolites primaires.....8

I.2.Métabolites secondaires.....8

I.2.1.Classifications des métabolismes secondaires.....8

a. Les composés phénoliques.....9

a.1. Principales classes des composés phénoliques.....	9
a.1.1. Les acides phénoliques.....	9
a.1.2. Les tanins.....	10
a.1.3. Les coumarines.....	10
a.1.4. Les lignines	11
a.1.5. Les flavonoïdes.....	11
b. Les terpènes et stéroïdes.....	13
b.1. Les huiles essentielles.....	13
c. Les alcaloïdes.....	14

Chapitre 02 : Activité biologique

I. Activité biologique.....	16
I.1. L'activité antioxydant.....	16
I.1.1. Les Antioxydants.....	16
I.1.4. Définition du stress oxydant	16
I.1.2. Les radicaux libres.....	17
I.1.3. Principaux radicaux libres et leurs origines.....	17
I.1.3. Rôles des radicaux libres.....	17
I.1.5. Mécanismes d'action des antioxydants	17
II. Activité antimicrobienne.....	18
II.1. Définition des bactéries	18
II.2. Culture des bactéries.....	18
II.3. Antibiotiques	19
II.4. Description des bactéries étudiée.....	19

Partie 02 : Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et Méthode

I. Matériel végétal.....	21
II. Caractérisation quantitatives des extraits.....	21
II.1. Principe la macération.....	21

A. Extraction type solide/liquide	22
B. Extraction type liquide /liquide.....	23
II.2. Détermination de rendement d'extraction.....	24
III. Extraction d'huile essentielle.....	26
III .1. Procédé d'extraction.....	26
III .2 . Calcul du rendement.....	26
IV. Extraction des alcaloïdes de la plante <i>Salvia officinalis</i> (tige, fleure).....	27
V. Caractérisation quantitatif.....	28
V.1. Dosage de polyphénols totaux.....	28
V.2. Dosage quantitatif des flavonoïdes	29
VI. Caractérisation qualitatives des extraits.....	30
VII. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	32
VIII. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	34
Chapitre 02 : Résultats et discussion	
I. Evaluation des techniques.....	37
I.1.Rendements des extraits.....	37
I.2. Rendements des extraits alcaloïdes de la plante <i>Salviaofficinalis</i>	38
I.3.Rendement des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>	39
II.Etude phytochimique des extraits.....	40
II.1. Analyse quantitaves des extraits.....	40
II.1.1Teneur en polyphénols.....	40
II.1.2 Teneur en flavonoides.....	42
II.2. Analyses quantitatives des des extraits.....	43
II.2.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	43
III. Résultats des tests biologiques.....	53
III.1. Activité antioxydant.....	53
III.2. Activité antibactérienne.....	55
III.2.1.Activité antibactérienne des polyphénols.....	55
III.2.2.Activité antibactérienne de l'huile essentielle	62
III.2.3. Activité antibactérienne des alcaloïdes	64

CONCLUSION.....66

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

Remerciement

الحمد لله الذي اعاننا على انهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه فكل توفيق منه وحده وكل سهو او خطأ فمننا ومن الشيطان

Avant toute chose, on tient à remercier DIEU le tout puissant, de nous avoir donnée la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

*On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre encadreur Dr. **BELKASSEM Abdelouahab** pour l'honneur qu'il nous a fait de nous encadrer, pour son soutien, son attention, ses bons conseils et pour ses qualités humaines. Pour tout cela on tient à lui exprimer toute notre gratitude.*

*Nous tenons à remercier **Mr .BISKRI Mohammed** nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Dr. SMAILI Tahar** d'avoir accepté d'examiner notre travail*

*Nous exprime également nos profondes reconnaissances et nos respects à Monsieur **BENMHAIA Radhouane** chef de spécialité de Biodiversité et Physiologie Végétale*

*Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire et spécialement aux personnels du laboratoire de BPV en particulier **Mr. SEGHIRI, K.***

Nos vifs remerciement et notre profonde reconnaissance vont à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire nous remercions toute personne de prés et de loin.

SOMIA Et FERAUZ

Dédicace

*À la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à mon cher père **Darradjí** je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie;*

*À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, à ma très chère mère **Aladjía** je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie.*

*À mes frères; **Lahcene** et **Elkhier** et à l'esprit de mon cher frère **Nadir** ;
À mon cher fiancé ; **Mohammed** qui m'a soutenu et m' donné du courage dans ce travail;*

*À mes sœurs; **Cherifa**, **Razika**, **Insaf**, **Malak**, **Samira**...*

À toute ma famille de près ou de loin.

À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université, à tous ceux qui m'aime. Et mes collègues de la promotion de master "Biodiversité et physiologie végétale" 2017/2018

À mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

À mon camarade de ce travail.

En fin, à tous ceux qui m'aime.

SOMIA

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur sacrifice

Et leur encouragement durant toute mon étude

Mes frères :Amira et Ikrame et Jamila pour leur soutien

Moral et ses encouragements

Mes sœur :Mebarke et Hosnie

A toute ma famille a tout ce qui mes connaît

Je dédie Djalal tahir pour encouragement ainsi que pour leur effort

A toutes me amies

De la promotion du Master

« Biodiversité et physiologie végétale »2017/2018

On ne peut trouve les mots justes pour mes exprimer notre affection

Je dédie tous les professeurs



feyrouz

Liste des abréviations

CCM : Chromatograie sur chouche mince .

EAcOEt : L'extrait d'acetate d'éthyle.

EBrt : L'extrait brut (hydro-méthanolique).

En-BuOH : L'extrait butanolique .

BHT : Butylhydroxytoluène.

Me OH :Methanol

HE : Huile essentiel.

Rf : Rapport frontal.

UV : Ultraviolet.

R (%) : Le rendement en %.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

µl : Microlitre.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

CHCl₃ : Chloroforme.

CH₃COOH : Acide acétique.

EAG/gE : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

H₃P Mo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

HCl : Acide chlorhydrique.

MS : Matière sèche.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaNO₂ : Nitrite de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

P : Poids.

p/p : Poids sur poids.

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Principale classe du flavonoïde	13
Tableau N°02 : Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice	31
Tableau N° 03 : Les souches bactériennes utilisées	35
Tableau N° 04 : La différente concentration des extraits.....	35
Tableau N°05 : Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait brut de plante <i>Salvia officinalis</i>	47
Tableau N°06 : Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait d'acétate d'éthyle plante <i>Salvia officinalis</i>	48
Tableau N°07 : Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait <i>n</i> -butanol plante <i>Salvia officinalis</i>	49
Tableau N°08 : Résultats de chromatographie sur couche mince des alcaloïdes de plante <i>Salvia officinalis</i>	53
Tableau N°09 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>S.aureus</i>	56
Tableau N°10 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>S.thyphimurium</i>	57
Tableau N°11 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>P. aeruginosa</i>	57
Tableau N°12 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance de <i>P. mirabilis</i>	58
Tableau N°13 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance d' <i>E. Coli</i>	58
Tableau N° 14 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance <i>E.cloacae</i>	59
Tableau N°15 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance d' <i>L. monocytogenese</i>	59
Tableau N°16 :Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits sur la croissance <i>K. pneumoniae</i>	60

Liste des Figures

Figure 01 : Aspect de la plante <i>Salvia officinalis</i>	6
Figure 02 : Les feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	6
Figure 03 : Les fleurs de <i>Salvia officina</i>	6
Figure 04 : Les graines de <i>Salvia officinalis</i>	6
Figure 05 : Structure chimique de quelque coumarine	11
Figure 06 : Structure et numération des atomes de carbone des lignanes	11
Figure 07 : Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numération classique	12
Figure 08 : Principale classe du flavonoïde	13
Figure 09 : l'espèce bactérienne <i>Escherichia coli</i>	19
Figure 10 : L'espèce bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Figure 11 : L'espèce bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Figure 12 : Carte géographique de la station de récolte Batna, Algérie.....	21
Figure 13 : La filtration.....	22
Figure 14 : Appareil du rotavapeur de type BUCHIR2.....	22
Figure 15 : Protocole préparation des extraits.....	23
Figure 16 :Extraction liquide –liquide par n-butanol de la feuille	24
Figure 17 :Extraction liquide –liquide par acétate d'éthyle de la feuille.....	24
Figure 18 :Extraction liquide –liquide par n-butanol de tige.....	24
Figure 19 :Extraction liquide –liquide par acétate d'éthyle de tige.....	24
Figure 20 : Méthode d'extraction des flavonoïdes.....	25
Figure 21 : 100g matière végétale	27
Figure 22 : appareille de clevenger.....	27
Figure 23 : Extraction des alcaloïdes de la tige.....	28
Figure 24 : Extraction alcaloïdes de la fleur.....	28
Figure 25 : Protocole d'extraction des alcaloïdes.....	28
Figure 26 : les plaques dans le système de solvant.....	32
Figure 27 : Lampe Ultra-violet 254-365nm.....	32
Figure 28 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	33

Figure 29: l'appareil de spectrophotomètre UV mini-1240.....	34
Figure 30: Rendement des déférents extraits de l'espèce <i>Salvia officinalis</i>	37
Figure 31: Rendement des alcaloïdes de la plante <i>Salvia officinalis</i>	39
Figure 32: Rendement en huiles essentielles de l'espèce <i>Salvia officinalis</i>	39
Figure 33: Contenu de polyphénols totaux des extraits de l'espèce <i>Salvia officinalis</i>	41
Figure 34: Contenu de flavonoïdes des extraits de l'espèce <i>Salvia officinalis</i>	42
Figure 35: Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de feuille de <i>Salvia officinalis</i> L., sous lampeUV36 nm de S1,S2.....	44
Figure 36: Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de feuille de <i>Salvia officinalis</i> L., sous lampeUV36 nm de S3, S4.....	44
Figure 37: Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de tige de <i>Salvia officinalis</i> L.,sous lampeUV36 nm de S3,S4.....	45
Figure 38: Revelation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de tige de.. <i>Salvia officinalis</i> L.,sous lampeUV36 nm de S3,S4.....	45
Figure 39: Revelation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de feuille de <i>Salvia officinalis</i> L., sous lampeUV36 nm de S1, S2, S3, S4.....	52
Figure 40: Revelation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de tige de <i>Salvia officinalis</i> L., sous lampeUV36 nm de S1, S2, S3, S4.....	52
Figure 41 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits de <i>Salvia officinalis</i>	54
Figure 42: L'effet d'huile essentielle de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes testes en présence différent concentration d'extraits.....	61
Figure 43: L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.....	61
Figure 44: L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.....	61
Figure 45 : L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.....	62
Figure 46 : L'effet de l'extrait acétate de feuille et tige de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.....	62
Figure 47 : L'effet de l'extrait acétate de tige et brut de feuille de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extrait.....	63
Figure 48 : L'effet d'huile essentielle de la plante <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.....	64
Figure 49: La zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes par les alcaloïdes.....	64



Introduction

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains (**Madi, 2011**). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhniue, 2010**).

Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grec, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane. Au niveau national et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale (**Wichtet Anton, 2003**).

En Afrique, où les médicaments à base de plantes sont toujours utilisés par de nombreuses populations pour des soins sanitaires, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu de façon empirique (**Koffi et al., 2009**).

La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan photochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**).

Il est actuellement prouvé qu'environ 20% des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) (**Suffredini et al., 2004**).

Le genre *Salvia*, de la famille des labiées ou lamiacées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Le genre en question compte, à lui seul, plus de 900 espèces, (**Bektas et al., 2005; Kivrak et al., 2009**). Les espèces décrites en Algérie sont au nombre de vingt-trois (**Quezelet Santa, 1963**).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydants naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Les capteurs de radicaux libres ont pour rôle de stopper ce processus en neutralisant ces composés très réactifs, pour réduire leur nocivité (**Boyd et al., 2003**).

Plusieurs études ont porté aussi sur l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires, principalement celle des huiles essentielles, qui de part de leur composition chimique peuvent entraîner des dommages considérable sur les souches microbiennes **(Bounatirou et al., 2007)**.

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antioxydant et antimicrobienne de l'extrait de la plante aromatique, *Salvia officinalis*, qui appartient à la famille des Lamiacées qui est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. La sélection de cette plante est motivée par le fait qu'elle est parmi les plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde entier. Elle est employée fréquemment par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle et, aussi leurs huiles essentielles dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Aussi, leur efficacité est reconnue traditionnellement dans le traitement symptomatique de troubles de l'appareil digestif supérieur. Cette plante représente un sujet de recherche scientifique intéressant.

Ce manuscrit comporte deux parties :

- ❖ Le premier partie aborde une étude bibliographique préalable réalisée sur décrit la plante étudié *Salvia officinalis*, les métabolites secondaires, et leurs activités biologiques l'activité antioxydants et antimicrobienne ;
- ❖ Le deuxième partie présente les matériels et les méthodes d'extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes qui utilisés dans notre travail. et l'évaluation de leurs activités antioxydants et antibactériennes et présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

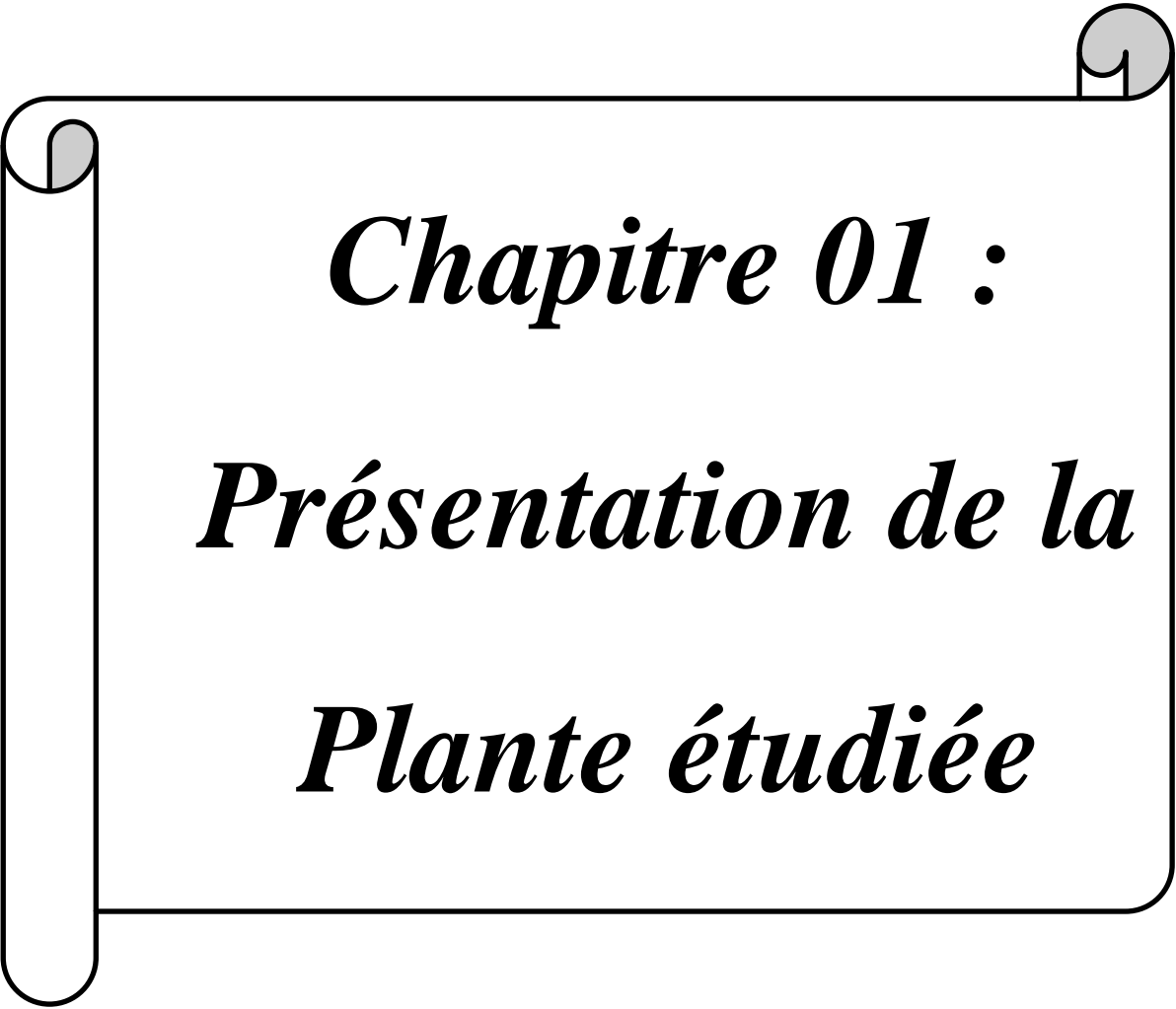
Au terme de ce mémoire, nous présenterons une conclusion générale dans laquelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus.



Partie 01 :

Etude

bibliographique



Chapitre 01 :
Présentation de la
Plante étudiée

I. La famille lamiacées

I.1.généralité sur la famille lamiacées

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays. Cette étude porte sur la famille des Lamiacées. La famille des Lamiacée est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghibi et al., 2005**).

La famille des lamiacées regroupe plus de 258 genres et 6900 espèces, plus au moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (**Judd et al., 2002**).

I.2. Description botanique de La famille des lamiacées

Arbustes, sous-arbrisseaux ou plantes herbacées en général odorants, à tiges quadrangulaires. Feuilles en général opposées sans stipules. Inflorescences en cymes axillaires contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis. Fleurs 5-mères en général hermaphrodites. Calice à 5 divisions bilabié, persistant. Corolle en général bilabiée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes sub-égaux. Étamines 4, la cinquième nulle ou très réduite; parfois, 2 étamines et 2 staminodes. Anthères à loges parfois dissociées et à connectif très différencié. Ovaire supérieur à 2 carpelles originellement bi-ovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. Style bifide, en général gynobasique. Fruits constitués par 4 akènes soudés par leur face interne et diversement ornés. Famille très importante dans la flore de l'Algérie (**Quezel et Santa, 1962**).

I.3. Intérêt économique de la famille lamiacées

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, et *Thymus*. Les tubercules de quelques espèces de *Stachys* sont comestibles *Tectona* fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales : on peut citer parmi eux *Ajuga*, *Callicarpa*, *Salvia*....etc (**Judd et al., 2002**).

1.4. Le Genre *Salvia*

Le genre *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges sont généralement quadrangulaires inclinées comme les autres membres de la famille des lamiacées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (**Scully, 2008**). Le genre *Salvia* (Sauge) fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiacées, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (**Quezel et Santa, 1963**).

1.4.1. Toxicité de Genre *Salvia*

La plante peut être toxique sous toutes ses formes fraîche et sèche, jeune ou en fleur (**Ozenda, 1977**).

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (concentration) concernant principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation. Ces expositions se font par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante et augmenter l'asthme chez les populations sensibles). Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer (**Anne-claire et al., 2008**).

1.4.2. Utilisation traditionnelle de plante du Genre *Salvia*

L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle. En effet *Salvia* en latin signifie guérir et "salvare" qui veut dire sauver. *Salvia* a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines (**kabouche, 2005**). La sauge est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche (les aphtes, les gingivites, l'amygdalite et l'ulcère ...), les abcès, et aussi pour la cicatrisation des plaies. Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies comme la circulation sanguine. Cette plante aromatique est employée dans la cuisine pour son goût puissant légèrement amer et camphré. Elle est utilisée dans la prise en charge de différents problèmes digestifs : ballonnements épigastriques, digestion lente, renvois et flatulences. Aussi comme antibactérien, antiviral, anti tumoral, antispasmodique, antioxydant, calmante, céphalique, fébrifuge, les traitements anti-inflammatoires et des troubles mentaux et nerveux.

Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique et pour des raisons encore mystérieuse. Elle semblerait efficace contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, et contre l'hyperhidrose nocturne, notamment lorsqu'elle est liée à la ménopause (Marc-Antoine-Louis, 1796 ; Bruneton, 2009).

II. L'espèce *Salvia officinalis*

Salvia officinalis est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Khiredinne, 2013). il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (Maksimovic et al., 2007) ; (LongarayDelmare et al., 2007).

En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn Beytar , les andalous la nomment "essalma" qui ajoute qu'elle est appelée "Salbia" par les botanistes en Espagne. El djairi indique l'expression "souekenni" comme synonyme de Saleme.

II.1. Description botanique de la plante *Salvia officinalis*

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre (fig.01), Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées (fig.02) ; fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés (fig.03). Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée (fig.04) ; fruits en forme de tétrakènes (Khiredinne, 2013).

II.2 position systématique de la plante *Salvia officinalis* (Quezel et santa, 1963)

- Règne Plantae
- Embranchement Spermaphyte
- Sous – Embranchement Angiospermes
- Classe Dicotylédone
- Sous-classe Asteridae
- Ordre lamiales
- Famille lamiaceae
- Genre *Salvia*
- Espèce *Salvia officinalis* L.

II.3. Répartition géographique de la plante *Salvia officinalis*

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croît de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le nord de l'Afrique. Espèce Euro méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) (Khiredinne, 2013).



Figure 01: Aspect de la plante *Salvia officinalis*



Figure 02: Les feuilles de *Salvia officinalis*



Figure 03: les fleurs de *Salvia officinalis*



Figure 04: les graines de *Salvia officinalis*

II.4. Les principes actifs de la plante *Salvia officinalis*

la plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpéniques sont considérées des constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénol carboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-comarique, férulique), des principes amers diterpénique, des triterpènes penta cycliques (acides ursolique, cratégorique, oléanolique etc.), des phytostérols, des flavones (**Said et al, 2002**).



Chapitre 02 :

Métabolisme

Secondaire

I. Métabolisme

- **Définition**

Métabolisme l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme, est un processus très dynamique. les molécules sont en continuel renouvellement ; la composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre synthèse et dégradation (**Hopkins, 2003**). Le métabolisme est soumis à une régulation équilibrée évitant toute accumulation des produits finaux ou intermédiaires (**Marouf et Reynaud, 2007**).

I. 1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules présentes dans toutes les cellules végétales et nécessaires à la vie de la plante. Les sucres simples, les acides aminés, les protéines, et les acides nucléiques sont des exemples de métabolites primaire (**Raven et al., 2014**). Ensemble Des voies cataboliques, amphiboliques et anaboliques fournissant à l'organisme l'énergie et les molécules nécessaires aux structures et à l'activité physiologique (respiration, transport, assimilation, croissance, etc.) Les métabolites primaires sont généralement des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 1500) (**Marouf et Reynaud, 2007**).

I.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits à différents endroits de la cellule, ils sont emmagasinés surtout dans la vacuole (**Raven et al., 2014**). Les métabolites secondaires ont repartions limitée, dans la plante elle même comme parmi les différentes espèces des végétaux (**Raven et al., 2014**). La plupart des métabolites secondaires interviennent dans la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits. Les principales catégories des métabolites secondaires sont envisagées rapidement ci –dessous, et certains aspects de leur distribution au sien des angiospermes sont abordés (**Judd et al., 2002**).

I.2.1. Classifications des métabolismes secondaires

Les trois classes de métabolites secondaires chez les plantes sont :

- a. Les composés phénoliques ;
- b. Les terpénoïdes ;
- c. Les alcaloïdes (**Raven et al., 2014**).

a. Les composés phénoliques

➤ Généralités

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemple, les tanins et la lignine (**Hopkins, 2003**). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 1999**). Elles sont présentes dans presque toutes les plantes et l'on sait qu'elles s'accumulent dans toutes les parties de l'organisme (racines, tiges, feuilles, fleurs, et fruits). Bien qu'il soit le groupe le plus étudié de métabolites secondaires, la fonction de beaucoup de produits phénoliques reste encore inconnue (**Raven et al., 2014**).

a.1. Principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (**Bruneton, 1999**).

a.1.1. Les acides phénoliques

➤ Définition

Le terme d'acide -phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyle phénolique (**Bruneton, 1999**).

➤ Propriétés physico-chimiques

- Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires ;
- Ils sont solubles dans les solutions de sodium et de carbonate sodium ;
- Les acides -phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbonates ;
- Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide (**Bruneton, 1999**).

a.1.2. Les tanins

➤ Définition

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (**Hopkins, 2003**). Les composés phénoliques présentent à des concentrations relativement élevées dans les feuilles de plantes ligneuses très diverses. Les tanins sont isolés dans les vacuoles (**Raven et al., 2014**). Composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Bruneton, 1999**).

➤ Classification des tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique :

- ✓ Les Tanins hydrolysables ;
- ✓ Les Tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

a.1.3. Les coumarines

➤ Définition

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabacée), d'où fut isolée en 1820, la coumarine (**Bruneton, 1999**). Ce sont des dérivés des acides hydroxycinnamiques et qui sont le point de départ d'une famille de composés qui se forment par une substitution en 6,7 et 8 sur un cycle aromatique (**Marouf et Reynaud, 2007**). Les coumarines constituent un groupe de lactone largement répandues, issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique (**Hopkins, 2003**).

➤ Propriétés des coumarines

- Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans des solvants organiques ;
- Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants (**Bruneton, 1999**).

Structure des coumarines

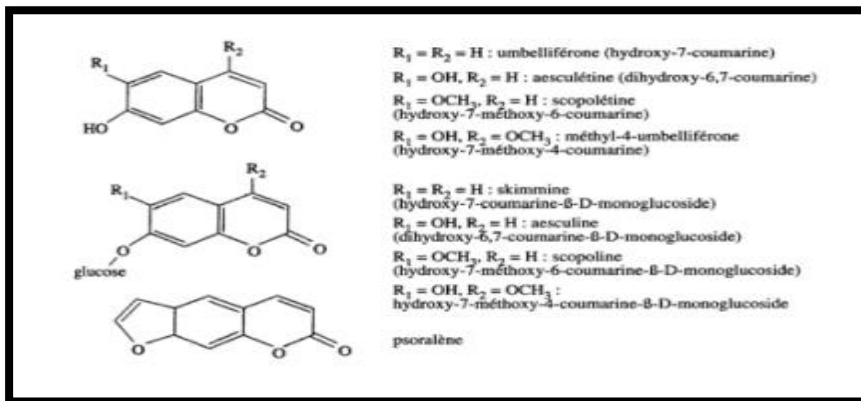


Figure 05: Structure chimique de quelque coumarine (Beddou, 2015).

a.1.4. Les lignines

➤ Définition

La lignine est un polymère très complexe que l'on retrouve dans toutes les plantes vasculaires (Ptéridophytes, Angiospermes et Gymnospermes). Elle assure rigidité aux parois cellulaires végétales et imperméabilité aux tissus conducteurs (Hofmann, 2003).

➤ Structure

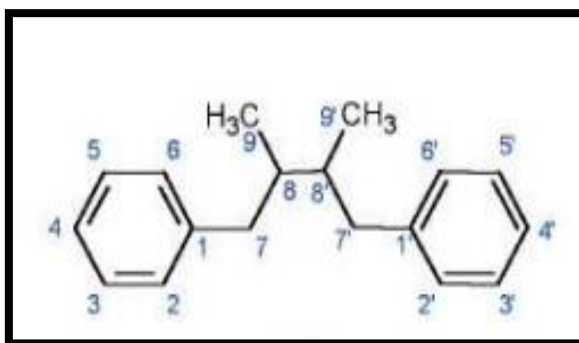


Figure 06: Structure et numération des atomes de carbone des lignanes (Beddou, 2015).

a.1.6. Les flavonoïdes

➤ Définition

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. Ce sont des composés polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structures décrites (Marouf et Reynaud, 2007). C'est la coloration chatoyante des pétales de fleurs, des fruits des bractées ou éventuellement des feuilles qui attire surtout l'homme et une foule d'animaux vers les plantes (Hopkins, 2003). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre

(aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton, 1993**).

➤ **Structure**

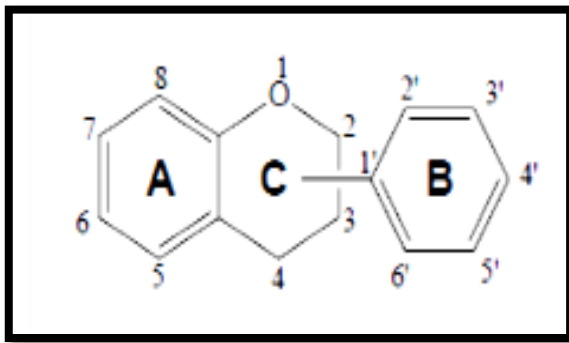


Figure 07:Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numération classique (**Beddou, 2015**).

➤ **Propriétés Physico-chimiques des flavonoïdes**

• **Solubilité et l'extraction**

- Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires ;
- Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau (**Bruneton, 1999**).

• **Dosage**

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L' HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

• Classification des flavonoïdes

Tableau 01 : Principale classe du flavonoïde (Berreghioua, 2016).

Classe	Structure chimique	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Flavanes (Flavanol)		OH	OH	H	Catéchine
		OH	OH	OH	Galocatéchine
Anthocyanes		H	OH	OH	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Chalcones		R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	Exemple
		OH	H	OH	3',5',5,7-tetrahydroxy chalcone
Isoflavones (isoflavonoïde)		R ₅	R ₇	R ₄ '	Exemple
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	OH	OH	Daidezine

b. Les terpènes et stéroïdes

➤ Généralités

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et des stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (Bruneton, 1999).

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**).

b.1. Les huiles essentielles

➤ Définition

Les huiles essentielles (=essences =huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Bruneton, 1999**). On a trouvé des huiles essentielles en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de plantes, réparties dans 60 familles (**Marouf et Reynaud, 2007**).

➤ Propriétés physiques

- ✓ Liquide à température ambiante ;
- ✓ Les huiles essentielles sont volatiles ;
- ✓ Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau ;
- ✓ Solubles dans le solvant organique usuel ;
- ✓ Elles sont liposolubles (**Bruneton, 1999**).

➤ Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartiennent, de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1999**).

c. Les alcaloïdes

➤ Définition

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, ce terme est dérivé de l'arabe

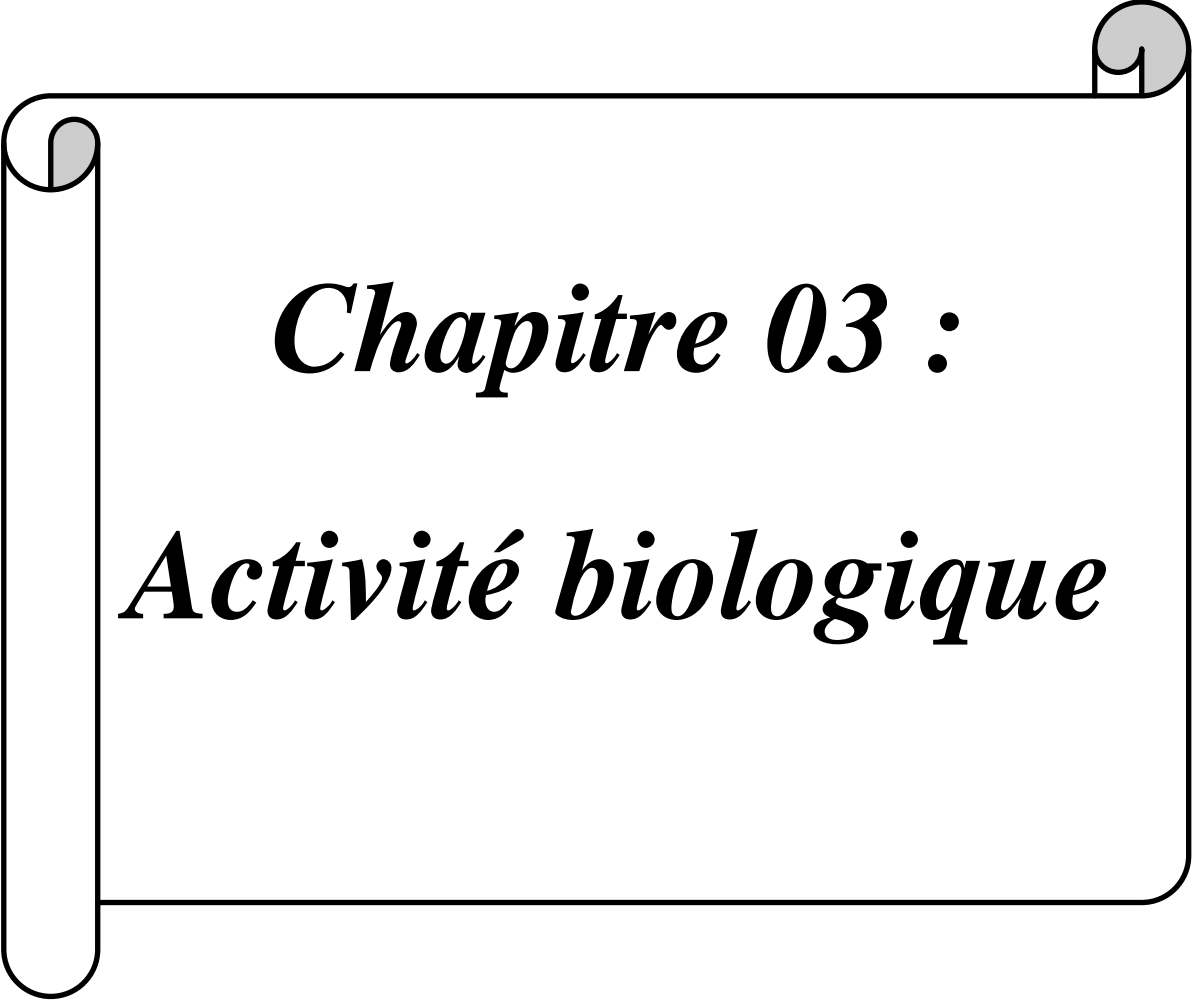
Alcaloïde qui signifie la soude et de grec endos qui signifie l'aspect .est un composé organique d'origine naturelle(le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (**Bruneton, 1999**)

➤ **Propriétés physico-chimiques**

- Les alcaloïdes non oxygénés (nicotine), sont des liquides huileux volatils, fréquemment odorants, par contre les alcaloïdes oxygénés sont en général solides, cristallisés, inodores et de saveur amère. Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite (**Fabre et Truhaut, 1961**).
- Ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (**Badiaga, 2012**) ;
- La solubilité des alcaloïdes dans les solvants organiques tels que: l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme est en général élevée par rapport à la solubilité dans l'eau, puisque la plupart de ces substances sont insolubles ou peu solubles dans l'eau (**Merghem, 2009**) ;
- Les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants (**Awa, 2003**).

➤ **Classification des alcaloïdes**

- **Les alcaloïdes vrais** : leur atome d'azote est inclus dans système hétérocyclique, ils sont issus du seul règne végétal ;
- **Les pseudo-alcaloïdes**: ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés ;
- **Les proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (**Bruneton, 1999**).



Chapitre 03 :
Activité biologique

I. Activité biologique

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**).

I.1. L'activité antioxydant

I.1.1. Les Antioxydants

- **Définition**

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». Vansant (2004) définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes (**Mohammedi, 2013**).

- **Les antioxydants endogènes (enzymatiques)**

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Labioud, 2016**).

- **Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)**

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**).

I.1.2. Définition du stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si

tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

I. 1.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié (électrons célibataires). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Labioud, 2016**).

I.1.3. Principaux radicaux libres et leurs origines

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

I.1.3. Rôles des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier, 2003**).

I.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition. Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

- Système de défense primaire : comme la catalase, le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention ;
- Système de défense secondaire : à titre exemple les tocophérols, sont capables de piéger directement les radicaux oxydants et sont ainsi des antioxydants «briseurs» de la chaîne radicalaire bloquant ainsi les réactions de propagation (**Labioud, 2016**).

II. Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (**Kaufmann, 1997**).

II.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bactérie. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μm . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Bounihi, 2016**).

II.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries

visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe) (Labioud, 2016).

II.3. Antibiotiques

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries), dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme, ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier, mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales (Bounihi, 2016).

II.4. Description des bactéries étudiées

Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à gram négatif (Patrick et al., 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. *E. coli* est le germe responsable de 75 à 80 % des infections urinaires. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Bounihi, 2016).

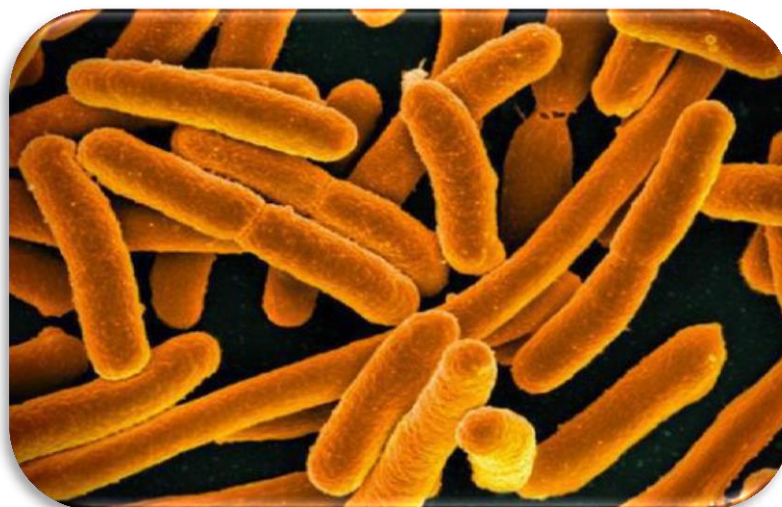


Figure 09 :L'espèce bactérienne *Escherichia coli*.

✚ *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). *S. aureus* est un pathogène important, responsable des infections des plaies, de l'ostéomyélite de l'enfant (infection de l'os), de l'arthrite (infection d'une articulation), septicémie et pneumopathies (multiples petits abcès des deux poumons) (Bounihi, 2016).

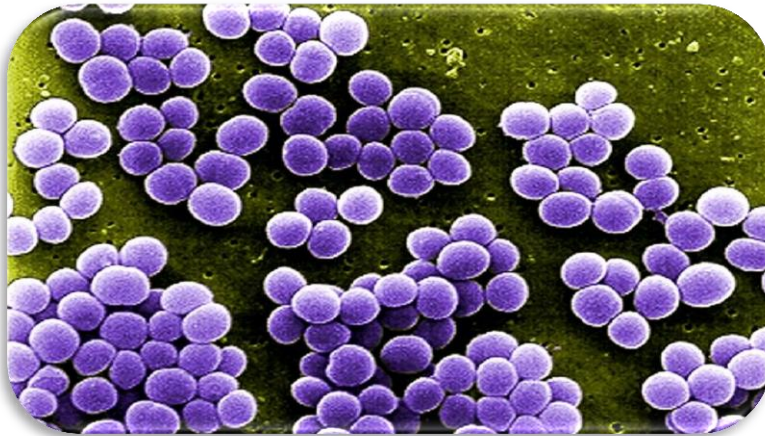


Figure 10 : L'espèce bactérienne *Staphylococcus aureus*.

✚ *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ».

P. aeruginosa ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires) (Bounihi, 2016).



Figure 11: L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.



Partie 02 :

Partie

expérimental



Chapitre01 :

Matériels

Et Méthodes

I. Matériel végétal

- **Récolte de la plante**

Cette étude a été réalisée sur le matériel végétal constitué des parties aériennes de *Salvia officinalis*. Les feuilles et les tiges de cette plante ont été cueillies en 2018 de la région de wilaya Batna, que les feuilles et les tiges ont été récoltées en mois de janvier 2018. Le séchage a été effectué à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire. Après séchage, les deux parties de la plante *Salvia officinalis* ont été broyées séparément et stockées soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

- **Localisation de la plante**



● **Station de récolte le matériel végétale.**

Figure 12 : Carte géographique de la station de récolte Batna, Algérie.

II. Caractérisation quantitatives des extraits

Les flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles et des tiges de cette plante par méthode : Extraction par macération dans le méthanol aqueux.

II.1. Principe la macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide froid pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe ce liquide afin d'en

Matériels Et Méthodes

Obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose. Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité.

A.Extraction type solide/liquide (Extraction par macération dans le méthanol aqueux)

➤ Préparation des extraits

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Ciulei, 1983). Après le broyage de la matériel végétal (tige , feuille) nous avons prendre une quantité de 141g de partie de la feuille et 150g de la tige séparément (100g pour l'extrait méthanoïque, 50g pour l'extrait brut) et même de la feuille (100g pour l'extrait méthanoïque, 41g pour l'extrait brut) à température ambiante dans une mélange méthanol-eau (70/30 :v/v) de l'extrait méthanoïque et (80/20 :v/v) de l'extrait brut avec l'agitation de temps à autre .cette opération est répétée trois fois successive pendant 24 à 48 heures avec renouvellement du solvant à chaque fois pour augmenter la masse de l'extrait. Après filtration par papier filtre, le filtrat est concentre au Rotavapeur de type BUCHI R-210 a la température 40C et vitesse de rotation 3. on obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut de la tige et feuille ensuite gardées les extrait dans un réfrigérateur à 4 C.

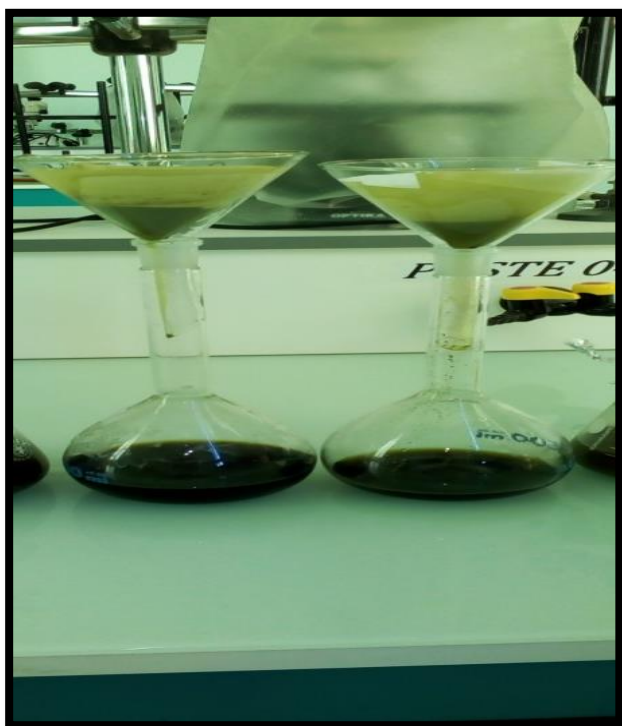


Figure13 : La filtration.



Figure14 : Appareil du rotavapeur de type BUCHIR2

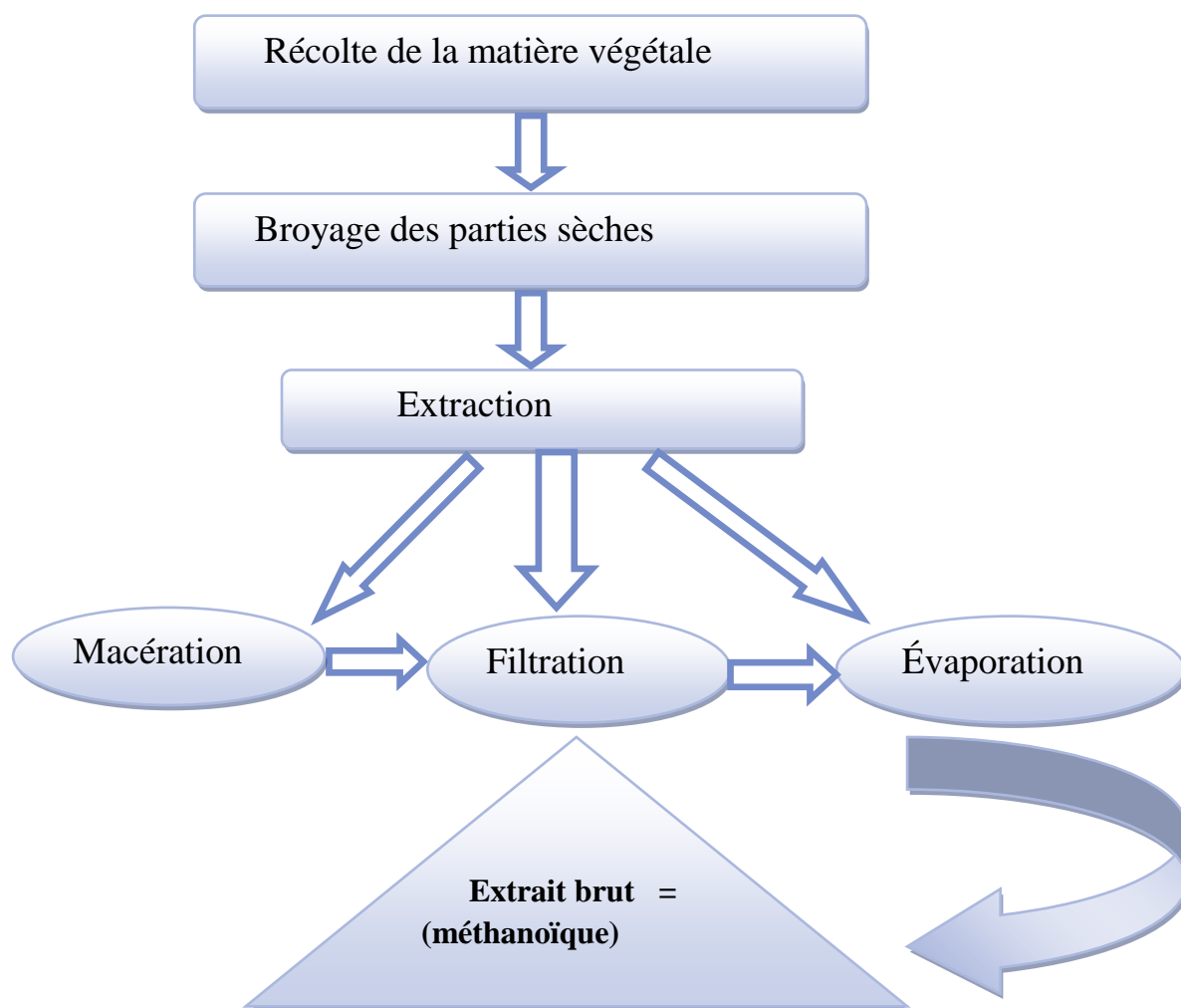


Figure 15 : Protocole préparation des extraits.

B. Extraction type liquide /liquide

L'extrait méthanoïque sec de la tige et feuille est utilisé à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec d'autre solvant de polarité croissant, il utilise de l'acétate d'éthyle et n-butanol. Les deux solvants organiques sont spécifiques des composés phénoliques et des flavonoïdes.

Les extraits méthanoïques sont initialement mélangés avec 60ml d'acétate d'éthyle pour la feuille et 30ml d'acétate d'éthyle pour la tige dans une ampoule à décanter, bien agiter et laisser reposer le mélange, au moins 24h jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur), récupérer la phase organique dans un récipient en verre, répéter la procédure trois fois successives. Pour le solvant n-butanol en suivant les mêmes étapes de l'acétate d'éthyle. A la fin de cette extraction permet d'obtenir quatre extraits organiques sont :

Matériels Et Méthodes

- extrait d'acétate d'éthyle de tige (**EAcOET.T**) ;
- extrait d'acétate d'éthyle de feuille (**EAcOET.F**) ;
- extrait n-butanol de tige (**En-BuOH.T**) ;
- extrait n-butanol de feuille (**En-BuOH.F**). les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.

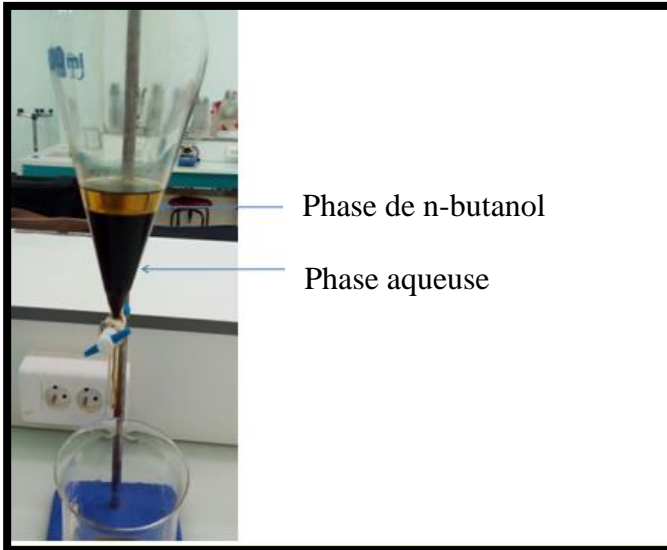


Figure 16 : Extraction liquide-liquide par N-butanol de la feuille.

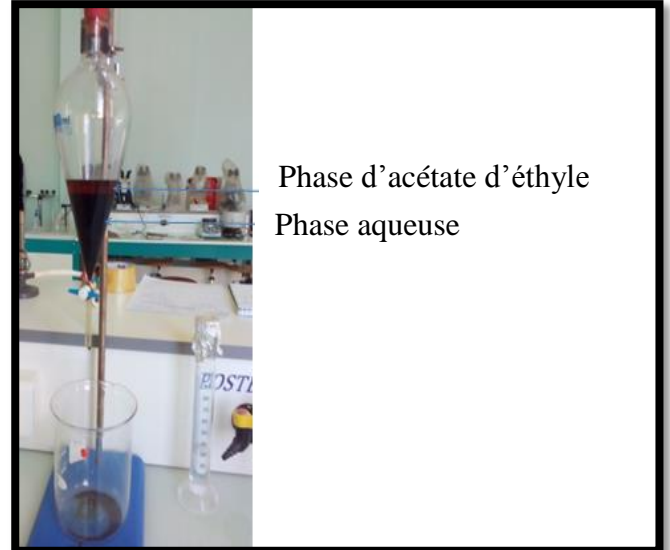


Figure 17 : Extraction liquide-liquide par D'acétate d'éthyle de la feuille.

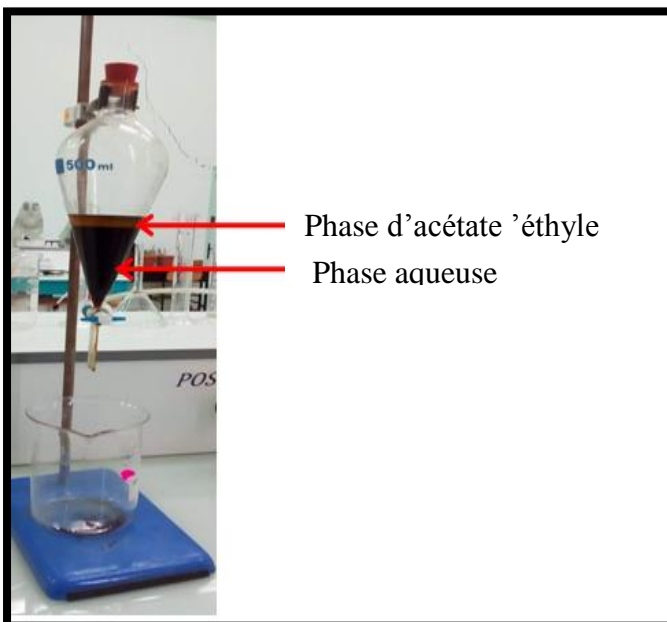


Figure 18 : Extraction liquide-liquide par n-Butanol de la tige.

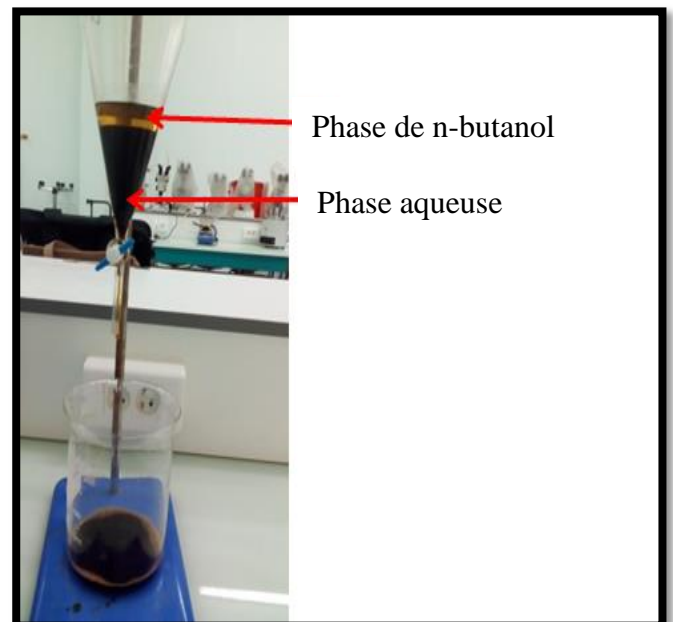


Figure 19 : Extraction liquide-liquide par D'acétate d'éthyle de la tige.

Matériels Et Méthodes

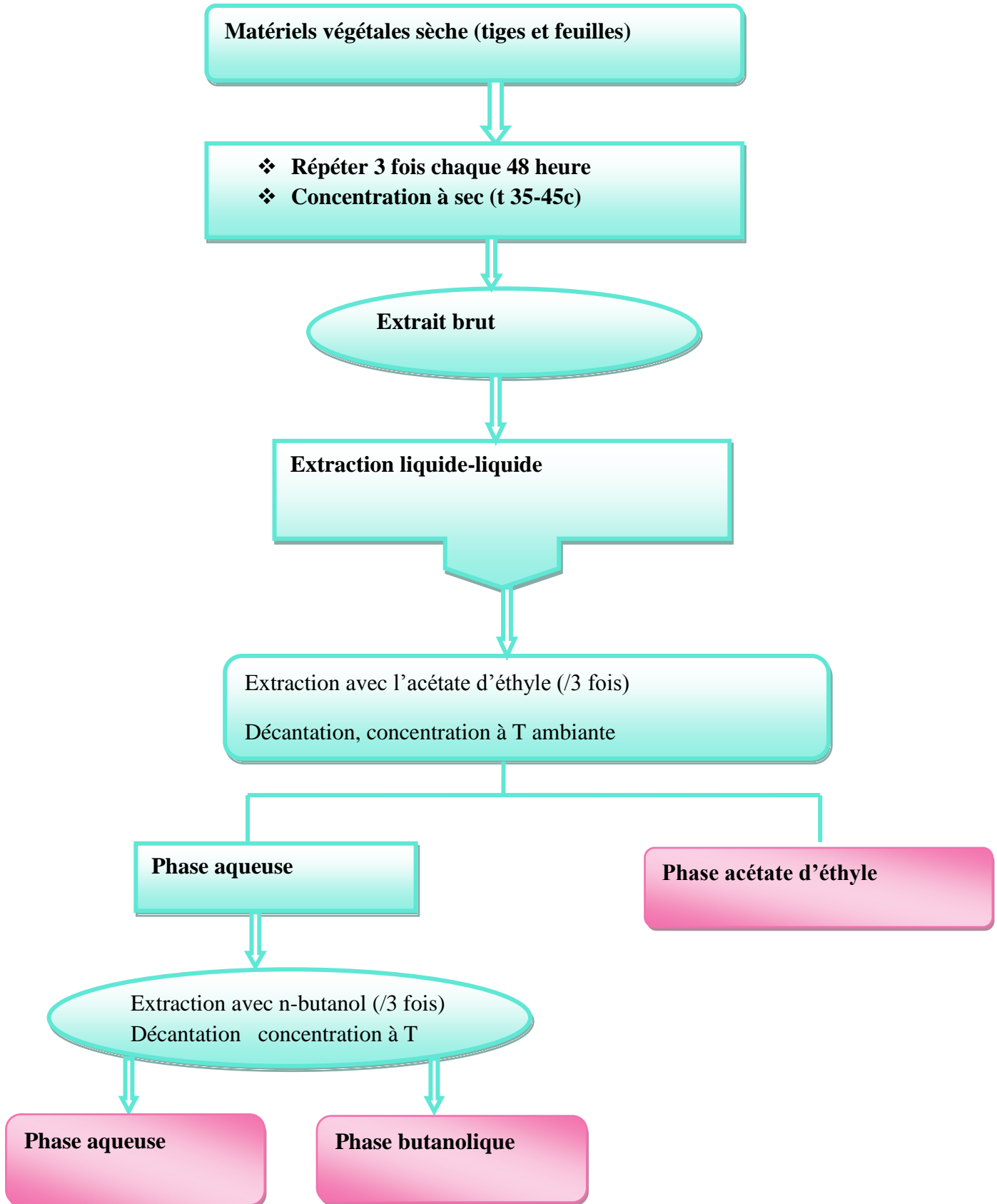


Figure 20 : Méthode d'extraction des flavonoïdes (Ciulei, 1983).

II.2. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de différents extraits est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal utilisé. Ce rendement est calculé via l'équation : $R (\%) = 100 M_{ext}/M_{éch}$.

- ❖ **R**: est le rendement en %;
- ❖ **M_{ext}**: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g;
- ❖ **M_{éch}**: est la masse sèche la plante en g.

III. Extraction d'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Une fois que la matière végétale est récoltée, la partie aérienne de la plante (feuilles) est récupérée et nettoyée de la terre et des autres herbes contaminants.

- **l'hydrodistillation (water distillation)** : Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition.

III .1. Procédé d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro distillation en utilisant l'appareil de clévenger. Il est constitué d'un chauffe-ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. Celui-ci est généralement en verre pyrex dans lequel on place le matériel végétal séché et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur qui reçoit les produits de la distillation.

Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé par l'acétone puis l'eau distillée pour éviter toute contamination. Dans un ballon, on ajoute 100 g des parties aériennes de la plante (feuilles) sont mises en contact avec 1000 ml d'eau distillée dans le ballon. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3h. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide.

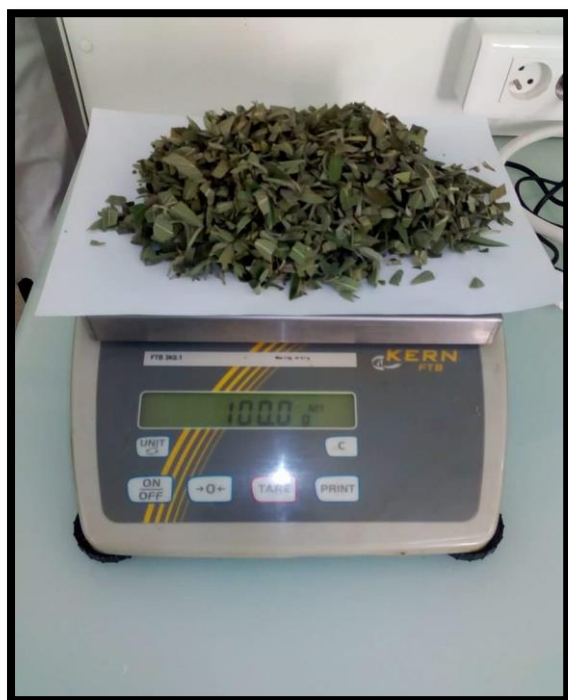


Figure 21 : 100g matière végétale

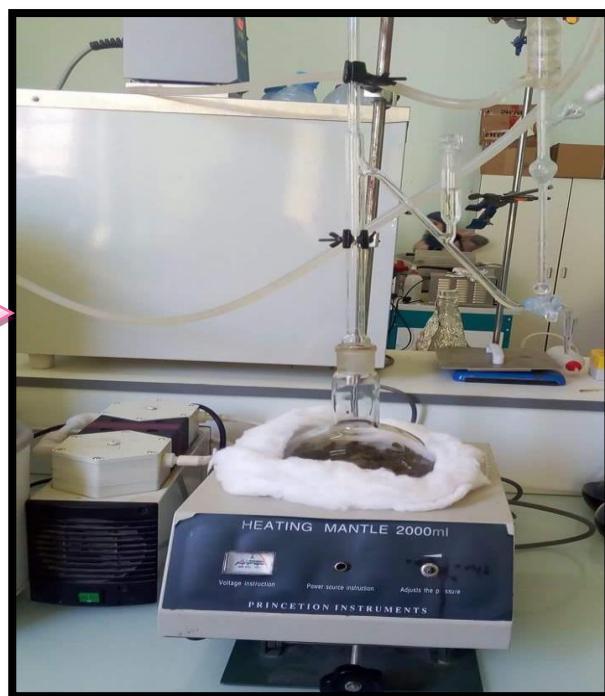


Figure 22 : Appareil de clevenger.

III .2 .Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) \times 100$$

- ✓ **RHE** : rendement en huile essentielle de la partie aérienne du plante ;
- ✓ **MHE** : le poids de l'huile extraite (mg);
- ✓ **MS** : le poids de la matière végétale sèche (mg).

IV. Extraction des alcaloïdes de la plante *Salvia officinalis* (tige, fleur)

Après macération de la tige et fleure prendre l'extrait brut et mesure le PH et diminue le PH de l'extrait en 2% en utilise le solvant HCL, après ajoute l'extrait brut dans une ampoule à décanter, puis ajoute le solvant chloroforme 30ml et répète cette opération 3 fois pour obtenue la phase organique 1. Après nous avons ajoute quelque ml de NH₃ pour le PH d'extrait égale 9%,

Matériels Et Méthodes

ensuite répète 3 fois la même méthode de la phase organique 1. A la fin obtenue phase organique 2 contenue les alcaloïdes.

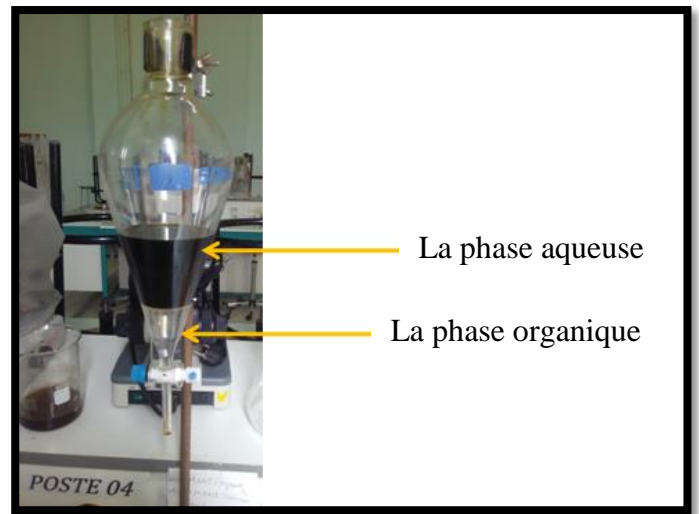
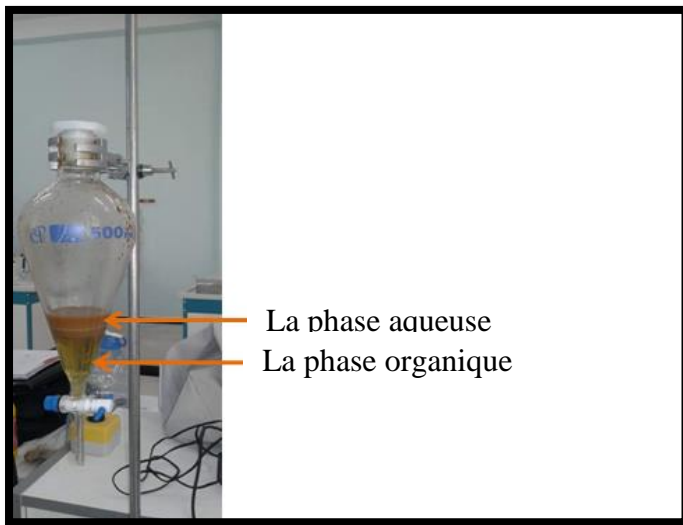


Figure 23:Extraction des alcaloïdes de la tige. **Figure 24 :** Extraction alcaloïdes de la fleur.

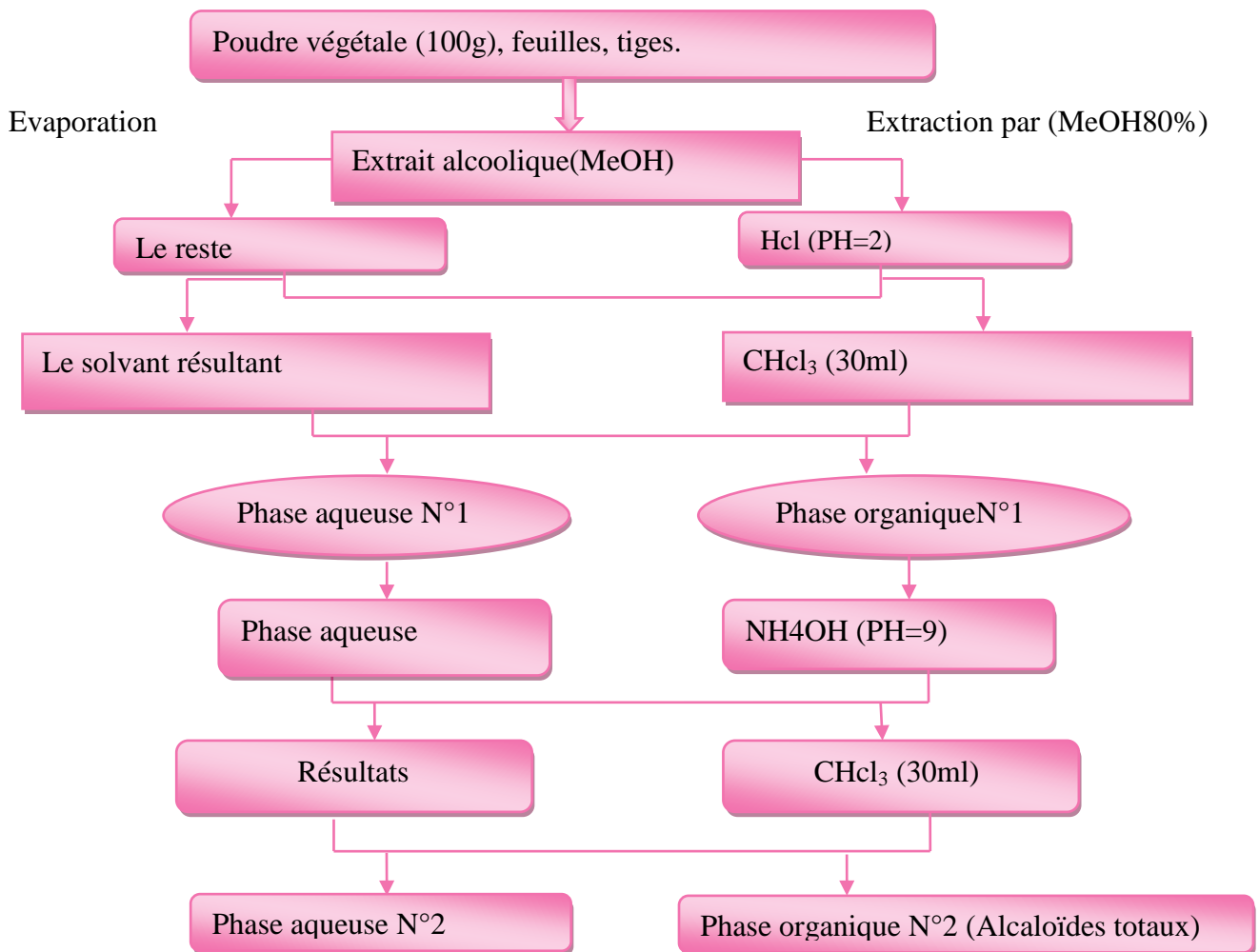


Figure 25 : Protocole d'extraction des alcaloïdes (ciulel, 1983).

V. Caractérisation quantitatif

V.1. Dosage de polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999).

- **Principe**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les propriétés colorimétriques de réactif de Folin-Ciocalteu sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction -OH des phénols (Catalano *et al.*, 1999). Ce réactif est forme d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_4$ qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungsteneW8O23 et de molybdène MO_8O_3 , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée.

Brièvement 200 μ l de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

- **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200 μ g/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg) (Wong *et al.*, 2006).

V.2. Dosage quantitatif des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par (Djeridaneet *al.*, 2006) et (Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

- **Principe**

Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm.

- **Protocole :**

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

- **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40 $\mu\text{g/ml}$) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

VI. Caractérisation qualitatives des extraits

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel (**Bengrba, 2008**).

Principe :

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire. Après que l'échantillon a été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (**Antonot et al., 1998**).

Matériels Et Méthodes

✚ Mise en œuvre pratique

❖ Préparation des plaques CCM

Dans notre travail, nous avons utilisé des plaques de CCM en gel de silice G 60.

❖ Préparation de la phase mobile

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques. Pour cela, différents systèmes solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations.

Tableau 02 : Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

CCM sur gel de silice			
Systèmes solvant	N	proportion	Références
Chloroforme/Acétate d'éthyle	1	(8 :2)	(Belkssam, 2009)
Chloroforme/Méthanol	2	(9 :1)	
Chloroforme/Méthanol	3	(7 :3)	
Méthanol/acétate d'éthyle/hexane	4	(7/4/0.5)	

❖ Le dépôt

Les extrait de la plante sont solubilisés dans Chloroforme ensuite déposé sur la plaque à l'aide d'une pipette pasteur à des points repères situés à 1 cm du bord inférieur de la plaque, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte **(Sine, 2003)**.

❖ Développement des plaques

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la béccher préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque **(Sine, 2003)**.

❖ Révélation

Une fois le développement du chromatogramme est effectué, la plaque est séchée à

Matériels Et Méthodes

Température ambiante puis examinée à l'UV à la longueur d'onde 366 nm. Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal R_f , calculé par la formule suivante :

d : la distance parcourue par la molécule ;

D : la distance parcourue par la phase mobile (front du solvant).

$$R_f = d / D$$

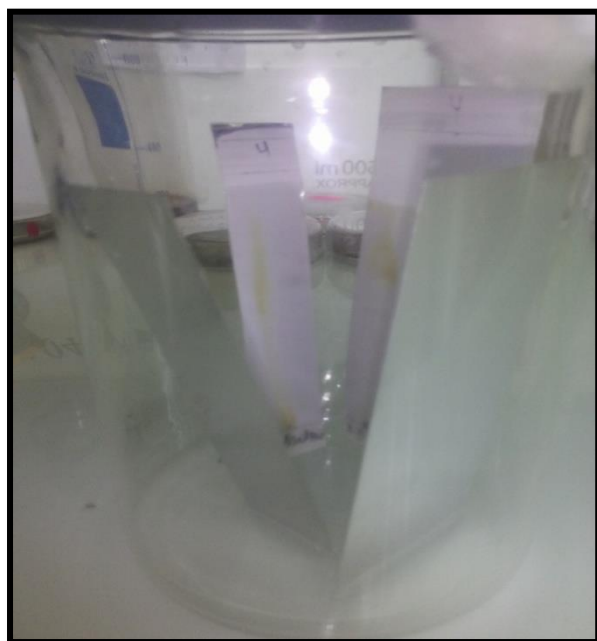


Figure 26: Les plaques dans le système de solvant.



Figure 27: Lampe Ultra-violet 254-365nm.

VII. Evaluation du pouvoir antioxydant

Beaucoup de tests sont utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces tests sont basés sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans notre étude nous avons utilisé: **Le test DPPH.**

❖ Test DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée photométable à 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune-verte. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

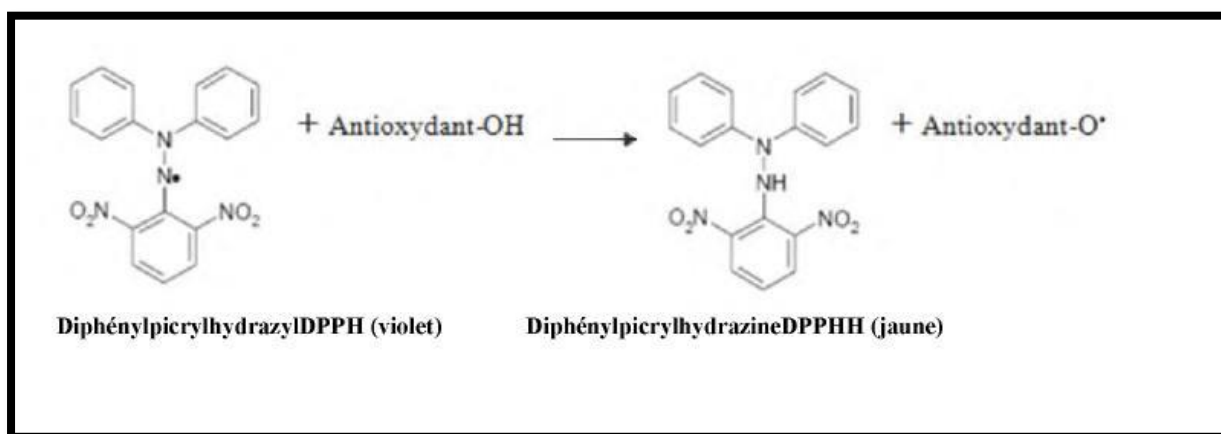


Figure28 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Lounis et khalfalah, 2015).

❖ Mise en œuvre pratique

La solution mère de l'extrait est préparée dans le méthanol à une concentration de 2000µg/ml. Des dilutions sont réalisées de façon à avoir des concentrations qui varient entre 1000et 15.6 µg/ml. Deux ml de l'extrait en solution sont ajoutés à 2mL de DPPH (80 µg/ml).La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 mn d'incubation dans l'obscurité. Un blanc constitué de 2 ml de méthanol et 2 ml de la solution de DPPH. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme control positif. La solution radicalaire de DPPH est préparée fraîchement et les essais sont repris trois fois. L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage ou l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est relié.

Avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) suivant cette relation :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abscontrol}} \times 100$$

Abs control : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai) ;

Abs échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydant d'un composé, les

Résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence dans notre expérience

Est BHT.



Figure 29 : L'appareil de spectrophotomètre UV mini-1240.

VIII. Evaluation de l'activité antibactérienne

Antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme, c'est l'équivalent d'antibiogramme (technique utilisée en bactériologie médicale où les antibiotiques sont remplacés par les extraits) ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Ce dernier sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

▪ Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman, avec un diamètre de **6 mm**. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

▪ Milieu de culture

On utilise gélose nutritive Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des Souches bactériennes à différentes concentrations d'extraits méthanoïques.

▪ Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antibactérienne

Matériels Et Méthodes

De la plante *Salvia officinalis* sont des souches référencées une gram positive, et des souches gram négatives, ces souches obtenues de laboratoire de Microbiologie de l'université de M'sila, et sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation.

Tableau 03 : Les souches bactériennes utilisées.

Nom de souche et Code référence	Gram
<i>Klebsiellapneumoniae</i> ATCC 700603	Gram négatif
<i>Enterobactercloacae</i> ATCC51299	Gram négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram négatif
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 39452	Gram négatif
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram négatif
<i>Listeria monocytogenese</i> ATCC 15313	Gram positive
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27923	Gram positive
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	Gram négatif

- **Préparation des dilutions des extraits (concentration)**

Selon (ciulel, 1983) ; nous avons préparé dilutions des extraits.

Tableau 04 : La différente concentration des extraits.

Extrait	Concentration (mg/ml)
C1	16
C2	8
C3	4
C4	2

- **Inoculum**

- ❖ A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, racler Par une Anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- ❖ Décharger l'anse dans 8 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéisé la

Matériels Et Méthodes

Suspension bactérienne.

▪ **Ensemencement**

- ❖ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen;
- ❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination

Du manipulateur et de la paillasse);

- ❖ L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le Décharger au maximum;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas;
- ❖ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

▪ **Incubation et Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des polyphénols.

- ❖ **Non sensible** (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- ❖ **Sensible** (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- ❖ **Très sensible** (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- ❖ **Extrêmement sensible** (+++) : diamètre > 20 mm (**Ponce, 2003**).



Chapitre 02 :

Résultats

Et discussions

I. Evaluation des techniques d'extraction

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des différentes parties de plante de *Salvia officinalis* feuille, tige et fleurs par la mise en place d'un ensemble de réactions de caractérisation de différents composés chimiques. En utilisant des différents solvants à polarité différente pour permettre de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

La détection de ces composés chimiques par étude qualitative et quantitative (polyphénols et flavonoïdes totaux, CCM) et en utilisant le spectrophotomètre UV ainsi que différentes techniques d'analyse.

I.1. Rendements des extraits

la préparation des extraits à partir les différents parties de *Salvia officinalis* a effectuée par des solvants à polarité croissante il s'agit de Méthanol, acétate d'éthyle, *n*-butanol.

Cette extraction a permis d'obtenir des extraits de chaque partie : l'extrait brut (EBr.F et EBr.T), l'extrait d'acétate d'éthyle (EAcOEt.F et EAcOEt.T), l'extrait de butanol (En-BuOH.F et En-BuOH.T).

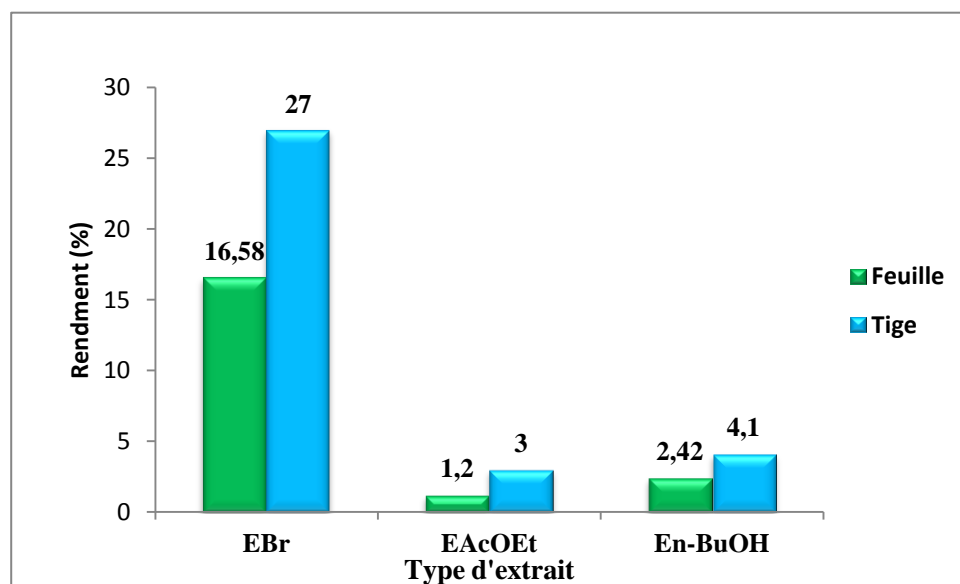


Figure30 : Rendement des différents extraits de l'espèce *Salvia officinalis*.

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits sont variables dans les différentes parties de la plante *Salvia officinalis* le

rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut de tige (27%), suivi par l'extrait méthanolique brut de feuille (16.58%). La fraction acétate d'éthyle de la tige présent en rendement important (3%) par rapport la fraction de la feuille (1.2%), et l'extrait butanolique du feuille faible (2.42%) par comparaison avec la tige (4.1%).

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits des deux parties tige et feuille de la plante *Salvia officinalis* sont plus ou moins variables et sont plus importants dans la partie tige par rapport aux feuille. Le plus grand rendement déterminé est raisonnablement celui de l'extrait brut. Ces rendements de l'extraction varient en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant.

D'une étude entreprise par **Kanyonga et al., (2011)** un rendement de 39,2% de l'extrait brut méthanolique a été obtenu à partir de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis*, C'est un pourcentage nettement supérieur à celui obtenu dans notre cas (19% et 21% pour l'extrait eau/MeOH et eau/acétone, respectivement).

D'une manière générale, les rendements en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols : la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant (**Ben amor, 2008 ; Penchev, 2010 ; Michel, 2011**).

I.2. Rendements des extraits alcaloïdes de la plante *Salvia officinalis*

Dans ce travail, l'existence des alcaloïdes totaux dans les deux parties les fleurs et tiges de la plante *Salvia officinalis*, par la méthode liquide - liquide, en utilisant le Solvants (CHCl_3), nous a permis d'obtenir un extrait d'une couleur jaune brunâtre avec un rendement d'extraction suivants.

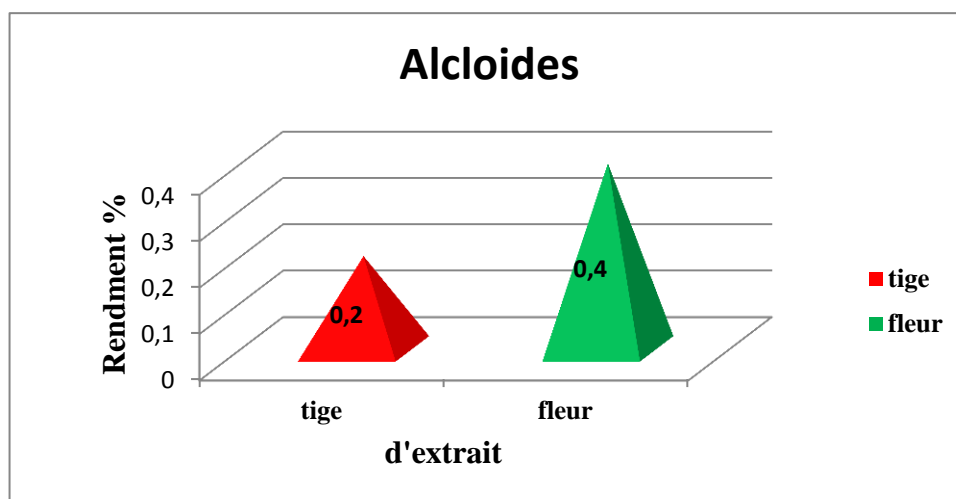


Figure31 : Rendement des alcaloïdes de la plante *Salvia officinalis*.

Pour les deux parties tige et fleur de la plante *Salvia officinalis*, le plus grand rendement des alcaloïdes extraite par la fleur (0.40%) et le résultat faible obtenus par extrait de tige (0.20%).

La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin. Par ailleurs, la collecte, le séchage, le stockage-tributaires à l'extraction-influencent largement sur le rendement ainsi que la qualité des extraits **Benjilali (2005)**.

I.3.Rendement en huiles essentielles de *Salvia officinalis*

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles de la plante *Salvia officinalis* par hydrodistillation sur un appareil de Clevenger. L'échantillon d'huile essentielle est récupéré, puis conservé au réfrigérateur.

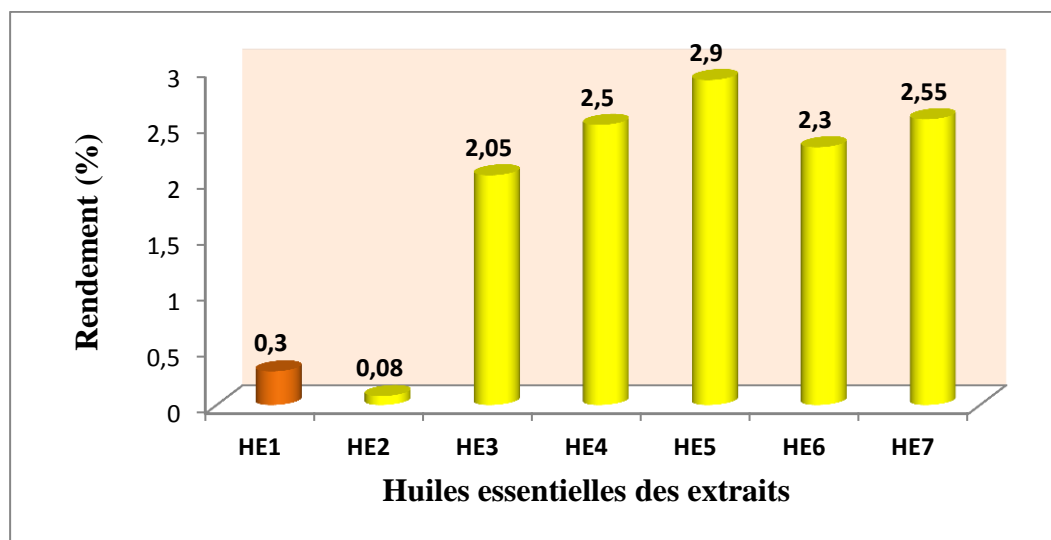


Figure 32: Rendement en huiles essentielles de l'espèce *Salvia officinalis*.

- ❖ **HE₁**: Huile essentielle extraite dans notre étude ;
- ❖ **HE₂**: Huile essentielle extraite dans Algérie ;
- ❖ **HE₃**: Huile essentielle dans la France (2.05%) ;
- ❖ **HE₄**: Huile essentielle dans Hongrie (2.50%) ;
- ❖ **HE₅**: Huile essentielle dans Portugal (2.90%) ;
- ❖ **HE₆**: Huile essentielle dans Roumanie (2.30%) ;
- ❖ **HE₇**: Huile essentielle dans Tunisie Djebel ouest (2.55%).

Nous avons observé le rendement d'extraction des huiles essentielles est faible, il est égal à **0.30%**. ce résultat est différent que les résultat trouvé par **Chalchat et al., (1998)**, France (2.05%), Hongrie (2.50%), Portugal (2.90%), Roumanie (2.30%), **Fellah et al., (2006)**, Tunisie : Djebel ouest (2.55%) et Algérie (0,08%) **Djeddi et al., (2012)**.

Ces résultats variant considérablement entre les différents essais. Ces variations sont le résultat de différents facteurs notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique...). Plusieurs chercheurs ont montré que le rendement d'extraction des huiles essentielles varie en fonction de l'origine de la plante. Les fluctuations et les variations dans les rendements, constatées dans nos résultats et ceux des autres espèces *Salvia officinalis*, peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. La diversité interspécifique ; la nature des organes sur lesquelles les huiles ont été extraites, la localité où sont récoltés les échantillons, sont autant de paramètres qui peuvent avoir une influence sur le rendement en huile **Rodolfo et al., (2006)**.

II. Etude phytochimique des extraits

II.1. Analyses quantitatives des extraits

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à l'autre. L'analyse semi-quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits phénoliques a été réalisée par la procédure décrite précédemment,

II.1.1. Teneur en polyphénols

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées parce qu'elles sont réputées pour leurs excellentes propriétés antioxydants et antimicrobiennes. Pour ces raisons, un dosage de ces composés a été effectué pour les deux parties de la plante *Salvia officinalis* et ce, par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les teneurs obtenues sont exprimées en mg,

équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche ($\mu\text{g EAG/mgE}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

$$y=0,0101x$$

$$R^2 = 0,9988$$

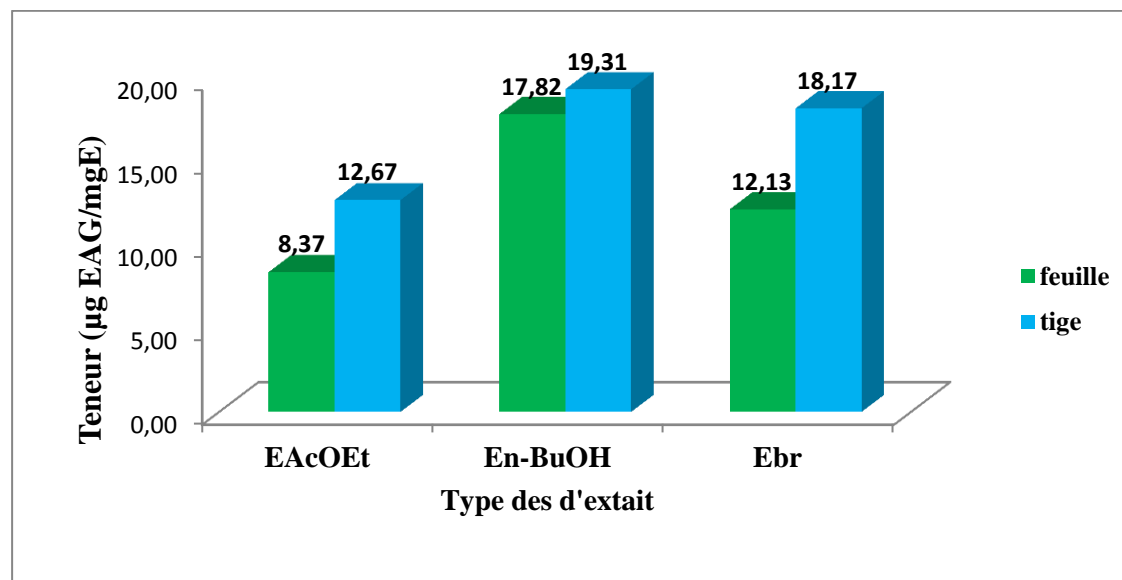


Figure 33 : Contenu des polyphénols totaux des extraits de l'espèce *Salvia officinalis*.

On remarque d'après les résultats de l'histogramme ci-dessus, tous les extraits de la plante *S. officinalis* présentent une forte teneur de polyphénols. Les extraits de la tige possèdent une teneur élevée sont notés dans les l'extraits de butanolique, acétate d'éthyle et méthanolique avec 19.31 ± 0.34 , 12.67 ± 0.27 et 18.17 ± 0.42 ($\mu\text{g EAG/mg E}$) respectivement, par rapport l'extraits de la feuille l'extrait butanolique, acétique et brut 17.82 ± 0.36 , 8.37 ± 0.21 et 12.13 ± 0.23 ($\mu\text{g EAG/mg E}$) respectivement.

Selon les résultats **Hammoudi (2015)**, illustrés ci- *Salvia sclarea* dessus, on constate que l'extrait d'hexane de la plante *Salvia chudaei* est le plus riche en phénols totaux (33.34 ± 1.67 mg EAG/g d'extrait) et même en flavonoides par rapport aux autres extraits.

Tulukcu et al., (2012), ont observés les niveaux de phénols totaux de *Salvia sclarea*. récoltée en cinq années consécutives (de 2006 à 2010) ont été déterminés dans la plage de 7.71 à 13.21 mg GAE / g d'extrait sec.

A l'issu de ces résultats **Hammoudi (2015)**, L'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* a montré une concentration plus ou moins importante en TPC (42.73 ± 1.91 mg EAG/g d'extrait), suivis par l'extrait à acétone (34.84 ± 2.20 mg EAG/g d'extrait) et enfin l'extrait méthanolique

(6.02 ± 0.86 mg EAG/g d'extrait). nous avons constaté que l'éthanol serait le solvant le plus indiqué pour l'extraction des composés phénoliques.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc ; le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante. La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux. Il a été prouvé que leurs teneurs et celles des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (Apak et al., 2007).

II.1.2. Teneur des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par la méthode chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par (Kim et al., 2003). la Quercétine prise comme control positif. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430nm. A permis de réaliser une courbe d'étalonnage ; résultat qui a permis de calculer la teneur en flavonoïdes pour les différents extraits qui est exprimée ($\mu\text{g EQ/mgE}$)

$$y=0,0377x$$

$$R^2 = 0,9997$$

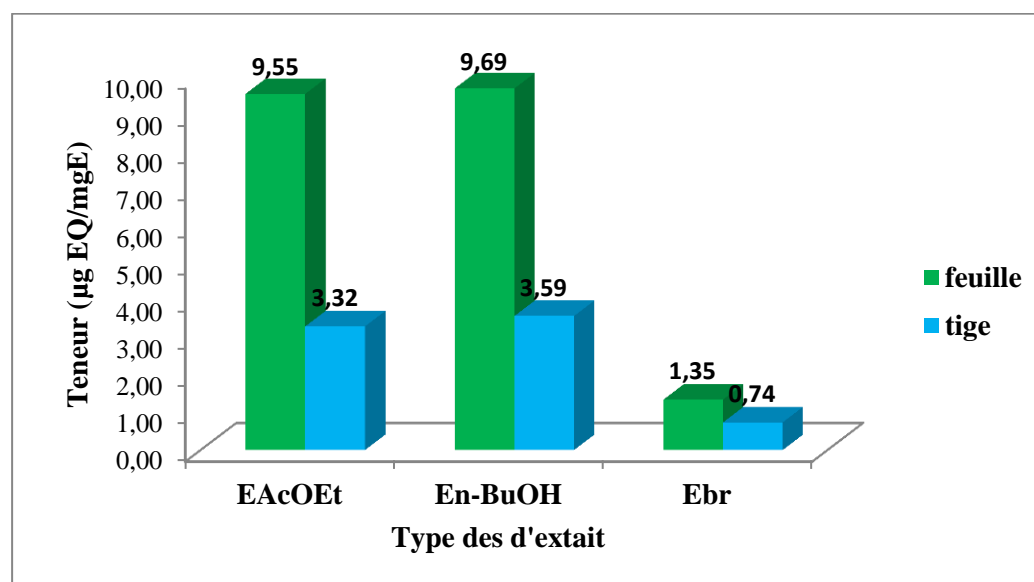


Figure34 : contenu des flavonoïdes des extraits de l'espèce *Salvia officinalis*.

Les teneurs ces composés varient entre 0.74 ± 0.010 et $9.69 \pm 0.27 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$. Des taux élevés sont notés dans les extraits butanolique et d'acétate d'éthyle et de la feuille ave 9.69 ± 0.27 et $9.55 \pm 0.23 (\mu\text{g EQ/mg d'E})$ respectivement, suivent de ceux mentionnés chez

extraits de tige 3.59 ± 0.026 et 3.32 ± 0.022 $\mu\text{g EQ/mg d'E}$, respectivement et en dernier de l'extrait méthanolique brut de la feuille et tige sont les plus faibles 1.35 ± 0.017 et 0.74 ± 0.010 $\mu\text{g EQ/mg d'E}$, respectivement.

Il faut noter que les teneurs en flavonoïdes des extraits pour la feuille sont plus importantes que ceux les teneurs chez la tige.

Selon **Hammoudi (2015)**, montre le rendement des flavonoïdes le plus élevé chez *Salvia chudaei* est celui à l'éthanol ($14.80 \pm 0.00\%$) puis le méthanol ($7.93 \pm 0.01\%$) et enfin le moins important est celui de l'extrait à l'acétone ($4.44 \pm 0.00\%$) en (mg EQ/g E).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que la nature des solvants et les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga, 2001**).

II.2. Analyse quantitatives des extraits

II.2.1. Chromatographique sur couche mince CCM

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits (EAcOEt, EnBuOH, EBrt) à partir de feuille et tige de la plante *S.officinalis*, à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

- **Révélation (visualisation des tâches)**

Dans notre étude, nous avons réalisé la séparation des extraits, en utilisant quatre systèmes solvants moyennement polaires. Sous lumière UV les différentes taches des produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs R_f observés sous UV suite à une analyse par chromatographie sur couche mince. Les résultats représentés dans les figures, et le tableau.

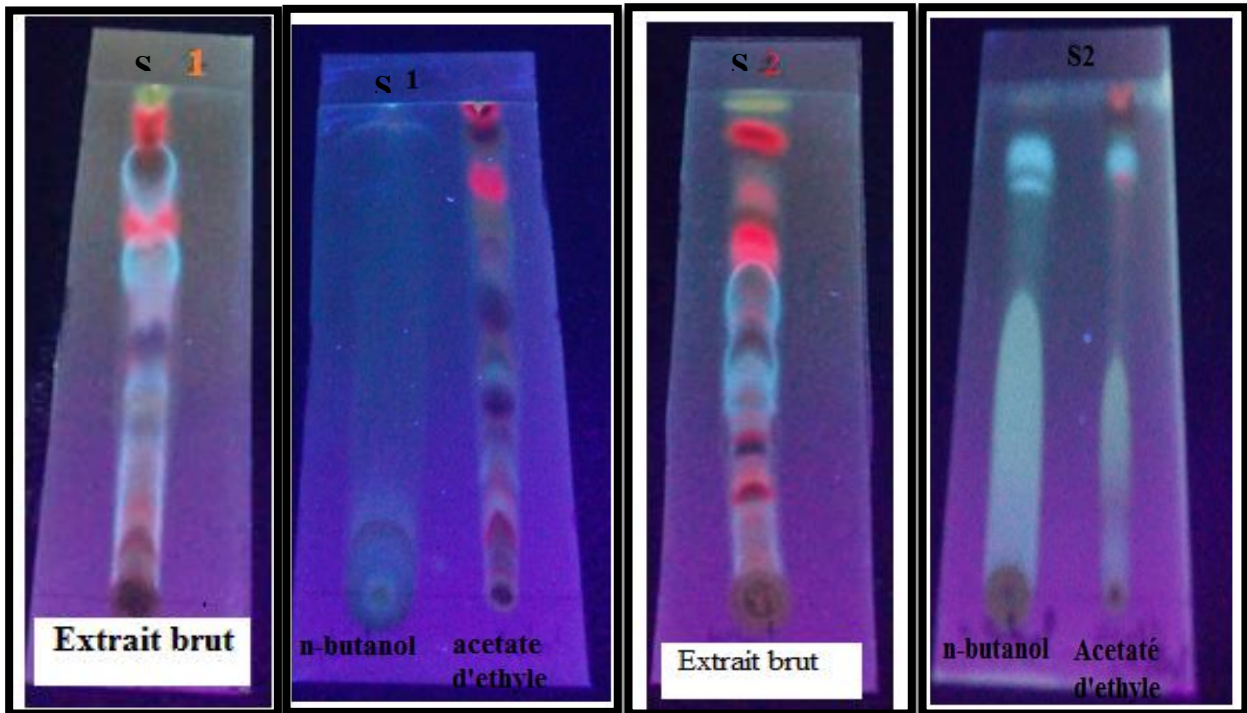


Figure 35 : révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de feuille de *Salvia officinalis* sous lampeUV365 nm de S1, S2.

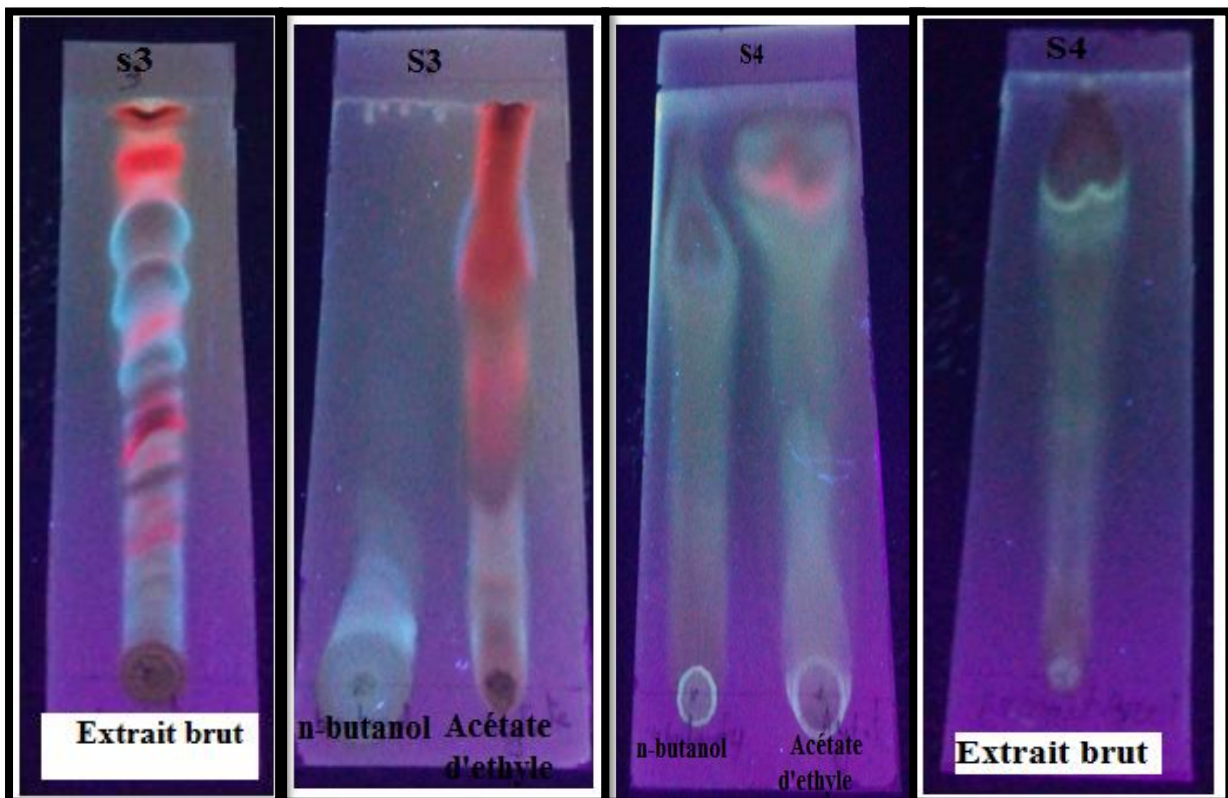


Figure 36 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de feuille de *Salvia officinalis* , sous lampeUV365 nm de S3, S4.

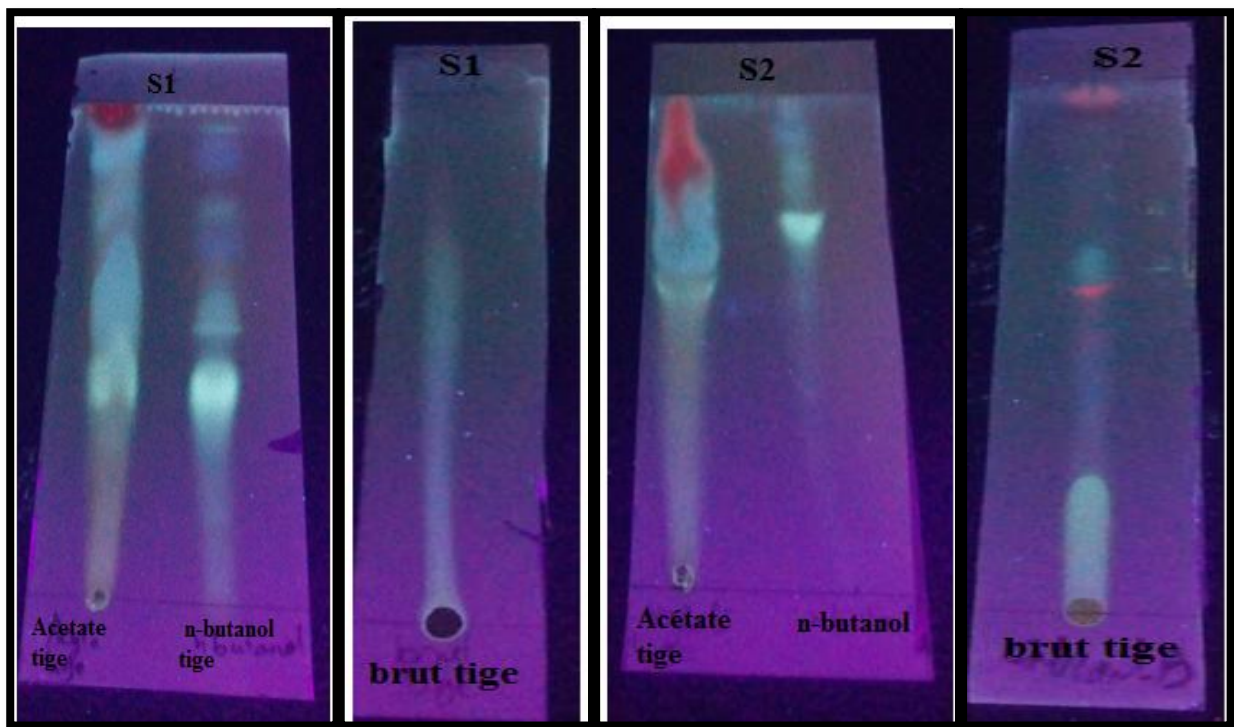


Figure 37 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de tige de *Salvia officinalis* sous lampeUV365 nm de S3, S4 .

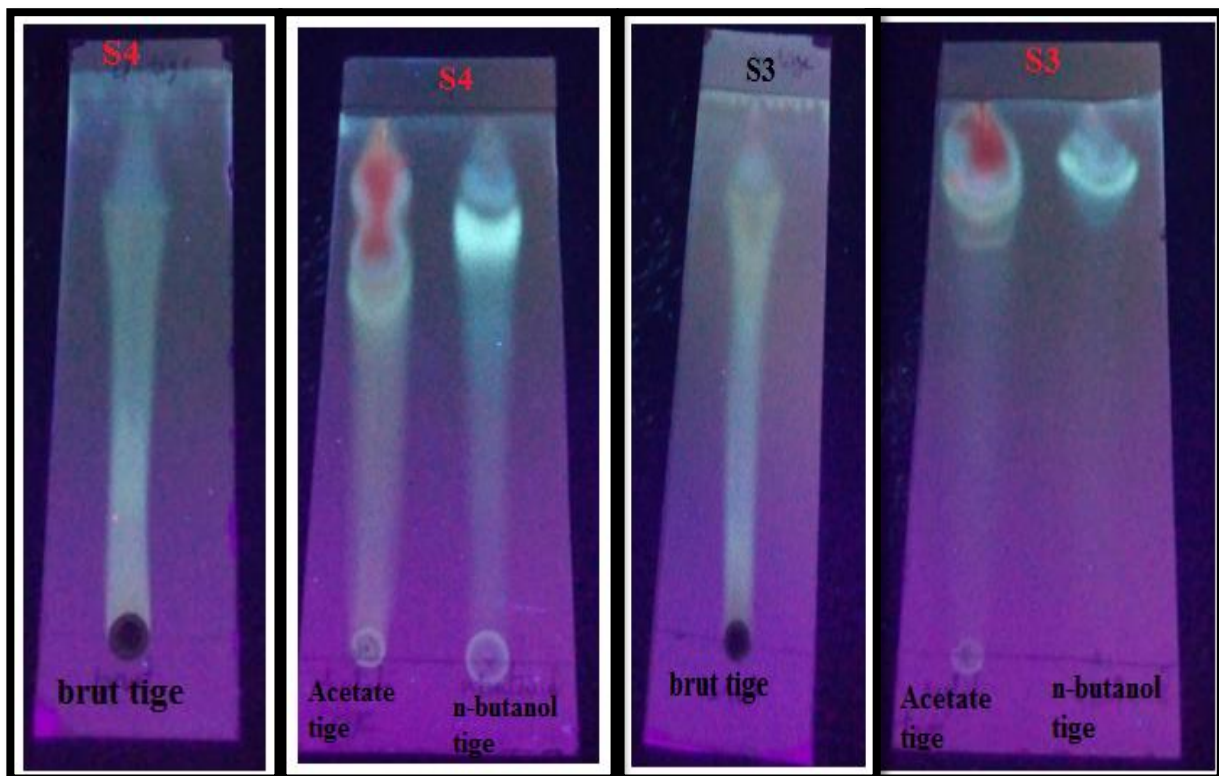


Figure 38: Révélation de plaque CCM de gel de silice de E Brt, E AcOEt et EnBuOH de tige de *Salvia officinalis* sous lampeUV365 nm de S3,S4.

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant 4 systèmes solvants moyennement polaires. Sous lumière UV à 365 nm Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs Rf observés sous UV suite à une analyse par chromatographie sur couche mince, dans le résultat obtenue de la différente partie de la plante (tige et feuille) de *salvia officinalis* on observe plusieurs taches avec différent coloration dans les 4 systèmes solvant.

Les taches jaune, violet, bleue, rouge et verte observées sur les chromatogrammes sous UV/365 nm peuvent correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires. Ces différences de composition phytochimique ne sont que le reflet de l'influence des facteurs biotiques et abiotiques sur la synthèse des métabolites secondaires par les plantes. En effet, il existe plusieurs facteurs externes pouvant influencer la composition chimique des métabolites secondaires : le sol, la température, et la lumière (**Bourgaud, 2012**).

Tableau 05: Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait brut de plante *Salvia officinalis*.

N°des Systèmes de solvants	Extrait brut					
	Partie feuille			Partie tige		
	N° des Spots	Couleur des spots	RF (cm)	N° des Spots	Couleur des spots	RF (cm)
01	1	Marron	0.037	1	Jaune Fluorescent	0.13
	2	Rose	0.0875	2	Muove	0.37
	3	Belau Clair	0.15	3	Orange	0.55
	4	Belau Fluorescent	0.28	4	Vert Clair	0.58
	5	Belau Vert	0.35	5	Belau	0.75
	6	Belau Pale	0.45	6	Marron	0.91
	7	Rose	0.62	7	Orange	0.95
	8	Vert	0.67	8	Jaune	0.97
02	1	Jaune	0.037	1	Jaune	0.085
	2	Rose	0.15	2	Marron	0.12
	3	Belau	0.83	3	Belau Fluorescent	0.157
	4	Rose	0.42	4	Muove	0.442
	5	Belau blanc	0.48	5	Jaune	0.785
	6	Belau Fluorescent	0.58	6	Vert	0.857
	7	Vert	0.67	7	Jaune	0.914
	8	Rose	0.81			
	9	Vert clair	0.86			
	10	Belau	0.88			
	11	Jaune	0.93			
03	1	Jaune	0.037	1	Marron	0.085
	2	Belau Fluorescent	0.075	2	Jaune	0.31
	3	Belau	0.18	3	Muove	0.6
	4	Vert	0.225	4	Vert	0.75
	5	Rose	0.25	5	Belau	0.9
	6	Muove	0.325	6	Rose	0.97
	7	Belau	0.36			
	8	Violet	0.41			
	9	Vert	0.51			
	10	Rose	0.58			
	11	Belau	0.62			
	12	Vert	0.66			
	13	Rose	0.71			
	14	Muove	0.65			
04	1	Jaune	0.6	1	Marron	0.16
	2	Marron	0.86	2	Muove	0.41
	3	Belau claire	0.97	3	Jaune	0.62
				4	Bleu	0.71
				5	Vert	0.75
				6	Bleu Fluorescent	0.78
				7	Marron	0.97

Tableau 06 : Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait d'acétate d'éthyle de *Salvia officinalis*.

N°des Systèmes de solvants	Extrait d'acétate d'éthyle					
	Partie feuille			Partie tige		
	N° des Spots	Couleur des spots	RF	N° des Spots	Couleur des spots	RF (cm)
01	1	Rose	0.037	1	Jaune	0.08
	2	Vert	0.062	2	Marron	0.16
	3	Rouge	0.1	3	Jaune fonce	0.38
	4	Rose	0.17	4	Muove	0.53
	5	Violet	0.262	5	Orange	0.75
	6	Muove	0.312	6	Belau clair	0.78
	7	Vert	0.4	7	Vert	0.82
	8	Bleu	0.45	8	Marron	0.87
	9	Bleu claire	0.51	9	Orange	0.9
	10	Belau blanc	0.63			
	11	Rouge	0.7			
	12	Vert	0.77			
	13	Rouge	0.91			
02	1	Rose	0.06	1	Jaune	0.35
	2	Jaune	0.11	2	Marron	0.43
	3	Belau vert	0.18	3	Belau fl	0.52
	4	Rose	0.23	4	Vert	0.65
	5	Belau	0.27	5	Muove	0.83
	6	Jaune	0.43	6	Orange	0.96
	7	Mouve	0.62			
	8	Vert	0.68			
	9	Rose	0.87			
03	1	Marron	0.06	1	Muove	0.68
	2	Vert	0.13	2	Jaune	0.72
	3	Blanc	0.2	3	Belau	0.75
	4	Rose	0.22	4	Muove	0.78
	5	Belau vert	0.26	5	Marron	0.9
	6	Rose	0.31	6	Orange	0.97
	7	Vert	0.36			
	8	Rose	0.4			
	9	Vert	0.55			
	10	Belau flou	0.65			
	11	Blanc	0.76			
	12	Belau	0.83			
	13	Jaune	0.91			
04	1	Belau	0.21	1	Muove	0.78
	2	Jaune	0.37	2	Orange	0.83
	3	Marron	0.68	3	Jaune	0.86
	4	Rouge	0.77	4	Vert	0.94
	5	Marron	0.83			
	6	Vert	0.96			

Tableau 07: Résultats de chromatographie sur couche mince l'extrait *n*-butanol de plante *Salvia officinalis*.

N° des Systèmes de solvants	Extrait <i>n</i> -butanol					
	Partie feuille			Partie tige		
	N° des Spots	Couleur des spots	RF (cm)	N° des Spots	Couleur des spots	RF (cm)
01	1	Jaune	0.05	1	Jaune	0.5
	2	Belau claire	0.1	2	Muove	0.61
	3	Vert	0.925	3	Belau fluorescent	0.71
	4	Jaune	0.97	4	Vert	0.77
				5	Belau clair	0.81
				6	Marron	0.9
				7	Jaune	0.96
02	1	Jaune	0.03	1	Muove	0.62
	2	Belau claire	0.1	2	Belau	0.67
	3	Vert	0.13	3	Vert	0.76
	4	Belau fluorescent	0.41	4	Jaune	0.81
				5	Orange	0.95
03	1	Vert	0.03	1	Muove	0.75
	2	Belau	0.08	2	Jaune	0.83
	3	Jaune	0.18	3	Belau	0.88
	4	Belau clair	0.97	4	Muove	0.91
				5	Marron	0.93
				6	Orange	0.97
04	1	Marron	0.27	1	Muove	0.52
	2	Jaune	0.56	2	Jaune	0.6
	3	Vert	0.78	3	Gris	0.73
	4	Belau fluorescent	0.95	4	Belau fluorescent	0.78
				5	Muove	0.83
				6	Vert	0.87

A partir de ces résultats présents dans le tableau nous avons remarqué :

Cas l'extrait brut : on observe dans la partie feuille donne meure séparation des composé phénolique dans les 4 système solvant, et même séparation pour la tige avec petite différent, que le nombre des spots de feuille dans le système 3(chloroforme/Acétate d'éthyle (7 : 3) est supérieur que celle dans le système solvant 2 (9 :1) et suite le système 1, après le système 4.et même observation dans la partie tige on cite respectivement :

- 8 spots dans les feuilles avec les couleurs : Marron, Rose, Belau Clair, Belau Fluorescent, Belau Vert, Belau Pale, Vert,(système1),et 8spots dans tiges avec les couleurs ;Jaune Fluorescent,mouve ,orange ,vert clair, marron ,orange ,jaune ;
- 11 spots dans les feuilles avec les couleurs ;jaune, rose ,bleau,rose,bleau blanc ,bleu fluorescent ,vert, rose, vert clair,bleau ,jaune .et observe dans tige 7spots alors que différent les feuilles dans (système2),et différent colure ;
- 14 spots dans les feuilles (système 3) avec les couleurs : jaune, Belau Fluorescent, Belau, Vert, rose, mouve, Belau,violet ,vert ,rose ,bleau ,vert ,rose ,mouve ;et dans le tige remarque 6spots c'est-à-dire différent les spots de feuille ;
- 3 spots dans les feuilles (système 4) avec les couleurs : jaune, marron, bleau claire, et 6 spots dans tige donc l'extrait brut tige dans ce système bien par rapport feuille.

La CCM a permis l'identification des flavonoides dans notre plante, qui apparaissent colorés en jaune et brun ou incolores, en plus de la présence des acides phénoliques apparaissent avec une fluorescence bleutée.

Cas l'extrait acétate d'éthyle : remarque le système le plus bien pour les feuille est système 1, et 3 parce que observe plusieurs taches différent couleur et distance de RF et meme observation dans le tige on compare feuille et tige, les spots de feuille grande les spots de tige .aussi bien que le système 2 après système 4 et même remarque dans la tige.

Cas l'extrait *n*-butanol : ces résultat obtenue dans le table on observe la meure séparation de l'extrait *n*-butanol feuille dans 4 système avec 4 couleur différent d'un système à l'autre et observe plusieurs spots dans la tige par rapport feuille donc la meure système pour séparation est système 1 avec RF différent.

Selon Markham ,1982 la couleur violet indique la présence de chalcones, isoflavones ,dihydroflavonol, Les stérols sont révélés par la coloration jaune et jaune-vert et les terpènes sont mis en évidence en rouge et orange par le réactif de liebermann-burchard (**Kabran et al., 2011 ; Benamar et al., 2010**).

La couleur orange avec $R_f = 0.93$ indique la présence Anthocyanidine-3-glycoside (**Brou et al., 2010**).

Une autre étude phytochimique réalisée par **Djahra (2014)**, montre que les feuilles de Cette espèce renferment des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des terpènes et stérols, des Saponosides et des anthocyanes.

Par ailleurs, les tests phytochimiques effectués dans notre étude sur la partie aérienne de *S. calamintha* ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres, des Terpénoïdes, des saponosides et des sucres réducteurs.

Les travaux de **Bougandoura (2011)**, qui montrent une forte présence des tanins, et à un degré moindre les flavonoïdes, les coumarines, les sponosides, les stérols et stéroïdes au niveau des feuilles de *S. calamintha*.

Les travaux de **Belmekki (2009)**, sur la partie aérienne de *S. verbenaca* appartenant au Même genre que *S. officinalis*, ont révélé la présence des tanins et des flavonoïdes.

Ces résultats sont comparables à ceux présentés par **Lana et Alaadin (2012)**, où ils ont Révélé que les extraits hydroalcoolique et chloroformique des feuilles de *S. officinalis* continent des flavonoïdes, des saponosides et des tanins.

Enfin, l'analyse phytochimique effectuée sur *S. officinalis*, a révélé une forte présence

Des saponosides et des quinones libres, ainsi, elle renferme des tanins, des terpénoïdes et des

Sucres réducteurs. Tandis que, les flavonoïdes sont révélés négatifs dans cette étude.

❖ Analyse chromatografie sur couche mince des alcaloides

Nous avons étudié la chromatographie sur couche mince des alcaloïdes de tige, et fleur de la plante *Salvia officinalis*, par différent système de séparation ces résultat présent dans les figures et le tableau suivant :



Figure 39 : Révélation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de tige de la plante *Salvia officinalis* sous lampeUV365 nm de S1, S2, S3, S4.



Figure 40: Révélation de plaque CCM de gel de silice de alcaloïde de fleur de la plante *Salvia officinalis* sous lampeUV365 nm de S1, S2, S3, S4.

Tableau 08 : Résultats de chromatographie sur couche mince des alcaloïdes de la plante *S.officinalis*.

Partie	Systeme01	Système 02	Système 03	Système 04
Tige	1. tache orange RF=0.15 2. tache orange RF=0.31 3tache orange RF=0.68	1. tache orange RF=0.93	1. tache orange RF=0.96	1. tache orange RF=0.97
Fleur	1. tache orange RF=0.95	/	/	1. tache orange RF=0.9

A partir ces résultat montre que la meilleure séparation présente dans l'extrait de tige pour le système 1 par rapport d'autre systèmes et on remarque extrait de la fleur une faible séparation et dans le système 2 et 3 ne pas trouver une tache.

III. Résultats des tests biologiques

III.1. Activité antioxydant

- ✓ **Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Salvia officinalis* par la méthode DPPH :**

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de la plante *Salvia officinalis* a été testée par la méthode du radical libre DPPH. Pour chaque extrait et pour chaque concentration,

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

Extrait méthanolique brut :

Feuille : $y=0.6355x+35.3607$

Tige : $y=0.65x+35.4064$

Extrait d'acétate d'éthyle :

Feuille : $y=0.6848x+24.0755$

Tige : $y=0.6826x+25.505$

Extrait *n*-butanolique :

Feuille : $y=0.4051x+14.4237$

Tige : $y=0.6416x +34.2241$

Huile Essentielle : $y=0.3029x +49.1015$

BHT : $y=0.9665x-0.9869$

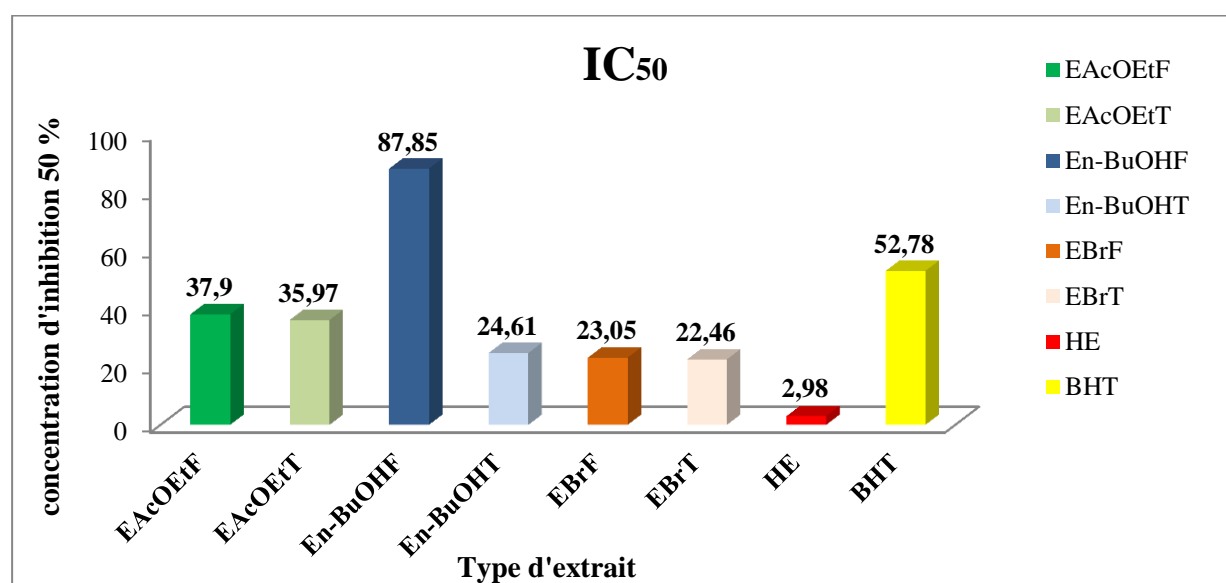


Figure 41 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de *Salvia officinalis*.

L'activité antioxydant a été évaluée par le spectrophotomètre suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517nm, cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires (Hamidi, 2011).

Calcul des IC₅₀

Il faut savoir aussi que l'IC₅₀ est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre (Cuvelier et al., 1992) ; il est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé car une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte efficacité antioxydant de l'extrait (Babovic et al., 2010).

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH sont représentés dans Figure (*) illustrent respectivement l'efficacité des extraits de feuille, tige, huile essentielle et BHT à piéger le radical DPPH,

L'analyse des résultats de IC_{50} de nos extraits, montre que l'extrait d'acétate d'éthyle des tiges et des feuilles de *Salvia officinalis* obtenus un IC_{50} (35.97 $\mu\text{g/ml}$) et (37.9 $\mu\text{g/ml}$), respectivement et l'extrait *n*-butanol des tiges la meilleure activité (24.61 $\mu\text{g/ml}$) que l'extrait des feuilles présente une activité la plus faible (87.85 $\mu\text{g/ml}$), et le résultat d'extrait brut des tiges (22.46 $\mu\text{g/ml}$) et proche avec l'extrait des feuilles (23.05 $\mu\text{g/ml}$). Tandis que l'huile essentielle présente une meilleure activité (2.98 $\mu\text{g/ml}$) et la valeur d' IC_{50} de BHT (52.78 $\mu\text{g/ml}$).

L'étude de **Amel (2016)**, montre ce constat s'est confirmé par les valeurs d' IC_{50} car on a enregistré (130.6 $\mu\text{g/ml}$) pour l'extrait des feuilles de *Salvia officinalis* suivi par celle des tiges avec une IC_{50} de l'ordre de (278.4 $\mu\text{g/ml}$).

L'étude réalisée par **Hamrouni-Sellami et al., (2013)**, sur l'influence des différentes méthodes de séchage de *S. officinalis* sur les composés phénoliques totaux, flavonoïdes, et l'activité antioxydante de la plante a révélé que les plantes séchées par micro-ondes ont enregistré une IC_{50} de l'ordre (13.49 $\mu\text{g/ml}$) par contre la méthode de séchage classique (à 65°C) a donné une IC_{50} de l'ordre de (58.48 $\mu\text{g/ml}$).

De leur côté **Martin et al., (2015)**, ont montré que tous les extraits de *S. officinalis* d'Espagne possédaient une bonne efficacité à piéger le radical DPPH mais à différents degrés (avec des IC_{50} de 32,97 \pm 2,30 $\mu\text{g/ml}$ d'extrait hydro-méthanolique suivi par 75,53 \pm 4,08 $\mu\text{g/ml}$ pour la décoction et en dernier lieu l'infusion avec une IC_{50} de 95,96 \pm 3,44 $\mu\text{g/ml}$ pour l'infusion); ces auteurs attribuent cette différence d'efficacité au pouvoir de solubilité élevé du méthanol comparé à l'eau. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux enregistrés dans notre étude.

Comparé à nos extraits, **Bozin et al., (2007)**, ont constaté que l'huile essentielle de *S. officinalis* collectée en Serbie a exercé une forte efficacité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH, qui s'est traduite par une IC_{50} de l'ordre de 1,78 $\mu\text{L/mL}$.

III.2. Activité antibactérienne

III.2.1. Activité antibactérienne des polyphénols

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des extraits de tige et feuille de la plante *Salvia officinalis* vis-à-vis de quelques souches bactériennes par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide MH.

Résultats et discussions

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard sont les plus utilisés en bactériologie médicale, appelée encore méthode des disques. Cette technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des antibiotiques à tester, déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencés avec une culture pure de la souche à étudier (**Delignette-muller, 1992**). L'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales testées in vitro vis-à-vis Des micro-organismes a été qualitativement et quantitativement évaluée par la présence ou L'absence des zone d'inhibition (**Bouajaj et al., 2013 ; Hayouni et al., 2008**).

Tableau 09 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *S.aureus*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tige	EAcOEt	10.66	13.33	12.33	10.33	+
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	14.33	11.33	10.33		++
		E Brt	10	10.33	9.33	10	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-

Les résultats dans le tableau et les figures montre que : Les différents extraits de la tige et feuille de plante *Salvia officinalis* présente différent sensibilité contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Dont la partie tige l'extrait d'acétate d'éthyle est sensible par rapport l'extrait n-butanol, et l'extrait brut est non sensible alors que l'extrait n-butanol et l'extrait brut présentent une faible activité (6 mm).

Tableau 10 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *S.thyphimurium*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Salmonella thyphimurium</i>	Tige	EAcOEt	6	8	6	6	+
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6.33	6.33	6	-
	Feuille	EAcOEt	8	6.66	6	6	+
		E Brt	8	7.33	7	7	+
		EnBuOH	6.33	6	6.33	8	+

Résultats et discussions

Dans le cas de la bactérie *Salmonella thyphimurium* on observe différents résultats entre les différents extraits et parties de la plante *S.officinalis* alors que l'extrait à l'acétate d'éthyle est sensible de cette bactérie, et même action sur l'extrait à l'acétate d'éthyle de la feuille. L'extrait n-butanol de la feuille sensible contre la souche bactérienne *S.thyphimurium* avec l'extrait n-butanol de la tige est présente une faible activité c'est-à-dire non sensible contre *S. thyphimurium*

Tableau 11 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *P. aeruginosa*.

Souche bactérienne	Extrait	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tige	EAcOEt	7	6	6	6	-
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	9	6	6	6	+
		E Brt	8	6	9	9	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-

Les résultats présentés dans le tableau montrent que l'activité antibactérienne est marquée dans l'extrait brut de la feuille et l'acétate d'éthyle de la feuille de la plante *Salvia officinalis* vis-à-vis de la souche, avec un diamètre de zone d'inhibition varié de 8 à 9 mm. Et les autres extraits non sensibles de cette souche (EnBuOH(feuille), EAcOEt, E Brt, EnBuOH, de la tige).

Tableau 12 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *Proteus mirabilis*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Proteus mirabilis</i>	Tige	EAcOEt	8	8	12	8	+
		E Brt	10	13	9	9	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	24	19.66	19	17	+++
		EnBuOH	9	6	6	6	+

Dans le tableau présente le pouvoir antibactérien de la souche *P. mirabilis* sur les différents extraits on observe plusieurs effets différents. Cette bactérie possède de grands effets. Dans le

cas tige est marquée la fraction brut plus sensible avec le diamètre de zone d'inhibition (9-13mm) aussi l'extrait acétate d'éthyle est sensible contre la bactérie et l'extrait *n*-butanol non sensible, par rapport *n*-butanol de tige est sensible, la fraction acétate d'éthyle de feuille est non sensible alors que différentes fractions de feuille. En suite l'extrait brut de feuille c'est très sensible avec le diamètre (24mm).

Tableau 13 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance d'*E. Coli*

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Escherichia coli</i>	Tige	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	8	6	6	8	+
		EnBuOH	8	6	6	6	+
	Feuille	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6	6	8	+

Ces résultats présentent le pouvoir antibactérien *Escherichia coli* sur les différents extraits de tige et feuilles. On observe l'extrait acétate d'éthyle de tige est non sensible et même action sur l'extrait acétate d'éthyle de feuille, et aussi bien l'extrait brut de tige sensible par rapport l'extrait brut de feuille et l'extrait *n*-butanol de tige et feuille sont sensibles.

Tableau 14: Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance *E. cloacae*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Enterobacter cloacae</i>	Tige	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	17.33	13	10	11	+++
		EnBuOH	6	6	6	8	+

Résultats et discussions

Dans le tableau remarque grande activité dans l'extrait brut de feuille c'est très sensible par rapport les autres comme la fraction de tige sont non sensibles et l'extrait brut de feuille est non sensible, et fraction *n*-butanol de feuille est sensible.

Tableau 15 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Listeria monocytogenes</i>	Tige	EAcOEt	9	6	9	8	+
		E Brt	10	10.66	10.66	6	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	6	6	6	6	-
		E Brt	9	6	9	9	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-

Dans ces résultats présent de tableau on observe différents pouvoirs d'activité antibactérienne, dans la tige la fraction acétate d'éthyle et l'extrait brut sont sensibles contre *Listeria monocytogenes*, différentes acétate d'éthyle de feuille est non sensible et aussi bien l'extrait de *n*-butanol de feuille et *n*-butanol tige sont non sensibles, l'extrait brut de feuille est sensible contre la bactérie avec un diamètre de 9 mm.

Tableau 16 : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Salvia officinalis* sur la croissance de *Klebsiella pneumoniae*.

Souche bactérienne	Extraite	C	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tige	EAcOEt	8	8	6	6	+
		E Brt	6	6	6	6	-
		EnBuOH	6	6	6	6	-
	Feuille	EAcOEt	8	7	6	6	+
		E Brt	9	8	7.33	8	+
		EnBuOH	6	6	6	6	-

A la fine de ce résultat présent de tableau et les figure on résume le pouvoir antibactérien différent d'un extrait à autre.

Le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait étudié diffère d'une bactérie à une autre Et d'un extrait à un autre, cette variation de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis D'une même bactérie est due principalement à la variation de leurs compositions chimiques **(Boudjouref, 2011 ; Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010).**

De plus, **Hayouni et al. (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que L'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, La chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de Substances nécessaires à la croissance des bactéries **(Karou et al, 2005).**

Selon **Balansard (2007)**, la date de récolte de la plante a une grande influence sur sa composition chimique et par conséquent sur son activité biologique.

L'étude réalisée par **Weckesser et al., (2007)** montre que l'extrait d'alcool isopropyl de *S. officinalis* a exercé une activité moins forte vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, une faible activité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*,

Dans l'étude menée par **Gulcin et al., (2004)**, les extraits acétoniques et de chloroforme De *Salvia sclarea L.* de la Turquie (à 30µg/disque) n'ont pas inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et de *steria monocytogenes*. Par contre, l'efficacité a été notable vis-à-vis de *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et mais sans atteindre celle de l'antibiotique (Streptomycine à 20mg/disque).

De son côté, **Osawa et al., (1991)** a constaté que l'extrait éthanolique des feuilles de *S. officinalis* étudié s'est révélé très efficace contre *P. gingivali*.

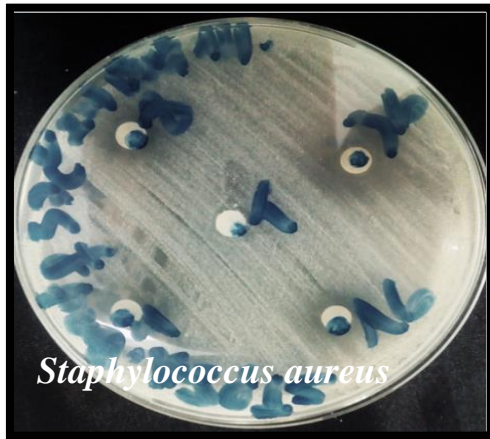


Figure 42 : L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

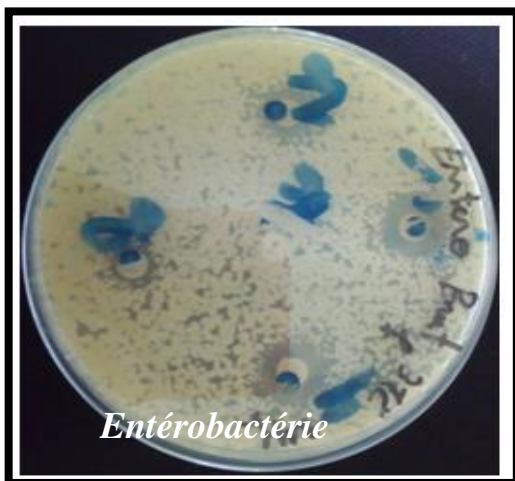


Figure 43: L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.



Figure 44 : L'effet de l'extrait brut de feuille de la plante *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

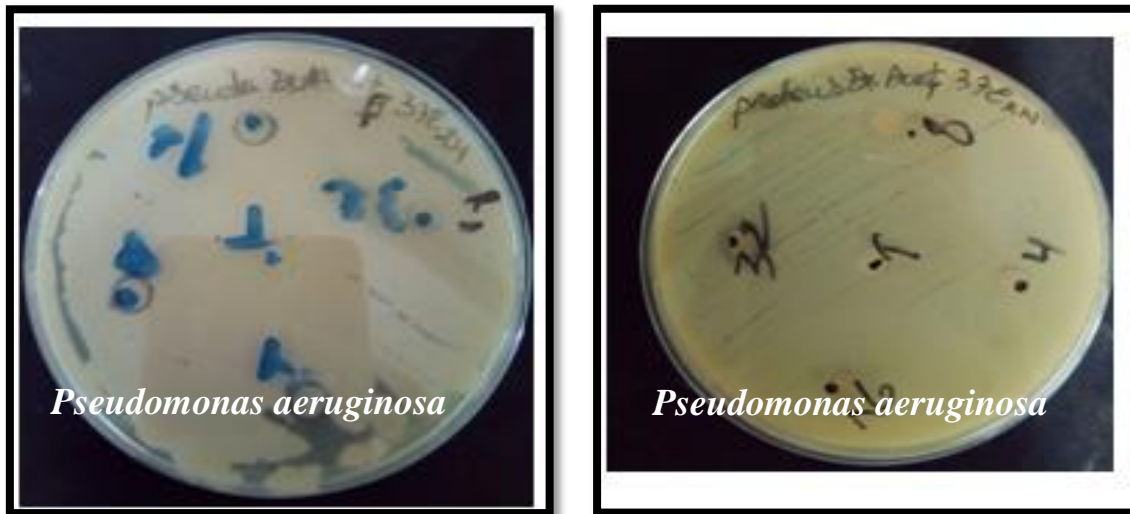


Figure 45 : L'effet de l'extrait acétate de feuille et tige de la plante *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits.

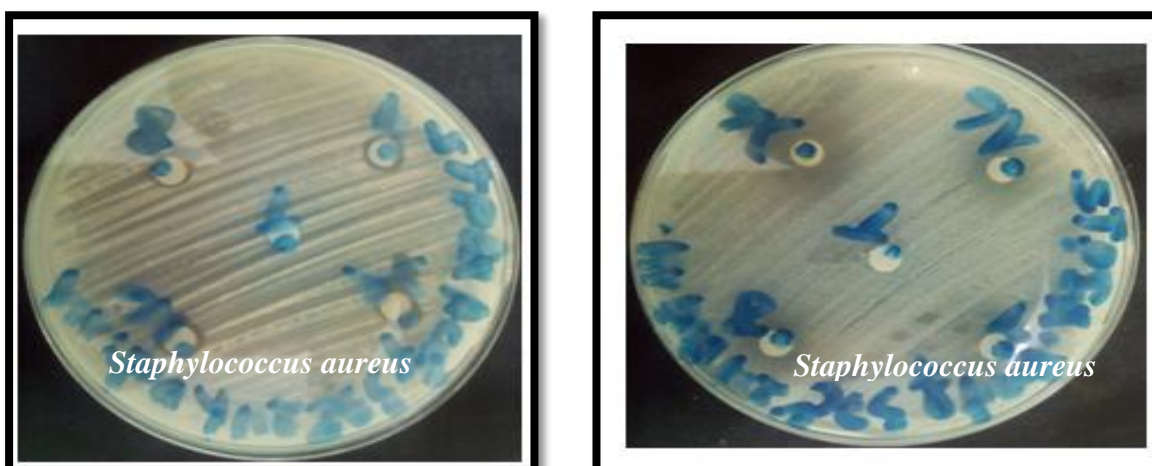


Figure 46 : L'effet de l'extrait acétate de tige et brut de feuille de la plante *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes testes en présence différent concentration d'extraits.

III.2.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de l'aromatogramme, c'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. C'est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les huiles essentielles.

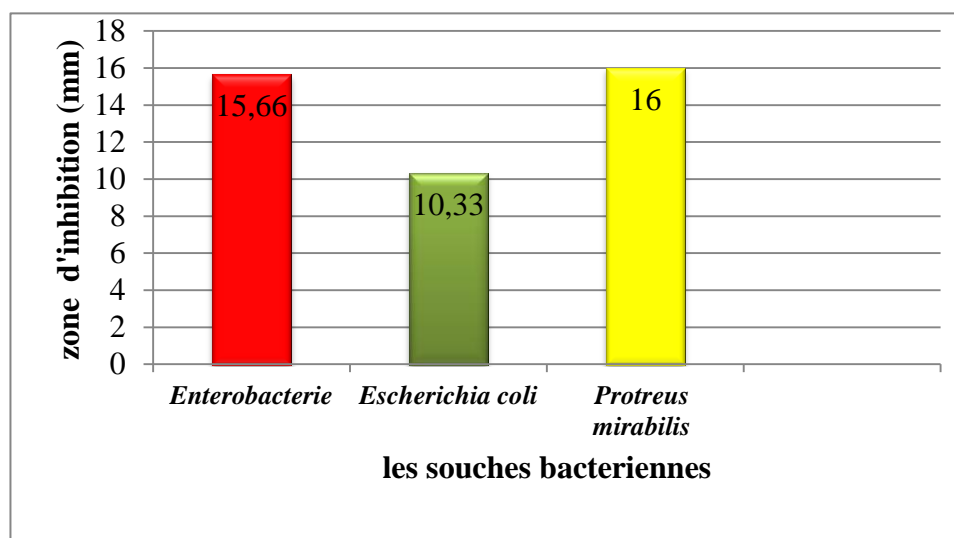


Figure 47: La zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes par huile essentiel de la plante *Salvia officinalis*.

Ces résultats présente dans histogramme on observe grande activité des huile dans la bactérie *Proteus mirabilis* avec diamètre 16 mm alors que très sensible, en suite dans le cas la bactérie *Enterobacterie* présente une activité petite c'est-à-dire sensible, et une faible activité dans la bactérie *Escherichia coli*.

Des tests de l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. sont très efficaces contre toutes les bactéries testées et plus particulièrement à la concentration $\frac{1}{4}$. Les meilleurs résultats sont constatés envers des souches d'*Escherichia coli* que celle de *Proteus* qui ne joue qu'occasionnellement un rôle pathogène (**Salah Benkherara, Ouahiba Bordjiba & Ali Boutlelis Djahra., 2011**).

De même, **Bouajaj et al., (2013)** ont constaté que l'huile essentielle de la sauge a exercé une forte inhibition vis-à-vis d'*Escherichia coli* avec 13mm de diamètre de la zone D'inhibition comparée à *Pseudomonas aeruginosa* qui a manifesté une résistance à cette huile Essentielle. D'un autre point de vue ces auteurs ont constaté que l'huile essentielle extraite par La technique de micro-ondes a été plus efficace que celle de la technique d'hydro-distillation Et ils attribuent cette différence à la différence de composition chimique.

De plus **Bozin et al., (2007)** a montré que les huiles essentielles de la sauge possèdent une forte efficacité antimicrobienne vis-à-vis des différentes souches bactériennes testées.

Enfin, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (**Sari et al., 2006**).

Kalemba et Kunicka (2003) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vu activités biologiques comme suit: phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éther et hydrocarbures.

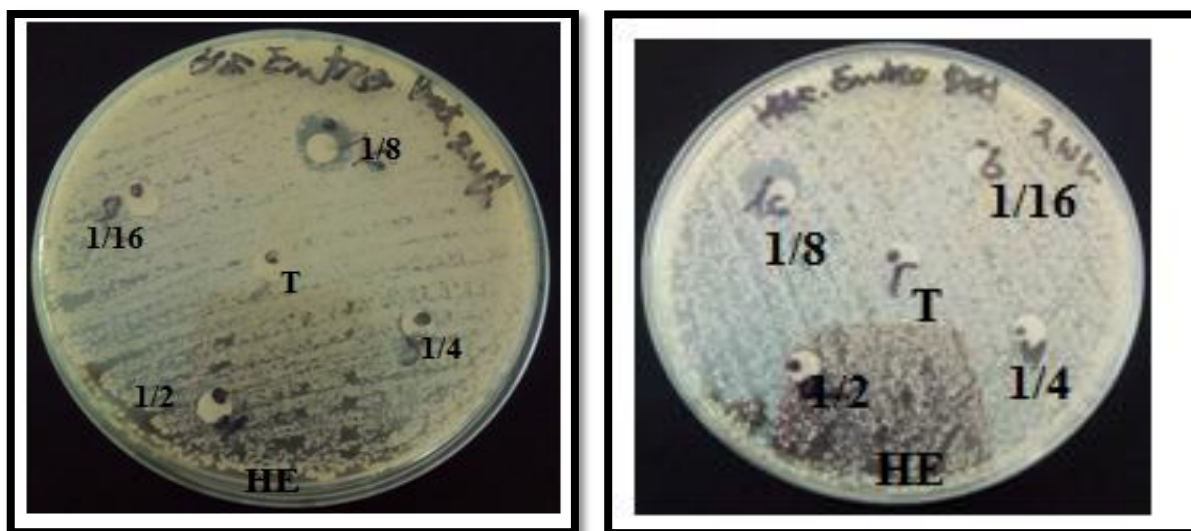


Figure 48 : L'effet d'huile essentielle de la plante *salvia officinalis* sur les souches bactériennes teste en présence différent concentration d'extraits.

III.2.3. Activité antibactérienne des alcaloïdes

Lors de cette étude, nous avons étudié le pouvoir antibactérien l'extrait brut des alcaloïdes de la fleur de *Salvia officinalis*, par la méthode de diffusion des disques.

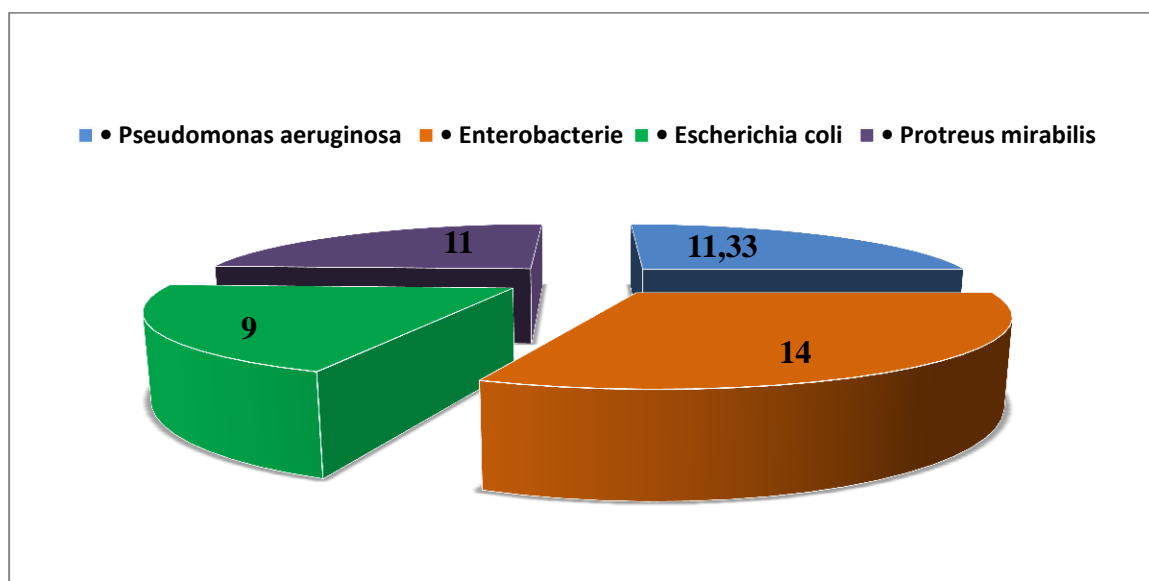
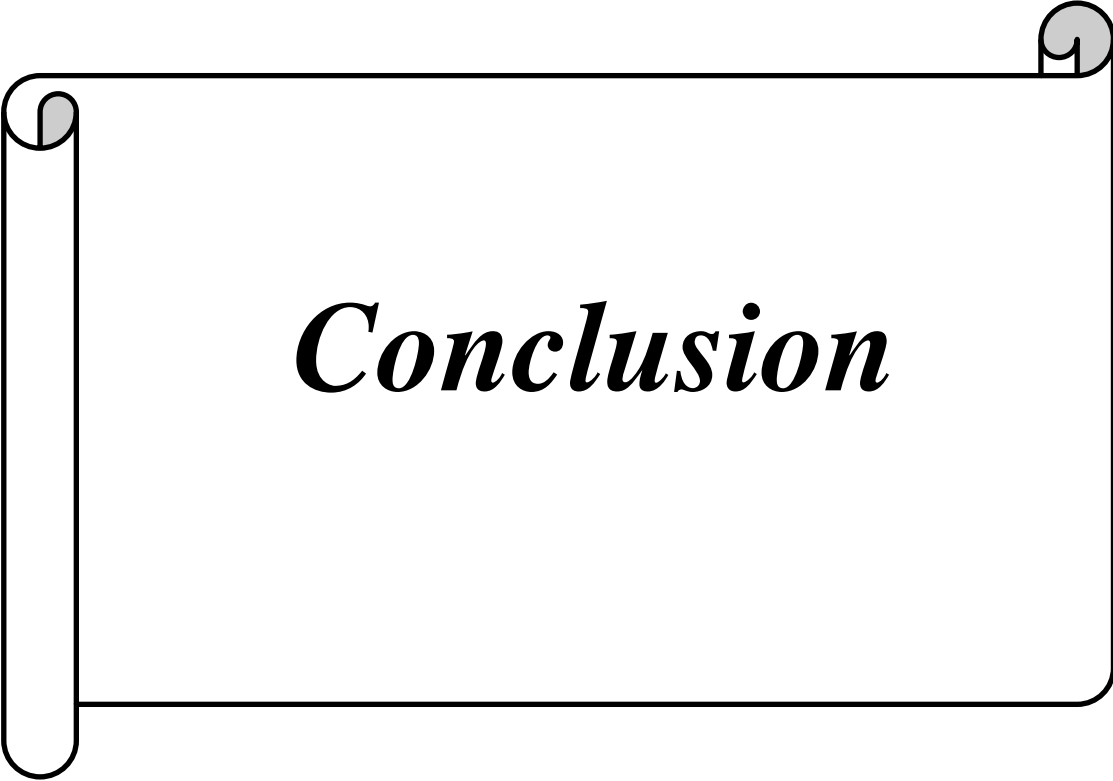


Figure 49 : La zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes par les alcaloïdes de la plante *Salvia officinalis*.

Le résultat de l'évaluation antibactérienne d'extrait est présenté dans histogramme et les figures ,On peut résumer que l'effet antibactérienne de l'extrait brut des alcaloïdes selon le diamètre de zone d'inhibition autour des disque contenant l'extrait des alcaloïdes de la partie fleure on remarque la plus grande activité bactérienne dans le cas bactérie *Enterobacterie* avec diamètre de zone d'inhibition égale 14mm, en suite le bactérie *Pseudomonas aeruginosa*,c'est une bactérie grame negative.et observe dans ces résultat effet de bacterie *Protreus mirabilis* moins activité à compare avec *Enterobacterie* , et *Pseudomonas aeruginosa* ,et la faible activité dans la bactérie *Escherichia coli* avec diamètre 9 mm.

Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (**Guesmi et Boudabous, 2006**). Mais dans plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram(-) (**Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al 2007 ; Shan et al., 2007 ; Kone et al., 2004**).



Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiées de métabolites secondaires.

Le présent travail a été consacré à la détermination du rendement et des propriétés antibactériennes de huile essentielle et différent extraites du plant *Salvia officinalis*, et activité antioxydant, et dosage des polyphénols et flavonoïde.

La détermination du rendement en extraits a montré que les rendements d'extractions varient en fonction du solvant utilise entre les tiges et les feuilles du plante étudié .La bon résultats sont enregistrés chez l'extrait méthanoïque brut de tige avec une pourcentage de 27%. Ensuite les rendements le plus faible sont acétate d'éthyle et n-butanol de feuilles, avec pourcentage 1.2 et 2.42%, respectivement .tandis que le rendement d'huile essentiel est moyenne par rapport les autre pays avec 0.3%.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que le *Salvia officinalis* est plus riche en polyphénols. Les teneurs en polyphénols totaux sont comprises entre 19.31 ± 0.34 et 12.67 ± 0.27 et 18.17 ± 0.42 ($\mu\text{g EAG/mgE}$). Le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé la plante *Salvia officinalis* contient une quantité moyennement importante de flavonoïdes qualitativement.

L'analyse chromatographie CCM indique la présence des différents composé phénoliques dans les différents extraits de plante étudié avec différentes de nombres des spots et des couleurs avec des 4 systèmes solvant. Le système N°3 est le système qui donné une meilleure séparation des molécules.

Les résultats montrent que ces extraits possèdent une activité antioxydant bien dans tige et feuille les résultats révèlent qu'huiles essentielles présente l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 2.98, suivi de l'extrait EBrt de feuille avec une IC_{50} de 22.46, après l'extrait EBrt de tige avec une IC_{50} de 23.05.

L'effet antibactérien des extraits est mis en évidence par la méthode de diffusion en présence de 8 espèces bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenese*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella thyphimurium*, *Enterobacterie* ,*Protreus mirabilissubtilis*. Les souches sont résistantes aux différents extraits testés qui est peut être due à plusieurs facteurs tel que la méthode d'extraction .

Références bibliographiques

- **Abdelly, C., Boulaaba, M., Chaieb, K., Falleh, H., Karray-Bouraoui, N., Ksouri, R., Trabelsi, N. (2000).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*, Vol. 331 : 372-379.
- **Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., Hayouni, E.A. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, Vol.105: 1126-1134.
- **Aganga, A.A., Mosase, K.W. (2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphium mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds, *Animal Feed Science and Technology*.91, p.107-113.
- **Anne-Claire, D., Ianis, D., Marie-Alix, V. (2008).** Atelier santé environnement Risques et bénéfices possibles des Huiles Essentielles. *Ingénierat du Génie Sanitaire*. p 87.
- **Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., Özyurt, D. (2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496-1547. Associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, 224-230 p.
- **Awa, N. (2003).** Étude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et hexaniques de *Vernonia colorata* (Willd/ Drake) composées chez des rats wistar. Thèse de docteur en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- **Babovic, N., Djilas, S., Jadranin, M., Vajs, V., Ivanovic, J., Petrovic, S., Zizovic, I. (2010).** Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 98–107.
- **Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, pp. 333-340.
- **Belkassam, A. (2009).** L'effet des facteurs climatiques de métabolismes secondaires dans une plante médicinale *Ruta montana* L. Thèse de Magister. Université Oum El Bouaghi.
- **Ben amor, B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle. 207p.

- **Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri ,F., and Aouni1, M. (2007)** .Investigation of somem
edicinal Plants fromTunisia for antimicrobial activities .*J. Pharmaco. Bio.* **45 (5):** 421–
428.
- **Benjilali, B. (2005).** Le matériel végétal et l'extraction. In : Huiles essentielles, de la
plante à l'extraction. Manuel pratique. Edition université de Québec à Chicoutimi, p 61-
78.
- **Benkherara, S., Bordjiba, O., Boutlelis Djahra, A. (2011).** Etude de l'activité
antibactérienne des huiles essentielles de la *Sauge officinale* sur quelques entérobactéries
pathogènes. Université Badji Mokhtar, BP12, Annaba 23000, Revue Synthèse (23).
107p.
- **Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., Douira1, A.
(2011).**Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel
Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.*, Vol. 53, pp.191-216
- **Boudabous, A., Guesmi, A. (2006).** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles
- **Boudiaf, K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires
des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif .
- **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits
D'*Artemisia campestris L.*p-51.
- **Bougandoura, N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces
végétales *Saturejacalaminthasspnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest
d'Algérie. Thèse de magister en biologie. Laboratoire des Produits Naturels, Université
Abou,BakrBelkaid-Tlemcen.pp. 52, 56, 62, 65.
- **Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Fileiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa,
M.M., Figueiredo, A.C., Barosso, J.G., Pedro, L.G. (2007).**Chemical composition and
antibacterialactivities of the essential oilsisolatedfromTunisian *Thymus capital us Hoff.*
et Link. *Food hemisty*; 105; 146-155.
- **Boyd, D., Ford, C., Koepke, M.C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S., McAnalley, B.
(2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes
en bonne santé. *Gluko Science & Nutrition* 7.
- **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., &Jovin, E. (2007).** Antimicrobial and
Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia
officinalis L.*,Lamiaceae) Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, **55:**787-7879–7885.

- **Bronner, W.E., Beecher, G.R. (1995).** “Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates”. *Journal of Chromatography A.*, 705: 247-256.
- **Brooks, J.D., Cai, Y.Z., Corke, H., Shan, B. (2007)** .The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food Microbiology*, Vol.117: 112- 119.
- **Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*, 3^{ème} édition ,TEC et DOC .Paris ,p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784-790.1292.
- **Chalchat, J.C., Michet, A., Pasquier, B. (1998).**Study of clones of *Salvia officinalis* L. Contents and chemical composition of essential oil. *FlavourFrag J* 13:68-70.
- **Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992).**Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure–activity relationship. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56: 324–327.
- **Dacosta, Y. (2003).** *Les Phytonutriments Bioactifs*. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p.
- **Delignette-muller, M.L. (1992).** Méthode de prédiction des aptitudes de croissance des populations de micro-organismes, Thèse de doctorat, p 118-15.
- **Djahra, A.B., Bordjiba, O., Benkherara, S. (2013).** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11,348- 352.
- **Djeddi, S., Bouchenak, N.S., Settar, I., Halli, L. (2012).**Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1): 46-49.
- **Favier, A. (2003).** Mécanismes biochimique l’actualité chimique- Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, P : 108-115-111.
- **Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2):193-202.
- **Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., Macheix, J.J. (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d’importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, p : 121-216.
- **François, R., Chezbruyset, A., Marc-Antoine-Louis, Claret. (1796).** *Démonstrations élémentaires de botanique*, Tom1.498p.

- **Gulcin, I., Uguz, M., Oktay, M., Beydemir, S., & Kufriyoglu, O. I. (2004).** Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk. J Agric. For.*, **28**: 25-33.
- **Hadjila, A. (2016).** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (Sauge), Option : En Technologie des industries Agro-Alimentaire Université De Tlemcen. Master en Agronomie.
- **Hamidi, A. (2013).** Etude phytochimie et activité biologique de la plante *limoniastrum guyoonianum*. Mémoire de magistère. Université kasdiMerbah Ouargla.p.86.
- **Hammoudi, Roukia. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Diplôme de Doctorat ès sciences. Université Ouargla.
- **Hamrouni-Sellami, I., Rahali, F.Z., BettaiebRebey, I., Bourgou, S., Limam, F., Marzouk, B. (2013).** Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Plants as Affected by Different Drying Methods. *Food Bioprocess Technol.* **6**:806–817.
- **Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and Extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* (inpress).
- **Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.
- **Hopkins, W. (2003).** Physiologie végétale, 3ème édition, boeck , Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.
- **Judd, WS., Campbell, C., Kellogg, EA., Steven, PF. (2002).** Botanique systématique une perspective phylogénétique. Traduction et révision scientifique de la 1ère édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. De Boeck Université.p84.88.467.
- **Kabouche, A. (2005).** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. 389p.
- **Kanko, C., Kone, S., Koukoua, G., Sawaliho, B. (2004).** Study of physicochemical properties of essential oils from *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citrates*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon gigantescus*. *Comptes Rendus Chimie*, Vol. **7**(10-11):1039-1042.

- **Kanyonga, P.M., Faouzi, M.A., Meddah, B., Mpona, M., Essassi, E.M., Cherrah, Y. (2011).** Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiological activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, 199-204.
- **Khirdine, H. (2013).** comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. thèse magister. université M'Hamed Bougara. p : 11-13
- **Kinghorn A. D., Balandrin M. F. (1993).** Human medicinal agents from plants. Washington: ACS Symposium Series 534.
- **Kivrak, I., Duru, M.E., Ozturk, M., Mercan, N., Harmandar, M., Topçu, G. (2009).** Antioxydant, anticholinestérase et antimicrobienne des constituants de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique de *Salvia potentillifolia*. *Food chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.069. Article in press.
- **Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N., Dossahoua, T., et Laurent, A. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. Vol. 6, N°2. pp 1 – 15.
- **Labiod, R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Salvia calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat en biochimie appliquée, Université d'Annaba, P : 26-28-29-31.
- **Longaray-Delmare, A.P., Ivete, T.M.P., liane, A., Luciana, A.S., et Sergoi, F. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba* cultivated in south Brazil. *Food chemistry*, 100: (603-608).
- **Madi, A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister. Université Mentouri Constantine.
- **Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). p36.
- **Maksimovic, M., DAnijela, V., Mladen, M., Marija, E.S., Sabaheta, A., et Sonja, S.Y. (2007).** Effet of the environmental condition on essential oil profile in two *Salvia* species : *Salvia brachydon vandas* and *Salvia officinalis*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35 : 473-478.
- **Markham, K.R. (1982).** Techniques of Flavonoid Identification. Biological techniques series. ed. Teherne J.E et Rubery P.H. Academic Press.

- **Marouf, A., Reynaud, J.(2007).**La botanique de A à Z.DUNOD ,paris, p :9-114-151-167-176-177-295-298.
- **Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., Ferreira, I. C.F.R. (2015).**Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. Food Chemistry, 170: 378–385.
- **Merzoug, B. (2009).**Contribution a l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri-Constantine. P1.
- **Michel, T.(2011).**Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification. Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) .Thèse de doctorat en chimie Analytique Phytochimie.Université d'Orléans.288p.
- **Naghbi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M.S., Ghorbani, A. (2005).**Labiatae Family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceutical research. Vol. 2; pp 63-79.
- **Ozanda, P. (1977).** Flore du Sahara. 2ème Ed. CNRS. Paris. p630.
- **Penchev, P. (2010).**Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Université de toulouse. 1-239 p.
- **Polat, G., Sari, F., Turkmen, N., Velioglu, Y. S. (2007)** .Effect of extraction Conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules, Vol. 12: 484-496.
- **Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. p603,781-793.
- **Raven, H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. (2014).** Biologie végétale ,3édition, boeck rue des minimes Paris, p : 30-33-34.
Recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés antibactérienne ou antiparasitaire. Revue ethnopharmacologie.p 42.
- **Rodolfo, J., Koroch, A., Simon, J., Hitimana, N. (2006).**Quality of geranium oils: case studies in southern and eastern Africa. Journal of essential oil research, Sept-Oct .
- **Said, O., khalil, K., Fulder, S., Azaizels, H. (2002).** Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region; Journal of ethnopharmacological, 83 :251-263.

- **Scully, R., (2008).** Key to lamiaceae of colorado(MintFamily). Colorado, USAUniv Colorado Press.
- **Sine, J.P. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses éditions marketing S A. p : 99-101.
- **Stalikas, C.D. (2007).** Extraction, séparation, and détection méthodes for phenolic acids and flavonoids Review. J. Sep. Sci. 30:3268 – 3295.
- **Suffredini, J.B., Sader, H.S., Goncalves, A.G., Reis, A.O., Gales, A.C., Varella, A.D., et al. (2004).** Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. Brazil. J. Med. Biol. Res , 37, pp. 379-384.
- **Tulukcua, E., Yalcinb, H., Ozturkb, I., Sagdic, O. (2012).** Changes in the fatty acid compositions and bioactivities of clary sage seeds depending on harvest year, Industrial Crops and Products, 39: 69– 73.
- **Wicht, M., Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutique. EMI Tec et Doc, Paris, p 216-9.
- **Wong, J.G., Anderson, R.A., Graham, G.M., Chu, M.C., Sauer, M.V., Guarnaccia, M.M ., Lobo, R.A. (2006).** The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. Fertil Steril 12, 12.

Tableau : concentration d'inhibition 50% de *Salvia officinalis*

Type des extraits	Tige IC ₅₀	Feuilles IC ₅₀	BHT IC ₅₀
Huiles E	2,98	2,98	52,78
n-butanol	24,61	87,85	
Acétate	35,97	37,90	
E Brut	22,46	23,05	

Tableau : rendement différent extraits de *Salvia officinalis*

Type des extraits	Tige	Feuilles
Huiles E	/	0.3%
n-butanol	4.1%	2.42%
Acétate	3%	1.2%
E Brut	27%	16.58%

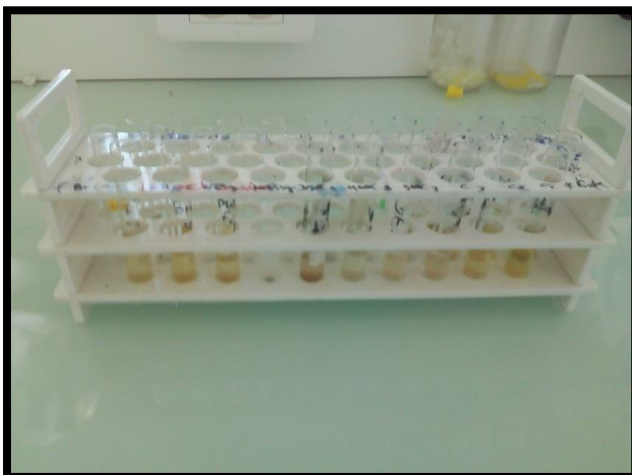


Figure : Résulta de l'activité antioxydant différent extrait de *Salvia officinalise*

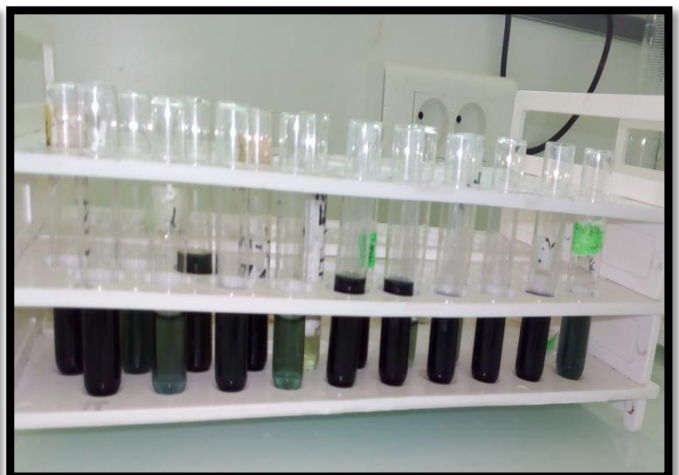


Figure : Résulta de dosage polyphenole différent extrait de *Salvia officinalis*

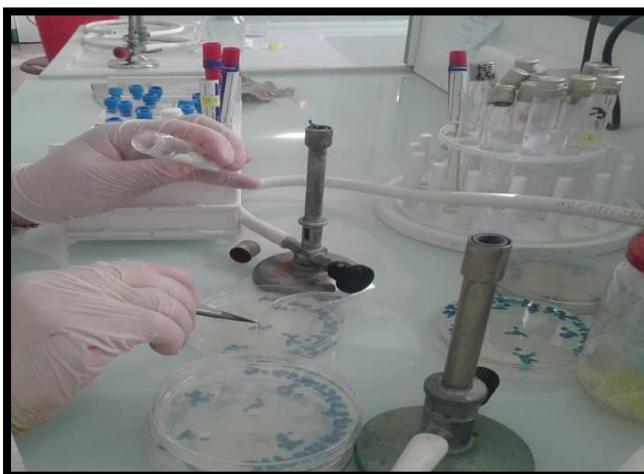


Figure: la déposition de disques stériles sur le M H.

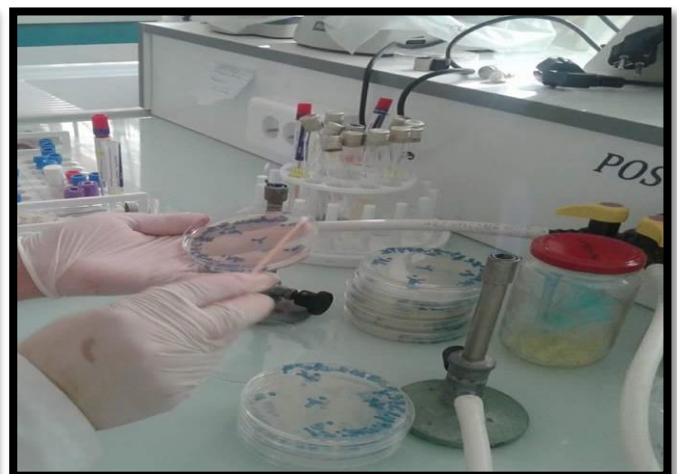


Figure : ensemences.

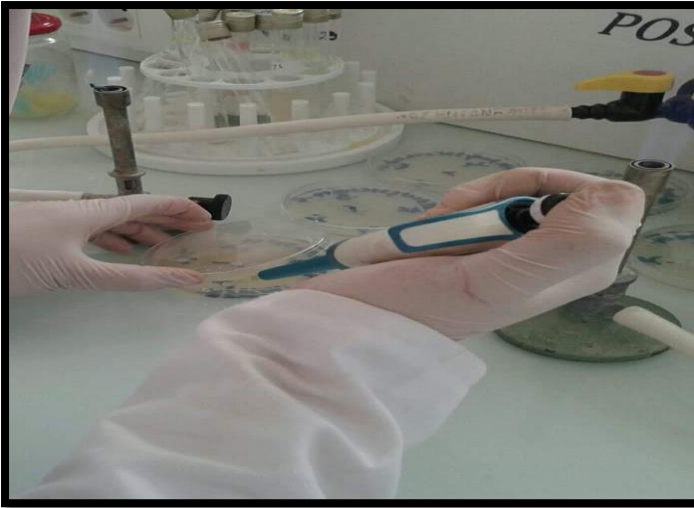


Figure : l'imprégnation de l'extrait.

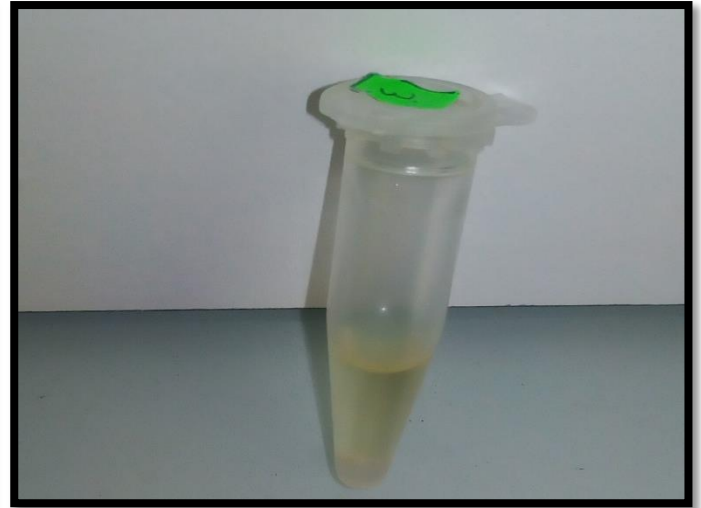


Figure : Huile essentielle de *Salvia officinalis*

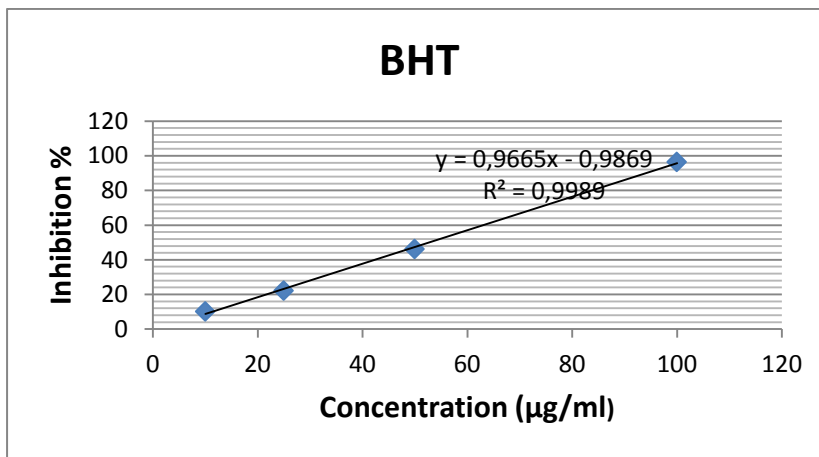


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de BHT.

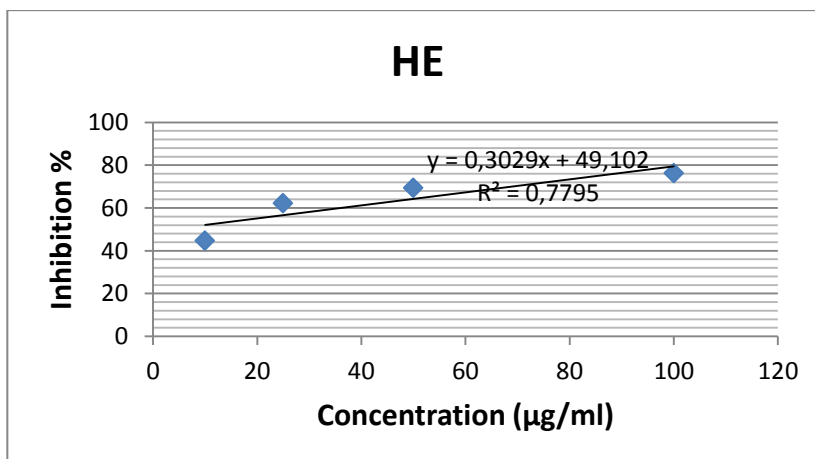


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant d'huile essentielle de la plante *Salvia officinalis*.

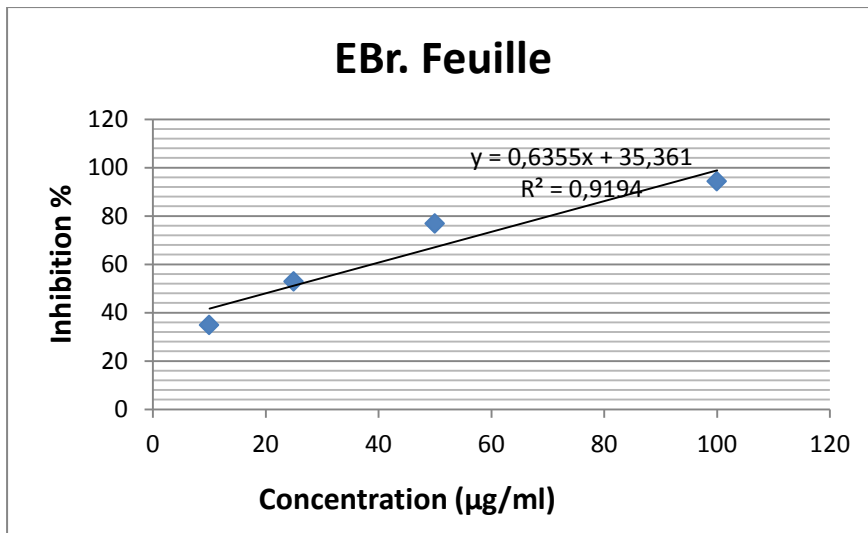


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait brut de feuille de plante *Salvia officinalis*.

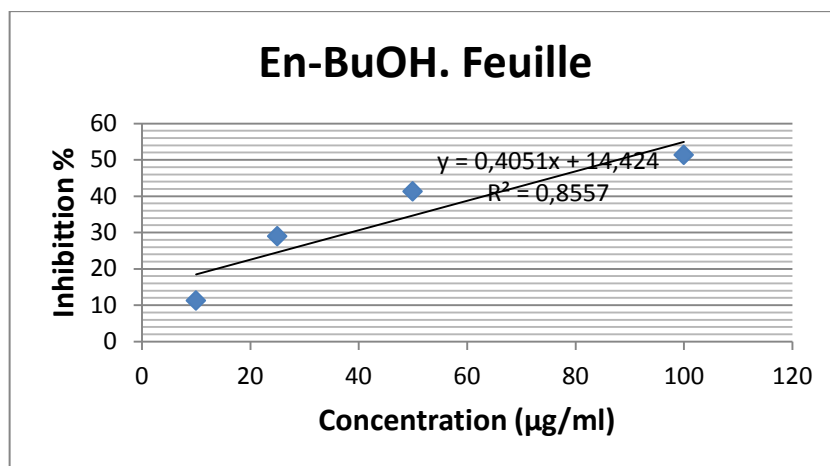


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait n-butanol de feuille de plante *Salvia officinalis*.

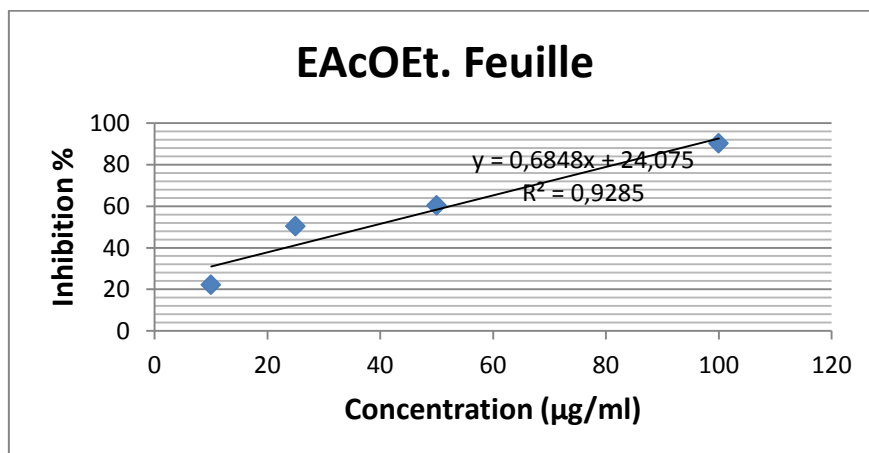


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait acetate d'ethyle de feuille de plante *Salvia officinalis*

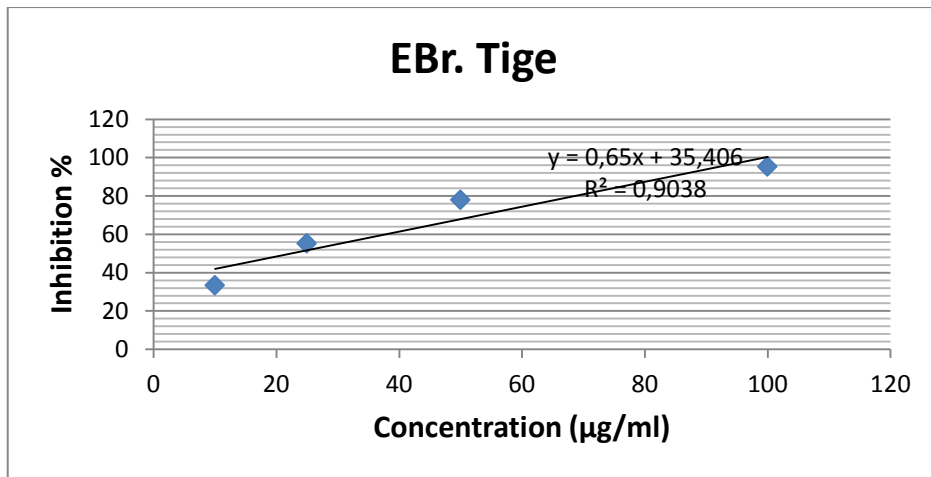


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait brut de tige de plante *Salvia officinalis*

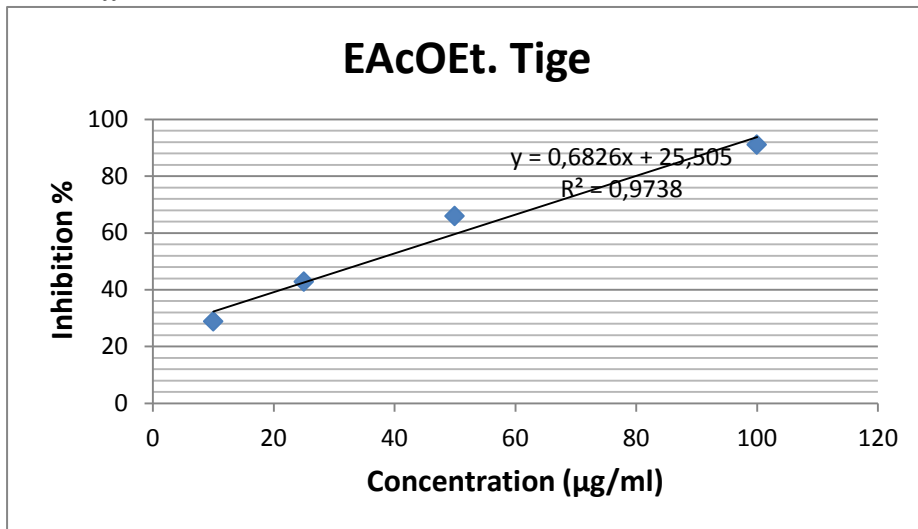


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de feuille de tige *Salvia officinalis*

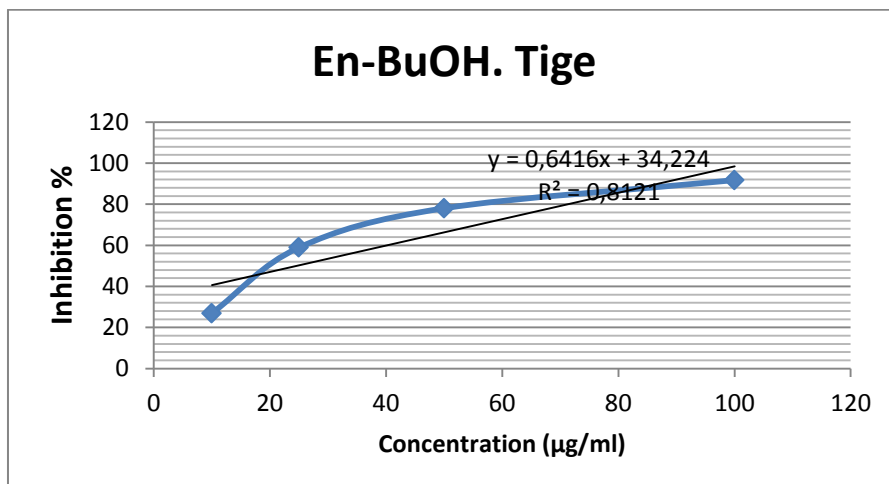


Figure : Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait n-butanol de tige de plante *Salvia officinalis*.



Annexe

Résumé

Salvia officinalis est une plante medicinale, appartenant à la famille des lamiacées. Appelée communément par la population « mirameya ». Extraction de cette plante obtenus un rendement l'huile essentielle important avec le pourcentage 0.3%. Et le rendement le plus grand dans la plante est l'extrait brut 27% de partie de la tige. Pour les alcaloïdes le rendement le plus élevée chez les fleurs. Le screening phytochimique pour les deux parties à mise en évidence la présence des composés phénoliques, avec des meilleurs teneurs (19.31 ± 0.34) et (9.69 ± 0.27) $\mu\text{g EGA/mgE}$, dans la fraction En-BuOH deux parties tiges et feuilles, respectivement. L'analyse par la chromatographie sur couche mince nous a permis de révéler la présence des molécules des compose phénoliques et le meilleur système ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), (7/3) pour séparation. L'activité antioxydant a été estimée à l'aide de la DPPH. Nous avons trouvé dans cette activité IC_{50} des extraits de pante comprises entre 22,46 et 87,85 $\mu\text{g/ml}$ tandis que la forte activité antioxydant dans HE ($\text{IC}_{50}=2.98$ feuille). L'activité antibactérienne, contre 8 souches bactériennes montre que le diamètre de zone d'inhibition défèrent de souche à l'autre. Le bon résultat dans la souche bactérienne *Protreus mirabili*, dans extrait brut de feuille avec diamètre 24 mm.

Mots clés : *Salvia officinalis*, polyphénols, activité antioxydant, activité antibactérienne, CCM Alcaliodes.

Abstract

Salvia officinalis is a medicinal plant, belonging to the lamiaceae family. Commonly called by the "mirameya" population. Extraction of this plant obtained a significant essential oil yield with 0.3% percentage. And the biggest yield in the plant is the raw extract 27% of part of the stem. For alkaloids the highest yield in flowers. The phytochemical screening for both parties showed the presence of phenolic compounds, with better contents (19.31 ± 0.34) and (9.69 ± 0.27) $\mu\text{g EGA / mgE}$, in the En-BuOH fraction, two parts stems and leaves, respectively . Thin layer chromatography analysis revealed the presence of phenolic compound molecules and the best system ($\text{CHCl}_3 / \text{MeOH}$), (7/3) for separation. Antioxidant activity was estimated using DPPH. We found in this IC_{50} activity some extracts of panta between 22.46 and 87.85 $\mu\text{g / ml}$ while the strong antioxidant activity in HE ($\text{IC}_{50} = 2.98$ leaf). The antibacterial activity, against 8 bacterial strains shows that the diameter of deferent inhibition zone strain to the other. The good result in the bacterial strain *Protreus mirabili*, in raw leaf extract with diameter 24 mm.

Key words: *Salvia officinalis*, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, LTC. Alcaliodes.

المخلص

Salvia officinalis هي نبات طبي ينتمي الى العائلة الشفوية ويطلق عليها " الميرمية". تم استخلاص هذه النبتة تحصلنا على نسبة مهمة 0.30% الزيوت الطيارة ونسبة اكبر في مستخلصات قدرت 27% في مستخلص ميثانولي عند جزء الساقى. ايضا اثبتنا وجود مركبات الألكلودية بالنسبة اكبر في الزهور. اما بالنسبة للمركبات الفلافونويدية قدر بأفضل النسب في مستخلص En-BuOH ($0.34 \pm 19.31 \mu\text{g EGA/mgE}$) لأوراق ($0.27 \pm 9.69 \mu\text{g EGA/mgE}$) لساق النبتة. التحليل النوعي بالتقنية الكرماتوغرافية الطبقة الرقيقة يشير الى فصل عدد كبير لمتعدد الفينول مع النظام المذبذبات ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), (7/3) كما اظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات هذه النبتة قدرتها القوية للحد من الجذور الحرة, DPPH مع IC_{50} يتراوح بين 22.46 و 87.85مليغرام/لتر في حين اظهرت احسن نشاط في زيوت الطيارة ب 2.98. بإضافة الى ان مستخلصات النبتة زيوت الطيارة مع اختبارها مع 8 بكتريا و لها نشاط مضاد للبكتريا.

الكلمات المفتاحية : *Salvia officinalis*, متعدد الفينول, نشاط مضاد لأكسدة, نشاط مضاد للبكتريا, ك ط ر,

الألكلويدييات.