

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Et des Sciences de la Terre
قسم البيولوجيا
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Thème :

Extraction et activité biologique des huiles essentielles de *Salvia officinalis*

Présenté par :

Melle Hadj Sadok Amira

Melle Greballah Amel

Devant le jury composé de :

M^r BOUSSOUBEL Aek (MAA) à UDB Khemis Miliana, Président

M^{me} LADAIDI A. (MAA) à UDB Khemis Miliana, Examinatrice

Mr BRADA M. (Prof) à UDB Khemis Miliana, Encadreur

Année universitaire : 2019 / 2020

REMERCIEMENTS

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

On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre encadreur Pr. BRADA Moussa 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 également Dr Sidali Lamia pour ses précieux conseils et son aide pour la réalisation de ce travail.

Nous exprimons également nos profondes reconnaissances et nos respects au Dr Guitarni Hacina, Chef de spécialité de Microbiologie Appliquée.

Nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance vont à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

AMEL ET AMIRA

Dédicaces

*Je dédie ce mémoire
A mes chers parents ma mère et mon père
Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs
Encouragements*

A mes frères

*A mon ami d'enfance Hanna .B
A mes amies proches Amira et Asma et Feriel et Nesrin et
surtout Mon cher binôme Amel*

A mes amies et mes camarades

*Au Prof. BRADA Moussa et au Dr Sidali Lamia pour leur
présence et leur soutien*

*Aux étudiantes de la promotion Microbiologie Appliquée
2019/2020.*

Amira

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils
m'ont offert d'amour et d'affection,*

*À mon cher mon mari ; Mohammed qui m'a soutenu et m'a
donné du courage dans ce travail,*

Mes frères : Hamza et Bilel et Mohamed

Mes sœurs: Sara et Khadija et Kawter

*Le père de mon mari: Ammar pour son soutien
Moral et ses encouragements*

A mes amies : Amira, Asma et Manel

*Mon cher binôme Amira avec qui j'ai partagé mes bons
moments, sans oublier sa famille.*

*Mes enseignants Pr BRADA Moussa et Dr SIDALI Lamia qui
m'ont suivi tout au long de mon cursus universitaire.*

*A tous mes camarades de Microbiologie Appliquée
de la promotion 2019/2020*

Amel

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I: rappels bibliographiques

I. <i>Salvia Officinalis</i> (sauge).....	3
I.1. Histoire	3
I.2. La dérivation du nom.....	3
I.3. Description de la sauge.....	3
I.3.1. Description morphologique.....	3
I.3.2. Nomenclature.....	4
I.3.3. Classification taxonomique.....	4
I.3.4. Écophysiologie de la sauge.....	4
I.4.. Répartition géographique.....	5
I.5. Principaux constituants <i>de Salvia Officinalis</i>	5
I.6. Usage de la sauge.....	5
I.6.1. Usage traditionnel	5
I.6.2 Usages pharmaceutiques.....	5
I.6.2. usage Cosmétologique.....	6
I.6.3. Usages alimentaires.....	6
I.7. Propriétés pharmacologiques de la plante	6
I.8. Toxicologie de la sauge.....	7
I.9. Les activités pharmacologique du <i>Salvia officinalis</i>	7
I.9.1. Effets anticancéreux et antimutagènes.....	7
I.9.2 Activités antioxydantes.....	8
I.9.3 Propriétés anti-inflammatoires.....	8
I.9.4 Effets antiseptiques.....	8
I.9.5. Les effets cognitifs et de renforcement de la mémoire.....	8
I.9.6. Effets métaboliques.....	9

Chapitre II : Matériel et méthodes

III.1. Objectifs	10
III.2. Matériel	10
III.2.1 Matériel végétal.....	10
III.2.1.1.Récolte du matériel végétal.....	10
III.2.1.2.La conservation et le séchage de la plante	10
III.2.2.Matériel biologique	10
III.2.2.Matériel non biologique	11
III.3. Méthodes	11
III.3.1. Extraction des huiles essentielles	11
III.3.1.1.Calcul du rendement	12
III.3.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles.....	12
III.3.2.1. Analyse des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG)...	13
III.3.2.2. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplé à spectrométrie en masse (CPG)\(MS).....	14
III.4.L'activité biologique	15
III.4.1.L'activité antioxydante	15
III.4.1.1.Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	15
III.4.2.L'activité antibactérienne.....	16
III.4.2.1.Culture des bactéries	16
III.4.2.2.Détermination de l'activité antibactérienne.....	17
- Milieux de culture.....	17
- L'antibiotique.....	17
- Conservation des souches.....	17
- Préparation des disques	17
- Préparation de l'inoculum.....	17
III.4.2.2.1.Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques....	18
- L'aromatogramme.....	18
III.4.2.2.2.Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de microdillution en milieu liquide (CMI).....	19

Chapite III : discussion des travaux antérieurs

II. Les travaux antérieures sur la sauge.....	21
II.1. Introduction.....	21
II.2. Métabolites secondaires	21
II.3.Composition chimique.....	22
II.4.Activité biologique de <i>Salvia officinalis</i>	24
II.4.1.Activité hypoglycémiante.....	25
II.4.2.Activité oestrogénique.....	26
II.4.3.Activité anti-tumorale.....	26
II.4.4.Activités anti-inflammatoire et antalgiques.....	26
II.4.5.Activité antimicrobienne.....	27
II.4.6.Activité antiparasitaire.....	27
II.4.7.Fonctions cognitives.....	27

Conclusion générale

Références bibliographique

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

ATCC : American type culture collection

BHA : Butylhydroxyanisole

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

GN : Gélose nutritif

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPG / SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH: 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl

E. coli: *Escherichia coli*

FID : Détecteur par Ionisation de Flamme

Hba1c: L'hémoglobine glyquée

HDL: Lipoprotéines de haute densité

HE : Huiles essentielles

Ir: Indice de rétention

KI: Indice de Kovats

LDL : Lipoprotéines de faible densité

MH: Mueller Hinton

MHB : Bouillon Mueller-Hinton

NIST: National institute of standards and technology

NBT: Nitro Blue Tetrazolium

OMS : Organisation mondiale de la santé

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*

ROS: Reactive oxygen species

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. officinalis: *Salvia officinalis*

TBHQ: Tetra-butylhydroquinone

UFC: Unité formant colonie

Liste des tableaux

Tableau I: Nom de *Salvia officinalis*

Tableau II: Matériel et produits de laboratoire

Tableau III: Les principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *Salvia officinalis*

Tableau IV: Comparaison de la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* des différents pays

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de *Salvia officinalis*

Figure 2: Montage de type Clevenger

Figure 3 : Principe du fonctionnement d'une CPG.

Figure 4 : Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse

Figure 5: Principe de la méthode de diffusion par disque

Figure 6 : Analyse en composantes principales de l'huile essentielle de *S. officinalis* des pays.

Résumé

Notre travail consiste à l'étude de l'extraction et de l'activité biologique des huiles essentielles de *Salvia officinalis* de la région d'Ain Defla. Selon la littérature, les métabolites secondaires chez *S. officinalis* montrent la présence des huiles essentielles (**1-2.5%**), les tannins (**2-6%**), les flavonoïdes (**1-3%**), les diterpènes, les triterpènes et les hétérosides phénoliques. L'huile essentielle de *S. officinalis* est très riche en monoterpènes. Le composé majoritaire de l'HE d'Italie est α -thujène (39.32%), en Bulgarie (29.40%), au Portugal (25.5%). En Serbie, c'est le camphre (24.8%) qui est le principal constituant, au Monténégro c'est le 1,8-cinéol (12%) et à Tizi-Ouzou (Algérie) c'est l'azulène (30.6%). Cette variation peut être due à de nombreux facteurs, telle que l'origine botanique et l'origine géographique. Des effets biologiques intéressants des HEs de la sauge ont été démontrés tels que : l'activité hypoglycémiant, oestrogénique, anti-tumorale, anti-inflammatoire et antalgiques, antimicrobienne, antiparasitaire et une activité anticancéreuse.

Mots clés : *Salvia officinalis*- extraction- hydrodistillation - huile essentielle- activité antibactérienne –activité antioxydante.

ملخص:

يتكون عملنا من دراسة الاستخراج والنشاط البيولوجي للزيوت الأساسية لنبات *Salvia officinalis* من منطقة عين الدفلة. وفقاً للأدبيات، تظهر المستقلبات الثانوية في *S. officinalis* وجود زيوت عطرية (1-2.5٪)، الـ tannins (2-6٪)، الـ flavonoïdes (1-3٪)، الـ diterpènes و الـ triterpènes و الـ hétérosides phénoliques .

الزيت العطري *S. officinalis* غني جداً بـ *monoterpènes* . المكون الغالب للزيوت الأساسية في إيطاليا هو α -thujène (39.32%)، في بلغاريا (29.40٪)، في البرتغال (25.5٪). في صربيا، camphre (24.8٪) هو المكون الرئيسي، في الجبل الأسود هو 1,8-cinéol (12٪) وفي تيزي وزو (الجزائر) هو l'azulène (30.6٪). يمكن أن يكون هذا الاختلاف بسبب العديد من العوامل، مثل الأصل النباتي والأصل الجغرافي. وقد تم إثبات التأثيرات البيولوجية المثيرة للاهتمام للزيوت الأساسية في الميرمية مثل: نشاط خافض لسكر الدم، هرمون الاستروجين، مضاد للأورام، مضاد للالتهابات ومسكن، مضاد للميكروبات، مضاد للطفيليات ومضاد للسرطان

الكلمات المفتاحية: *Salvia officinalis*-استخلاص - hydrodistillation-زيت عطري -نشاط مضاد للجراثيم -نشاط مضاد للأكسدة

Abstract

Our work consists of study the extraction and the biological activity of essential oils of *Salvia officinalis* from the Ain Defla area.

According to the literature, the secondary metabolites in *S. officinalis* show the presence of essential oils (1-2.5%), tannins (2-6%), flavonoids (1-3%), diterpenes, triterpenes and heterosides phenolic. The essential oil of *S. officinalis* is very rich in monoterpenes. The majority compound of essential oil in Italy is α -thujene (39.32%), in Bulgaria (29.40%), in Portugal (25.5%). In Serbia, camphor (24.8%) is the main constituent, in Montenegro it is 1,8-cineol (12%) and in Tizi-Ouzou (Algeria) it is azulene (30.6%). This variation can be due to many factors, such as botanical origin and geographic origin. Interesting biological effects of essential oil in sage have been demonstrated such as: hypoglycemic, estrogenic, anti-tumor, anti-inflammatory and analgesic, antimicrobial, antiparasitic and anticancer activity.

Keywords: *Salvia officinalis* - extraction - hydrodistillation - essential oil - antibacterial activity –antioxidant activity

Introduction

Depuis des milliers d'années, les êtres humains utilisaient diverses plantes trouvées dans leur environnement, dans le but de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels de métabolites secondaires (flavonoïdes, tanin, huile essentielle,...) qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique avec un très large éventail d'activités biologiques. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plante en tant que soins de santé primaire (**Zeghad ,2009**).

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années en raison principalement des effets secondaires et au coût cher des médicaments de synthèse.

Les huiles essentielles extraites par distillation à partir des plantes comptent parmi les plus importants principes actifs. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à une espèce de la famille des lamiacées les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien (**Mebarki ,2010**). La plante sur laquelle a porté notre choix, est une espèce de sauge (*Salvia officinalis*) provenant de la région d'Ain-Defla. Bien que relativement abondante, cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des troubles digestifs, la bronchite, la toux, l'asthme, l'angine de poitrine, l'inflammation de la bouche et de la gorge, des maladies de la peau et de nombreuses autres maladies. En outre, l'huile essentielle de *Sauge* a été utilisée en médecine pour ses propriétés anticancéreuses, antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires...etc (**Bazizi, 2017**).

Dans ce contexte notre étude est basée sur l'extraction par hydrodistillation de type Clevenger, la caractérisation et l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antibactériennes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Ce manuscrit comporte quatre chapitres :

- ✓ Le premier chapitre aborde un rappel bibliographique préalable réalisé sur la sauge (*Salvia officinalis*).

- ✓ Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes d'extraction des huiles essentielles et l'évaluation de leurs activités anti-oxydante et antibactérienne.
- ✓ Le troisième chapitre présente discussion des travaux antérieurs

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale et des recommandations.

I. *Salvia Officinalis* (sauge)

I.1. Histoire

D'après la première histoire, une variété de sauge appelait « Chia » était cultivée par les mexicains. Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpent. Au 18^{ème} siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps. *Salvia* est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Djerroumi et Nacef, 2004).

Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde [Maksimovic et al, 2007 ; Longaray et al ,2007). Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment «*essalma* » qui ajoute qu'elle est appelée « *salbia* » par les botanistes en Espagne. En Algérie, ils ont indiquée l'expression « Souek Ennebi » comme synonyme (Khiredine, 2013).

I.2. La dérivation du nom

Le nom du genre *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie «sauver» et «Guérir» (Khiredine, 2013), est due aux propriétés curatives de la plante, ce qui était autrefois célébré comme herbe médicinale. Ce nom a été corrompu populairement Sauja et Sauge (la forme française), en vieil anglais, 'Sawge,' qui est devenu nom actuel de Sage (Grieve, 1984).

I.3. Description de la sauge

I.3.1. Description morphologique

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, les rameaux sont vert-blanchâtre, les feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées ; les fleurs bleu-violacés clairs en épis terminaux lâches, elles sont disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Le calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée ; les fruits en forme de tétra akènes (figure. 1) (Madi, 2010).

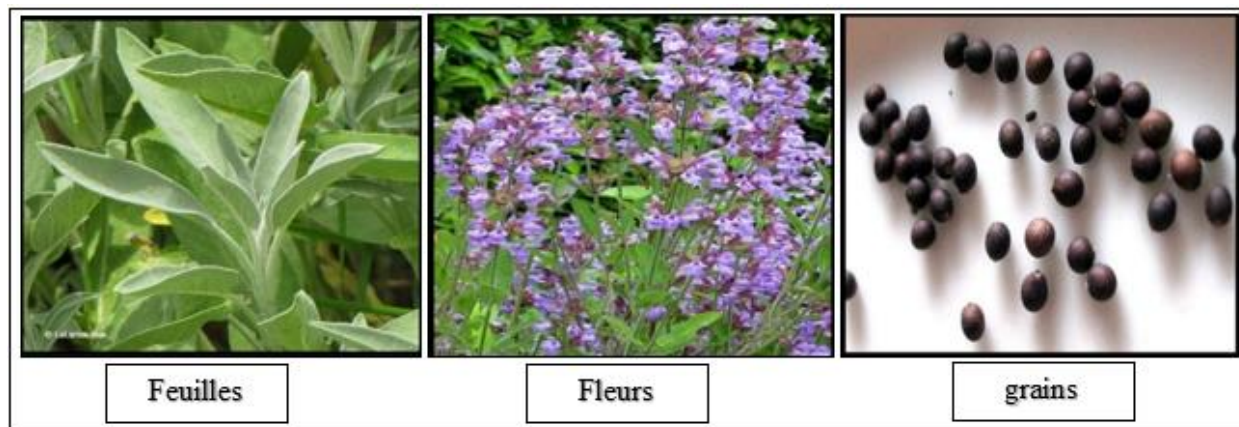


Figure.1 : Aspect de *Salvia officinalis*

I.3.2. Nomenclature

Noms Communs : Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage (Fabre et al, 1992).

- ✓ **Nom scientifique** : *Salvia Officinalis*
- ✓ **Nom français** : Calamenthevulgare
- ✓ **Nom vernaculaire** : Sâlniya, Mrimra
- ✓ **Nom français** : Saugé
- ✓ **Nom anglais** : Garden sage (Ghourri, 2013 ; AZZI, 2013).

I.3.3. Classification taxonomique

Selon Ristić et al., (1999), la sauge suit la classification suivante (Ristic, 1999) :

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Salvia*
- Espèce : *Salvia officinalis* L.

I.3.4. Écophysiologie de la sauge

La sauge est cultivable jusqu'à 1800 m d'altitude ; elle supporte des climats et des sols très variés, au pH allant de 5 à 9. Le plant adulte résiste à la température de -10°C, mais il est préférable de pailler le jeune plant (Guy, 2005).

I.4. Répartition géographique

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

I.5. Principaux constituants de *Salvia officinalis*

La Saugue officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation. Les feuilles renferment également de nombreux composants chimiques tels que :

- Les flavonoïdes,
- L'essence aromatique,
- Les saponines,
- Les tanins,
- La résine,
- Les vitamines,
- L'œstrogène,
- L'asparagine (**Gérard et François, 2008-2009**).

I.6. Usage de la saugue

I.6.1 Usage traditionnel

La saugue est une des plantes les plus utilisées, vu ses propriétés importantes ; elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées, elle est conseillée pour les étudiants en période d'examen. Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

Les infusions de la saugue sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux (**Radulescu et al, 2004**). Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et camphré (**Duling et al, 2007**).

I.6.2 Usages pharmaceutiques

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des millénaires. La saugue était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés

Chapitre I: Synthèse bibliographique

pour les patients tuberculeux. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*) montrent une gamme des activités biologiques ; antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (**Baricevic et Bartol, 2000**).

La sauge s'est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études *in vivo*, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central (**Newall et al, 1996**), et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices (**Farag et al, 1986**).

I.6.3. Usages cosmétologiques

Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandula efolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches (**Radulescu et al, 2004**).

I.6.4. Usages alimentaires

Au Mexique et en Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydante élevée. La sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation ; vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées (**Radulescu et al, 2004**).

I.7. Propriétés pharmacologiques de la plante (**Wichtl et Anton, 2003**).

Salvia officinalis est :

- Oestrogénique, anti galactogène
- Antisudorale
- Emménagogue
- Anti oxydante
- Antiphlogistique
- Relaxante et antispasmodique gastrique et intestinale
- Antiseptique
- Hypoglycémiant
- Astringente, cicatrisante réhydratante

I.8. Toxicologie de la sauge

L'huile essentielle de *S. officinalis* peut contenir jusqu'à 50% de thuyone qui peut se révéler épiléptisante et neurotoxique. Néanmoins, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour) (**Iserin, 2001**).

Cependant, la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption. Une consommation chronique de thuyone peut ainsi conduire à des troubles irréversibles du système nerveux central, à des perturbations des fonctions hépatiques, rénal et cardiaques, et aussi peut être dangereuse pour les enfants. Elle peut provoquer des convulsions épiléptiques, dans la mesure où la quantité de drogue employée à des fins culinaires reste faible, pour les consommateurs (**Bruneton, 1996**).

Cependant, des quantités importantes de drogues (dose supérieure à 15g de drogue sèche) peuvent engendrer une sécheresse de la bouche, l'apparition de sueurs, de tachycardies et de vertiges (**Teuscher et al, 2005**).

I.9. Les activités pharmacologique de *Salvia officinalis*

I.9.1. Effets anticancéreux et antimutagènes

L'activité antitumorale potentielle de *S. officinalis* a été étudiée sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses et des modèles animaux de cancer. Il a été rapporté que la boisson au thé de sauge a empêché les phases d'initiation de carcinogenèse du côlon (**Pedro et al, 2016**).

Les extraits de cette plante ont des effets inhibiteurs de la croissance sur les lignées cellulaires du cancer du sein, du col, colorectal, insulinome, carcinome laryngé, carcinome pulmonaire, mélanome et carcinome épidermoïde de cavité buccale (**Garcia et al, 2016 ; Russo et al, 2013**). En plus, *S. officinalis* possède des effets antimigrateurs, anti-angiogéniques et antiproliférative et peut agir comme inhibiteur de mutagenèse (**Keshavarz et al, 2010 ; Bidmeshkipour et al, 2011**). Son huile essentielle a permis de réduire les mutations induites par les UV chez *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae* (**Vukovic-Gacic et al, 2006**). *Salvia officinalis* contient de l'acide rosmarinique qui empêche la croissance de diverses cellules cancéreuses humaines, y compris l'adénocarcinome du sein, le carcinome du côlon, la leucémie myéloïde chronique, la prostate, le carcinome hépatocellulaire et le carcinome pulmonaire à petites cellules (**Xavier et al, 2008 ; Yesil-Celiktas et al, 2010**).

I.9.2 Activité antioxydante

Le stress oxydatif joue un rôle important dans l'initiation et la progression de plusieurs maladies, comme le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurologiques (**Toyokuni, 2016**).

Les antioxydants naturels protègent les cellules contre la ROS, alors que plusieurs études suggèrent que *S. officinalis* possède de puissantes activités antioxydantes (**Horvathova et al, 2016**).

I.9.3 Propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation et la douleur sont les deux principaux symptômes qui se produisent en réponse à des dommages aux tissus. Les médicaments conservateurs anti-inflammatoires non stéroïdiens sont encore un élément clé du traitement pharmacologique de ces symptômes. Cependant, les utilisations cliniques de ces médicaments sont accompagnées d'effets secondaires désagréables tels que les complications cardiovasculaires (**Brune et Patrignani, 2015**). Des études ont montré que *S. officinalis* est un anti-inflammatoire. Par exemple, il a été démontré que cette plante aide à contrôler la douleur neuropathique en chimiothérapie (**Abad et al, 2011**).

I.9.4 Effets antiseptiques

Plusieurs études montrent que *S. officinalis* possède des effets antimicrobiens. L'huile essentielle et l'extrait éthanolique de cette plante a des effets bactéricides et bactériostatiques contre les deux bactéries : Gram⁺ et Gram⁻ (**Hayouni et al, 2008 ; Mitic-Culafi et al, 2005**). En plus de l'action antibactérienne, *S. officinalis* a été rapporté pour induire des effets antifongiques, antiviraux et antipaludiques (**Badiee et al, 2012**).

I.9.5. Les effets cognitifs et de renforcement de la mémoire

Il y a de plus en plus de preuves que *S. officinalis* possède des effets cognitifs et de renforcement de la mémoire. Dans des études sur les animaux, il a été démontré que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* augmente la mémoire et maintient l'apprentissage chez les rats (**Eidi et al, 2006**). Aussi, l'extrait hydroalcoolique de *S. officinalis* atténue l'altération de la mémoire induite par la morphine (**Gomar et al, 2014**). Un essai contrôlé a montré qu'un traitement de 4 mois avec l'extrait hydroalcoolique de *S. officinalis* a amélioré les fonctions cognitives chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer légère et modérée (**Akhondzadeh et al, 2003**).

I.9.6. Effets métaboliques

Les études expérimentales et cliniques ont confirmé les bienfaits de certaines plantes médicinales sur le métabolisme corporel en particulier l'état glycémique, les lipides sériques, la lipolyse et l'adipogénèse (**Hernandez-Saavedra et al, 2016; Ghorbani et al, 2014**). Des enquêtes pharmacologiques récentes ont démontré que différents extraits de parties aériennes de *S. officinalis* peuvent diminuer la glycémie ont déclarés que la perfusion préparée à partir de cette plante réduisait les triglycérides sériques, le cholestérol total et les lipoprotéines de faible densité (LDL) (**Behradmanesh et al, 2013 ; Hernandez-Saavedra et al, 2016**).

III.1. Objectifs

L'objectif de ce travail est :

- L'extraction des HEs de *Salvia officinallis* par l'hydrodistillation et leur caractérisation ;
- L'étude de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles sur certains germes pathogènes: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*
- L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites.

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales à travers la détermination de l'effet in vitro de l'association de l'huile essentielle sur les bactéries.

III.2. Matériel

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de chimie et de biochimie de la Faculté des Science de la Nature et de la Vie de l'Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana. Il a porté sur l'extraction des HEs de la sauge par hydrodistillation, l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Tableau I: Nom de *Salvia officinallis*

Nom botanique	Nom vernaculaire	Famille	Organes utilisés
<i>Salvia officinallis</i>	Arabe : المرمرية Français: la sauge	Lamiacée	Les feuilles

III.2.1. Matériel végétal

III.2.1.1. Récolte du matériel végétal

La plante a été récoltée au mois de Mars 2020 de notre jardin (Ain Defla).

III.2.1.2. La conservation et le séchage de la plante :

La plante, fraîchement récoltée, est rincée et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. La partie utilisée (feuilles) est récupérée et stockée dans des sachets en papiers.

III.2.2. Matériel biologique

Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), il s'agit de : *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853). Elles seront fournies par le laboratoire des analyses médicales du Dr Zibouche à Ain-Defla.

Chapitre II: Matériels et méthodes

III.2.3 Matériel non biologique

Le matériel non biologique est composé d'appareils, de verreries, de produits chimique et solvants, de milieux de culture et autres matériels.

Tableau II: Matériel et produits de laboratoire

Verreries et appareillages	Milieux de culture	Solvants utilisés et produits chimiques
Autoclave	Gélose Muller	Eau distillée
Bain marie	Hinton Bouillon	Eau physiologique
Rotavapeur	nutritif	Ethanol
Etuve	Gélose nutritif	DMSO
Bec bunsen		DPPH
Spectrophotomètre		
Réfrigérateur		
Tubes à essai		
Pipettes pasteur		
Anse à platine		
Boîtes de pétri		
Béchers		
Erlenmeyer		
Papier whatman		
Papier filtre		

III.3. Méthodes

III.3.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinallis* devrait être réalisée par hydrodistillation au niveau du Laboratoire de Chimie à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

L'appareil utilisé est de type Clevenger. 50 g des parties aériennes de la plante séchées sont mises en contact avec 500 ml d'eau distillée dans un ballon qui est en général en verre pyrex et placé dans un chauffe ballon. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 h.

L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau et ensuite condensée. La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'hydrolat par décantation. L'HE obtenue est ensuite placée sur un desséchant de type sulfate de sodium,

Chapitre II: Matériels et méthodes

afin d'éliminer toutes traces éventuelle de l'eau. L'HE est recueillie est stockée dans un réfrigérateur à 4°C à l'obscurité (Willem, 2004).

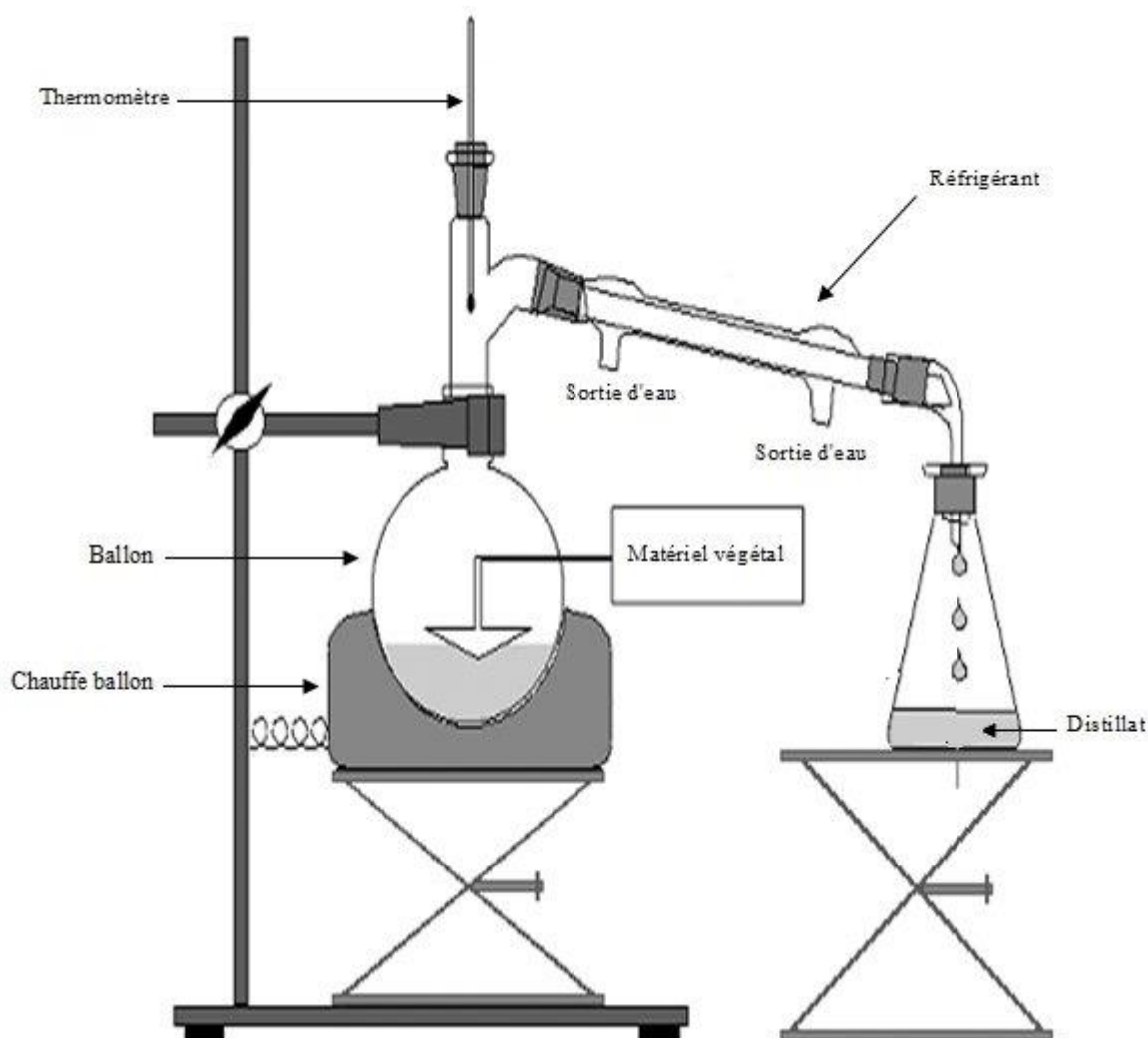


Figure 2: Montage de type Clevenger

III.3.1.1. Calcul du rendement

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

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Le rendement des huiles essentielles

M : La masse d'huile essentielle récupéré (g).

M₀ : la masse de matière végétale (g).

III.3.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des HEs de *S. officinalis* est déterminée par la chromatographie en phase gazeuse (CG) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-MS).

III.3.2.1. Analyse des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Principe :

La chromatographie en phase gazeuse est une technique d'analyse de routine essentielle dans de nombreux laboratoires.

Un appareil de CPG réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, l'injecteur la colonne et le détecteur, un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée (figure 4). La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention (**Rouessac. F et Rouessac A, 2004**).

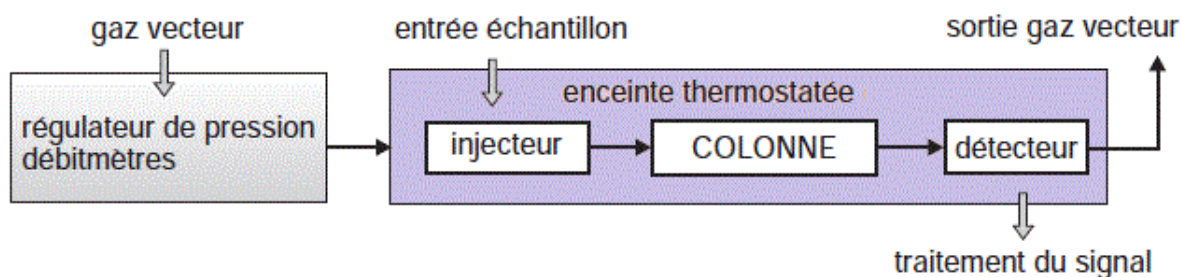


Figure 3 : Principe du fonctionnement d'une CPG.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon (1ml), sous forme liquide ou gaz, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux, sans décomposition, en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à plus de 100 m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. Cette colonne est placée dans une enceinte à température régulée. Elle peut servir à des milliers d'injections successives. La Phase gazeuse qui a traversé la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre.

En CPG il y a quatre paramètres opérationnels pour une phase stationnaire donnée : (L) Longueur de la colonne, (u) vitesse de la phase mobile, (T) température de la colonne et (b) rapport de phase. Les réglages du chromatographe permettent d'agir sur T et sur u, donc sur l'efficacité et sur les facteurs de rétention.

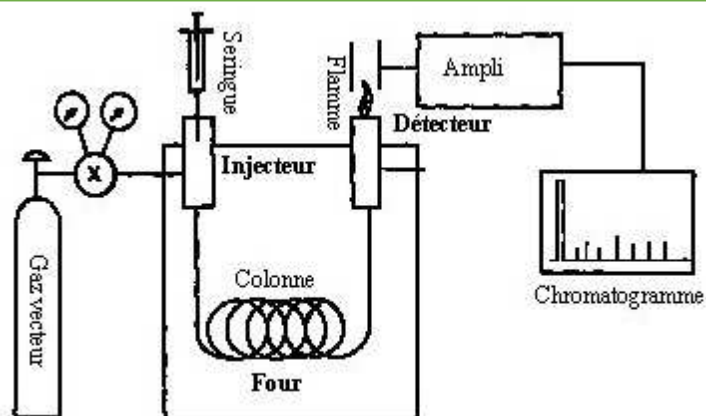


Figure 4 : Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse

Les conditions opératoires :

10 mg d'huile essentielle sont dissous dans 5 ml d'éther diéthylique. L'analyse de l'huile est réalisée au moyen d'un système HP GC 6890 Agilent Technologies avec un détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisant une colonne capillaire revêtue de 5% de phényl méthyl siloxane (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m d'épaisseur Agilent Technologies, Hewlett-Packard, CA, (États-Unis). Le programme de température est le suivant : 40 ° C pendant 1 min, puis augmenté dans une première rampe à 200 ° C à 6 ° C / min, suivi d'une seconde rampe à 280 ° C à 30 ° C / min, et finalement maintenu à 280 ° C pendant 2 minutes. L'injection est réalisée en mode sans division à 280 ° C; le volume injecté est de 1 μ L d'huile diluée (10 mg d'huile / 5 mL d'éther diéthylique). La température du détecteur est fixée à 300°C; Le gaz porteur était de l'hélium à 1 mL/min.

La composition (%) de l'huile essentielle est calculée par intégration électronique des aires des pics FID. Pour chacun des composants, les indices de rétention sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

III.3.2.2. Analyse des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie en masse CG/SM

Le couplage chromatographie en phase gazeuse –spectrométrie de masse est aujourd'hui une technique parmi les plus utilisées de la chimie analytique. L'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement performant.

- **Principe CG/SM :**

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique (Audigie et al, 1995).

Chapitre II: Matériels et méthodes

Le principe consiste à transférer les composés séparés par la chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectre de masse) des constituants individualisée avec les caractéristiques de référence contenus dans des bibliothèques de spectres (**De Maack et Sablier, 1994**).

Les conditions opératoires :

10 mg d'huile essentielle ont été dissous dans 5 ml d'éther diéthylique. La CG / MS est réalisée avec un système CG Agilent HP 6890 couplé à un détecteur sélectif de masse réseau HP 5973 Agilent actionné par le logiciel HP Enhanced ChemStation. Les conditions analytiques sont fixées comme suit : Colonne capillaire Agilent HP-5MS (30 m × 0,25 mm, $df = 0,25 \mu m$), injecteur split-splitless à 250 ° C (mode sans division), programme de température : de 40-250°C à 6°C/min, phase mobile: le gaz porteur est de l'hélium à 1 ml/ min. Les spectres de masse sont enregistrés en mode EI (70 eV), gamme de masse scannée : de 35 à 500 amu. Les températures de source et de quadripôle ont été fixées à 230 ° C et 150 ° C, respectivement.

L'identification des composants est basée sur la comparaison des temps de rétention de chaque composant, leurs spectres de masse et leurs KI (indice de Kovats) avec ceux de substances pures enregistrées dans la littérature, notamment dans les bases de données Wiley 275 et NIST (National Institute of Standards and Technologies) et ceux décrits par Adams, (2001) (**Adams, 2001**). Également, la base de données élaborée par le laboratoire à partir de substances pures et composants d'huiles essentielles connues a été utilisée.

Les indices de rétention (RI) sont calculés au moyen d'un mélange d'homologues n-alcanes (C7-C30) analysés dans les mêmes conditions chromatographiques que pour l'analyse des huiles essentielles [**Joulain et König (1999)**].

III.4. Activités biologiques

III.4.1. L'activité antioxydante

III.4.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à

Chapitre II: Matériels et méthodes

la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sánchez-Moreno, 2002**).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation ci-dessous:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-Williams et al, 1995**).

Mode opératoire:

1ml de solution méthanolique de DPPH (8%) est ajouté à 1ml de la solution d'extraits, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Le blanc est représenté par le méthanol, le témoin négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH et 1 ml de méthanol. Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard: le BHA.

La longueur d'onde d'absorption maximale est préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité antiradicalaire} = (\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Les résultats sont la moyenne de deux mesures séparées \pm écart type.

La CI_{50} est déterminée pour chaque extrait, elle est définie comme étant la concentration qui donne la diminution de la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 48 heures d'incubation (**Wan et al, 1998 ; Canillac et Mourey, 2001**).

III.4.2. L'activité antibactérienne

III.4.2.1. 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).

III.4.2.2.Détermination de l'activité antibactérienne

Le test de susceptibilité des huiles essentielles de *Salvia officinalis* est effectué selon deux méthodes différentes : la méthode de diffusion sur disque en milieu de Mueller-Hinton comme un test préliminaire et qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne et la méthode des microdilutions qui a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentration dans des milieux de culture convenable.

- Milieu de culture

Gélose nutritif (GN) : milieu d'isolement et de conservation non sélectif.

Gélose Mueller-Hinton : milieu pour l'étude de la sensibilité des bactéries, en milieu solide, vis-à-vis de l'antibiotique, des huiles essentielles.

Bouillon Mueller-Hinton : milieu pour l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

- L'antibiotique

L'antibiotique utilisé dans notre étude est l'Amoxicilline à une charge de 25 µg/disque. Notre choix s'est porté sur l'Amoxicilline vu qu'il possède un large spectre d'action, permettant ainsi de déterminer la sensibilité de toute la gamme de bactéries étudiées vis-à-vis de cet antibiotique. Ce dernier est sélectionné selon la recommandation du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

- Conservation des souches

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquages sur GN. Incubées pendant 24 h à 37 °C, elles sont conservées à 5 °C dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée.

- Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier 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.

- Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont enrichies sur un tube contenant 9 ml de MHB, puis incubées à 37 °C pendant 18-24 heures.

Chapitre II: Matériels et méthodes

A l'aide d'une anse de platine, on ensemence une goutte de la culture sur une boîte de pétri contenant de la GN, elle sera par la suite incubée à 37 °C pendant 18-24 h.

A partir de ces cultures pures, la suspension bactérienne (l'inoculum) est préparée :

- A l'aide d'une anse de platine on racle 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- On décharge l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % NaCl.
- Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation de la densité optique à 0.5 Mc Farland est réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. La densité obtenue doit être comprise entre 0.08 et 0.1 ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml selon Mc Farland.

III.4.2.2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques :

- L'aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme, il permet de déterminer l'activité inhibitrice de l'huile essentielle par mesure du diamètre d'inhibition, autour d'un disque imprégné de celle-ci, ou d'un produit à base d'huile essentielle (**Vincent, 1991**).

- **Principe**

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition (**Cavallo, 2007**).

- **Mode opératoire**

Les extraits méthanoliques de la plante sont solubilisés dans le même solvant (Méthanol) à une concentration finale de 30 mg/ml. 15 ml de gélose Mueller Hinton en surfusion sont coulés dans les boîtes de Pétri, après refroidissement et solidification sur la paille 100 µl de chaque suspension bactérienne de concentration d'environ 10^8 CFU/ml préparée à partir de culture jeune sont étalés à la surface du milieu gélose à l'aide d'un râteau. Puis avec une pince stérile, des disques de 6mm environ sont prélevés puis imprégnés avec 10µl de l'huile essentielle pure et 10 µl de l'extrait en solution (30mg/ml), et sont ensuite déposés sur la gélose (**Murray et al,**

1995 ; Gulluce et al, 2006). Les boites sont fermées avec du parafilm et conservées à 4°C pendant 2h (Karaman et al, 2001). Elles sont mises à l'étuve à température de 37°C pendant 24 h. Dans les boites de contrôle négatif, les disques sont trempés dans le méthanol. Chaque essai est réalisé en triplicates (Murray et al, 1995 ; Gulluce et al, 2006).

- **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche.

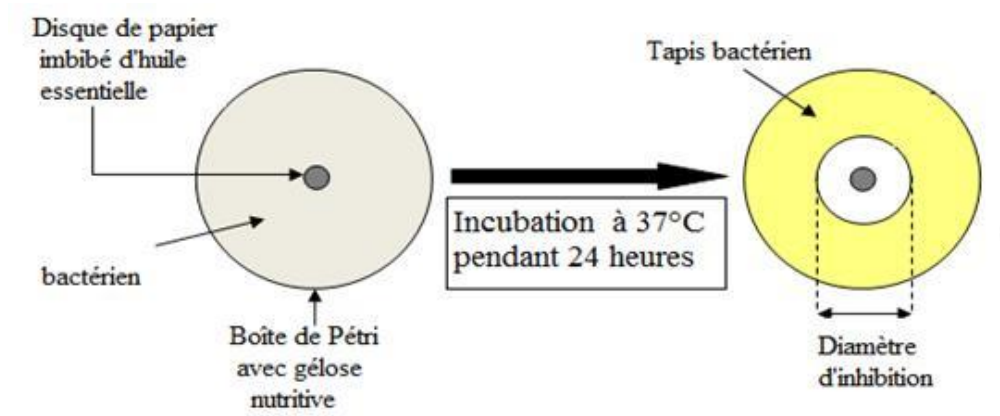


Figure 5: Principe de la méthode de diffusion par disque (Ganou, 1993)

III.4.2.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de micro-dilution en milieu liquide (CMI)

- **Principe**

La méthode de microdilution est une méthode quantitative qui permet de déterminer la concentration inhibitrice minimale (CMI). La méthode étudiée et celle de Koneman et al. (1997) et rapportée par Oke et al., 2009 avec quelques modifications. La CMI est étudiée seulement pour les microorganismes sensibles aux extraits.

- **Mise en œuvre pratique**

Une solution-mère de chaque extrait est préparée. Les HE sont solubilisés dans le DMSO à 10% et les extraits méthanoliques sont solubilisés dans le méthanol. Une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée extemporanément dans le bouillon Mueller Hinton à partir de la solution mère de façon à avoir une gamme de concentration de 50 à 0,4 µl/ml.

Chapitre II: Matériels et méthodes

La CMI est effectuée selon la méthode de microdilution dans des plaques de 96 puits. Chaque puits est inoculé avec 95 µl de BMH, 100 µl de l'HE ou de l'extrait (en solution dans le DMSO) et 5 µl de suspension bactérienne contenant 10^8 CFU/ml ajustée à 5.0 Mc Farland, le Volume final dans chaque puits est donc 200 µl. Le contrôle positif est préparé de 195µl MHB et 5 µl d'inoculum. Quant au négatif il est préparé de 100 µl de l'HE ou de l'extrait en solution et 100 µl BMH sans inoculum.

Les microplaques sont ensuite recouvertes de para-film et incubées à 37°C pendant 24h. Pour la détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB), 10 µl sont prélevés des puits dont aucun changement de couleur n'est observé, ces 10 µl sont ensemencés sur milieu gélosé et incubés à 37°C pendant 24h.

- **Expression des résultats**

Pour visualiser la croissance bactérienne un indicateur coloré est utilisé : Nitro Blue Tetrazolium (NBT, Sigma Aldrich) à une concentration de 2mg/ml (la NBT est diluée dans de l'eau distillée). A la lecture, l'obtention d'une couleur bleue indique une multiplication bactérienne. La persistance de la couleur jaune initiale signifie l'absence de croissance des germes. La CMI est égale alors à la plus petite concentration qui n'a pas montré un changement de couleur (**Peskin et Winterbourn, 2000 ; Sharma et al, 2012**).

II. Les Travaux antérieures sur la sauge

II.1. Introduction

De nombreuses études ont été réalisées sur la sauge non seulement à des fins pharmacologiques mais aussi pour une meilleure connaissance de la composition chimique des huiles essentielles pour la classification des différents chémotypes. Nous nous limitons aux études les plus récentes.

II.2. Métabolites secondaires

Une étude sur les métabolites secondaires chez *S. officinalis* montre la présence des huiles essentielles (1-2.5%), tannins (2-6%), flavonoïdes (1-3%), diterpènes, triterpènes et des hétérosides phénoliques (Wichtl et Anton, 2003). Cette plante a une activité anti-cancer (Bruno et al, 2013).

Tableau III: Les principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *S. officinalis*

Métabolites secondaires			Références
Monoterpènes	acycliques	Myrcène	(Balouiri, 2011)
	monocycliques	Cinéole	
Terpénoides	bicycliques	α -Pinène	
		β -Pinène	
		Camphène	
		Thujène	
		Camphre	
		Bornéol	
Sesquiterpènes	monocycliques	Humulène	
	bicycliques	Caryophyllène	
Diterpènes	Bicycliques	Manool	[Djarmati et al, 1992]
	Tricycliques	Acide carnosique	(Miura et al, 2002)
		Acide 12-méthoxy-carnosique	
		12-méthoxycarnosol	
		Galdosol	
Rosmanol			

		Atuntzensine	
Polyphénols		Acide rosmarinique	(OLIVEIRA et al, 2013)
		Acide 4-hydroxybenzouique	(Wanget al, 2000)
		Acide caféique	(Wanget al, 2000)
		Acide férulique	(Cuvelier et al, 1996)
		Acide salvianolique L	(Lu et al, 2001)
		6-férulolyl- α -glucose	(Wang et al,1998)
Flavonoïdes	Flavonoïdes glucosides	6-hydroxy-6-méthoxy-7-glucosylapigénine	(Masterova et al, 1998)
		6-hydroxy-7-glucosyl lutéoline	(Cuvelier et al, 1996)
	Flavonoïdes aglycones	5,4'-dihydroxy-7-méthoxyflavone	(Cuvelier et al, 1996)

II.3. Composition chimique

La recherche bibliographique exhaustive sur la composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis* a montré que cette espèce a fait l'objet de nombreuses études. La figure 2 ci-dessous regroupe les principaux travaux réalisés autour des 10 pays comme l'Algérie, Maroc, Mexique, Albanie, Roumanie....

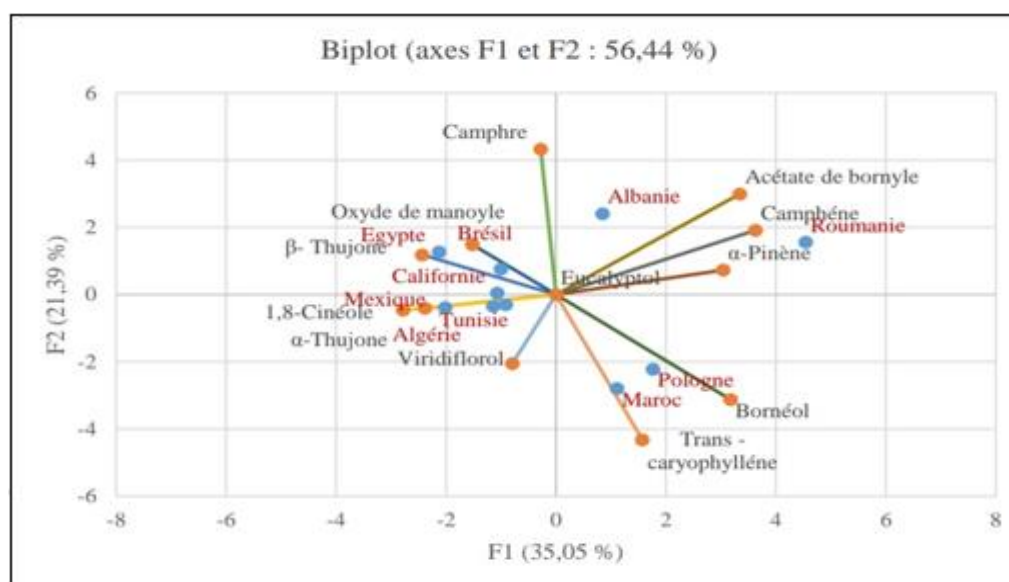


Figure 6 : Analyse en composants principaux de l'huile essentielle de *S. officinalis*.

D'après la figure 2, on remarque que chaque région est spécifiée par un chémotype. L'analyse, en composantes principales de l'huile essentielle de *S. officinalis*, montre que le bip lot de cette analyse statistique est inférieur à 80% cela signifie que la composition chimique de ces huiles est divergente à travers les 10 pays. En générale, les huiles essentielles de la Pologne (Zawiślak, 2014) et du Maroc (EL IDRISI et AMECHROUQ, 2014) sont caractérisées par le boréal et le trans-caryophyllène, celle d'Albanie (Tosun et al, 2014) et la Roumanie (Rus et al, 2015) par l'acétate de bornyle, camphène et l'alpa-pinène. Cependant, l'huile essentielle du Brésil (Porte et al, 2013), l'Egypte (Said-Al Ahl et al, 2015) et la Californie (Craft et al, 2017) sont caractérisées par le camphre, oxyde de manoyle et β -thujone, quant à celles du Mexique (Craft et al, 2017), de la Tunisie (Khedher et al, 2017) et celle de l'Algérie ont trouvé le 1.8 cinéol, alpha-thujone et le viridilflorol comme composants majoritaires (Lakhal et al, 2013).

➤ **Autres travaux sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia Officinalis***

Tableau IV: Comparaison de la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* de différents pays

Composé	<i>S. Officinalis</i> Commercial (. Lawrence, 1971; Lawrence, 1991)	<i>S. Officinalis</i> de Serbie (Santos-Gomes, 2001)	<i>S. Officinalis</i> de Portugal (Couladis, 2002)	<i>S.Officinalis</i> de Monténégro (Santos-Gomes, 2001)	<i>S. Officinalis</i> de Bulgarie (Tsankova, 1994)	<i>S. Officinalis</i> de l'Italie (Pace, 1995)
α -Pinène	1,5 – 4,0	3,02	4,22	4,58	5,10	1,21
Camphène	3,2 – 6,7	5,28	2,52	3,47	3,60	0,85
β -Pinène	0,5 – 1,4	0,52	2,22	1,34	2,20	7,22
Myrcène	0,6 – 1,1	0,75	0,92	0,36	0,90	0,75
Limonène	1,3 – 2,5	-	1,59	-	Tr	0,67
1,8-cinéole	8,0 – 12,0	6,35	6,47	12	12,50	7,73
p-cymène	0,2 – 1,1	1,89	0,11	0,58	0,70	0,51
α -Thujène	19,9 – 37,2	19,90	25,50	8,47	29,40	39,32
β -Thujène	3,5 – 14,2	3,79	3,89	1,33	17,40	3,07
Camphre	12,30 – 27,70	24,80	19,51	7,62	11,70	2,12
Acétate de bornyle	0,9 – 3,5	4,91	1,15	2,23	-	0,28
Terpinen-4-ol	0,2 – 4,4	0,46	0,23	0,33	0,30	0,39
β -Caryophyllène	2,8 – 6,0	Tr	3,17	Tr	1,10	9,05
α -Caryophyllène	-	Tr	-	Tr	-	-

Chapitre III: discussion des travaux antérieurs

α -Humulène	0,3 – 6,9	3,97	7,46	5,94	2,9	12,42
Bornéol	1,9 – 5,3	5,40	0,06	8,50	1,60	0,67
Epimanool	-	-	-	-	-	-

D'après cette étude bibliographique, on remarque que l'huile essentielle de *S. officinalis* est très riche en monoterpènes, le composé majoritaire de l'huile essentielle extraite est : α -thujène pour la sauge d'Italie (39.32%), de Bulgarie (29.40%) et celle du Portugal (25.5%).

En Serbie le principal composé est le camphre (24.8%), au Monténégro c'est le 1,8-cinéol (12%) et à Tizi-Ouzou (Algérie) c'est l'azulène (30.6%).

Cette variation peut être due à de nombreux facteurs, tel que l'origine botanique, l'origine géographique.....

II.4. Activité biologique de *Salvia officinalis* :

Salvia officinalis a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines (**Khenfer et Medjonel, 2014**), au cours des dernières années de nombreuses études ont été menées sur son utilisation traditionnelle afin de trouver des nouveaux effets biologiques. Ces études ont révélé un large éventail d'activités pharmacologiques y compris : des activités antinociceptifs, antimutagènes, antidémence, hypolipéinants, antimicrobiennes, carminatifs mucolytiques (**Longe, 2005 ; Albano et Miguel, 2011**), antispasmodiques, astringentes, stomachiques, antioxydants (**Iliora et al, 2007**), calmantes céphaliques, fébrifuge, dans les troubles mentaux et nerveux (**Khenfer et Medjonel, 2014**), fongistatiques, hypoglycémiques (**Esam et al, 2010**). Cette espèce présente plusieurs autres activités biologiques dont une activité antidiabétique, anticancéreuse, antiinflammatoire, antivirale. Elle a également des effets sur les problèmes cardiovasculaires (**Hammoudi, 2015**). La sauge pallie des troubles de la ménopause comme les bouffées de chaleur et les vertiges (**Annie, 2001**), il y a des produits disponibles sur le marché pour la ménopause qui contient la sauge comme Phytorigin®, Vitaflor®, Ergyflvone®...etc (**Chloé, 2014**).

Les huiles essentielles de *Salvia* ont été utilisées dans le traitement d'un large éventail de maladies comme celles du système nerveux, de la circulation cardiaque et sanguine, du système digestif, des maladies métaboliques et endocriniennes [**Mohsen et al, 2014**]. Aussi des essais cliniques modernes ont montrés que l'huile essentielle de sauge peut améliorer la mémoire, et s'est révélée prometteuse dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. L'extrait

de feuilles inhibe également l'activité de la lipase pancréatique et supprime les triglycérides sériques (Esam et al, 2010).

Les études phytochimiques de la sauge officinale ont révélé la présence d'un grand nombre de composés bioactifs (Sura et al, 2016), tels que les huiles essentielles (thuyone, camphre...), tanins, flavonoïdes (Zerrouki, 2017), diterpènes, triterpènes et hétérosides phénoliques (Pauline, 2011).

II.4.1. Activité hypoglycémiante

Une étude a évalué l'effet de l'extrait méthanolique de *S. officinalis* sur un modèle murin d'obésité, état inflammatoire et insulino-résistance (Ben Kheder et al, 2018). Les souris ont été traitées pendant cinq semaines avec 100 mg ou 400 mg/kg par jour d'extrait de sauge, ou de 3 mg/kg/j de rosiglitazone (antidiabétique oral, appartenant à la famille des thiazolidinediones), utilisé comme témoin positif. Enfin, une dernière partie des souris a reçu une solution contrôle composée d'eau à 10 mL/kg/j. Au bout de 14 jours de traitement, la glycémie et la concentration plasmatique sérique, trente minutes post-prandiale, ont significativement diminué dans le groupe des souris traitées par les extraits de sauge et dans le groupe témoin positif par rapport au groupe de souris traitées avec la solution contrôle. Il semblerait que la sauge sensibilise les tissus à l'insuline. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le plus faible dosage de 100 mg/kg/j (Ben Kheder et al, 2018).

Sur des patients diabétiques type 2, 150 mg, trois fois par jour, d'extrait de sauge sous forme de comprimé, permet une diminution significative de la glycémie postprandiale par rapport à un placebo. Ces résultats sont obtenus à partir de la douzième semaine de traitement (Behradmanesh et al, 2013).

La sauge, en plus d'un traitement à base de metformine et d'atorvastatine, permet de baisser plus considérablement et plus rapidement la glycémie post-prandiale, mais également l'HbA1c, le cholestérol total, les triglycérides et le LDL, à l'opposé, le cholestérol HDL est augmenté (Baricevic et al, 2001).

Un autre essai randomisé en double aveugle sur une durée de deux mois, chez des patients présentant une hyperlipidémie, a démontré une diminution de la cholestérolémie, de la concentration sérique des triglycérides et LDL et une augmentation de la concentration sérique en HDL, ceci avec un extrait de feuilles à la dose de 500 mg trois fois par jour (Kianbakht et al, 2011).

II.4.2. Activité oestrogénique

Une étude a été menée sur un groupe de patientes ménopausées depuis au moins douze mois et présentant au moins cinq bouffées de chaleur par jour. Pendant huit semaines, elles ont pris un comprimé de feuilles fraîches de feuilles de *Salvia officinalis*. Dès la première semaine de traitement, le nombre moyen de bouffées de chaleur a diminué avec une amélioration au fil du temps (**Bommer et al, 2011**).

II.4.3. Activité anti-tumorale

Des extraits de sauge ont démontré des effets pro-apoptotiques et inhibiteur de croissance sur des lignées de cellules de cancer du sein MCF-7, d'adénocarcinome du cervix HeLa, de cancer colorectal HCT116, de carcinome du poumon A549 et de mélanome A375, M14, 12058. L'extrait de *Salvia officinalis* possède des effets cytotoxiques par stimulation et augmentation de la libération de TNF-alpha et oxyde nitrique par les macrophages. Isolés, le caryophyllène et alpha-humulène, inhibent la croissance des cellules cancéreuses MCF-7 et HCT116. L'acide ursolique inhibe l'angiogenèse et l'invasion des cellules mélanocytes. L'acide rosmarinique empêche la formation de tumeurs de l'épiderme induites sur des modèles murins (**Ghorbani et Esmailizadeh, 2011**). L'huile essentielle de *Salvia officinalis* inhibe la mutagenèse induite par les UV chez *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae* (**Vuković-Gaćić et al, 2006**).

L'extrait méthanolique, contenant principalement des acides phénoliques, présente une activité protectrice contre le stress oxydatif et la génotoxicité induit par le cyclophosphamide chez le rat (**Ersilia et al, 2018**).

II.4.4. Activités anti-inflammatoire et antalgiques

Un essai randomisé en double aveugle, a montré qu'un collutoire dosé à 15% en extrait fluide de *Salvia officinalis* permet de soulager les symptômes de la pharyngite en 2 heures après son administration, par rapport à un placebo. Il ne présente que très peu d'effets indésirables, sécheresse du pharynx et moyennes sensations de brûlures (**Hubbert et al, 2006**).

En usage local, différents extraits ont été testés afin d'évaluer les mêmes propriétés. Il semble que l'extrait chloroformique soit le plus efficace pour diminuer un œdème sur des modèles murins. Le composé principal de cet extrait est l'acide ursolique, testé seul, ce principe actif présente une activité anti-inflammatoire deux fois plus forte que l'indométacine, un AINS utilisé comme référence dans cette étude (**Baricevic et al, 2001**).

Des souris traitées par un extrait hydro-alcoolique de feuilles de *Salvia officinalis*, ont été exposées à différents agents chimiques afin d'induire une réaction inflammatoire. L'extrait hydroalcoolique de *Salvia officinalis*, à des posologies comprises entre 10 et 30 mg/kg par voie orale, permet de réduire significativement les phénomènes de nociception induit par le glutamate. L'œdème a été réduit quel que soit la dose utilisée per os, entre 3 et 100 mg/kg. Seule la dose de 100 mg/kg a permis de contrôler les réponses au cinnamaldehyde et à la capsaïcine.

L'extrait de sauge aurait donc une action inhibitrice ou au moins modulatrice de l'activation des nocicepteurs au glutamate. Le taux de leucocytes a été augmenté avec de l'acide acétique et un œdème des pattes a été induit par du glutamate, de cinnamaldéhyde et de la capsaïcine **(Rodrigues et al, 2012)**.

II.4.5. Activité antimicrobienne

L'huile essentielle de sauge inhibe la croissance de certaines bactéries à gram⁺: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Ces résultats sont d'autant plus intéressants, que certaines de ces souches peuvent être pathogènes chez l'homme et présentent des résistances aux antibiotiques classiques **(Ben Kheder et al, 2017)**.

Les acides oléaniques et ursoliques, testés séparément, permettent d'inhiber la croissance de certaines bactéries multi-résistantes comme *Streptococcus pneumonia* résistant à la pénicilline, les *enterococci* résistants à la vancomycine et *Streptococcus aureus* résistant à la méthicilline **(Ghorbani et Esmailizadeh, 2011)**.

II.4.6. Activité antiparasitaire

L'huile essentielle de sauge en fumigation présente une activité sur le troisième stade larvaire de *Spodoptera littoralis*. Cette activité pourrait être due aux monoterpènes présents dans l'huile, qui inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme très importante dans le système nerveux central de ces insectes **(Ben Kheder et al, 2017)**.

II.4.7. Fonctions cognitives

Dans un essai en double aveugle contre un placebo, l'extrait de *Salvia officinalis* permet une amélioration des fonctions cognitives avec une diminution de l'agitation chez des patients présentant une maladie d'Alzheimer d'intensité moyenne. L'étude a été réalisée avec 60 gouttes par jour d'extrait alcoolique sur une période de 4 mois **(Akhondzadeh et al, 2013)**.

Conclusion générale

Le présent travail est consacré à l'extraction et la récupération de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, et l'étude de l'activité biologique (notamment l'activité anti-microbienne et antioxydante) de l'HE extraite. Selon la littérature, nous concluons ce qui suit :

Une étude sur les métabolites secondaires chez *Salvia officinalis* montre la présence des huiles essentielles (**1-2.5%**), des tannins (**2-6%**), des flavonoïdes (**1-3%**), des diterpènes, des triterpènes et des hétérosides phénoliques. L'huile essentielle de *S. officinalis* est très riche en monoterpènes, dont le composé majoritaire est l' α -thujène dans l'HE d'Italie avec une teneur de (39.32%), en Bulgarie (29.40%), au Portugal (25.5%). En Serbie, c'est le camphre (24.8%), au Monténégro c'est le 1,8-cinéol (12%) et à Tizi-Ouzou (Algérie) c'est l'azulène (30.6%). Chaque région est spécifiée par un chémotype et cette variation peut être due à de nombreux facteurs, telle que l'origine botanique, l'origine géographique...

Des études sur l'activité biologique de la sauge trouvent des nouveaux effets biologiques tels que l'activité hypoglycémiant, oestrogénique, anti-tumorale, anti-inflammatoire et antalgiques, antimicrobienne, antiparasitaire...

L'ensemble de ces résultats obtenus constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, tout en prenant en compte l'impact de l'environnement local lors de leur application. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de ces huiles notamment:

- Etudier d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.
- Séparer et isoler des différents constituants des huiles essentielles afin de connaître les molécules responsables des propriétés biologiques.
- Faire une étude approfondie et complémentaires *in vivo* de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles en générale et des composants en particuliers.
- Etude de l'efficacité des huiles essentielles dans le domaine agroalimentaire comme agents antimicrobiens ou antioxydants naturels dans la sécurité alimentaire.

Références bibliographiques

-A-

Abad N.A.A., Nouri M.H.K. &Tavakkoli F. (2011). Effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on vincristine-induced neuropathy in mice. *Chin J Nat Med* .**9**: 354-358.

Adams R. P. (2001). Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of essential oils components by gas chromatography: quadrupole mass spectroscopy; Allured Publishing Corporation; USA, 3rd ed, 456.

Akhondzadeh, S. Akhondzadeh, M. Noroozian, M. Mohammadi, et al., (2003). “*Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial”. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, vol. 28, n°1, pp 53-59.

Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi A.H. &Khani M. (2003). *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled. *Trial. JClin Pharm The* .**28**:53-59.

Albano, S.M, Miguel, M.G. Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial crops and products*. 2011, 33, 338-343.

Annie Botrel. Larousse encyclopédie des plantes médicinales. 2nd edition. 2001, ISSN 2- 03 560252-1.

Audigie C.L., Dupon G. et Zongain F. (1995). Principes des méthodes d’analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris.

AZZI Rachid. (2013) : Contribution à l’étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l’Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) chez le rat Wistar, Thèse de Doctorat en biologie, Option : Biochimie, université de Tlemcen.

-B-

Badiee P., Nasirzadeh A.R. &Motaffaf M. (2012). Comparison of *Salvia officinalis L.* essential oil and antifungal agents against candida species. *J Pharm Technol Drug Res*. 1:7.

Balouiri Mounyr, Mémoire de fin d'études, Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques –Taounate ; 2011.

Baricevic, D. & Bartol, T. (2000). Pharmacology: The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia*. Athens, Greece: Overseas Publishers Association. pp. 143-184.

Baricevic, D., S. Sosa, R. Della Loggia, et al., “Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid”. Journal of Ethnopharmacology, vol. 75, n°2-3, pp 125-132.

Bazizi M, (2017). Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique, Mémoire master. Option: Génie Chimique.

Behradmanesh S., Derees F. & Rafi eian-kopaei M. (2013). Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J RenInj Prev*. 2: 51-54.

Behradmanesh, S. F. Derees et M. Rafieian-kopaei, “Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients”. Journal of Renal Injury Prevention, vol. 2, n°2, pp 51-54.

Ben Kheder, M. R. Ben Khedher, S. Ben Kheder, I. Chaieb, et al., (2017) “Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia”. EXCLI Journal, vol 16, pp 160-173.

Ben Kheder M.R., Ben Kheder M., Hammami J.R.S., Arch et al., (2018) “Preventive Effects of *Salvia officinalis* leaf extract on insulin resistance and inflammation in a model of high fat diet-induced obesity in mice that responds to rosiglitazone”. PeerJ, vol. 6.

Bidmeshkipour A., Keshavarz M., Mostafaie A., Mansouri K. & Mohammadi- Motlagh H.R. (2011). Antitumor activity of *Salvia officinalis* is due to its antiangiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. *Cell J*. 12: 477- 482.

Bommer, S., P. Klein et A. Suter, “First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes”. Advances in Therapy, vol. 28, n°6, pp 490-500. Juin 2011

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*. 28: 25-30.

Bruneton J. (1996). Plantes toxiques-Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Technique et Documentation Lavoisier. 529 p. Paris.

Brune K. & Patrignani, P. (2015). New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pain Res*; **8**:105-111.

Bruno, M., Cardile, V., Delfine, S., Formisano, C., Rigano, D., Rosselli, S., Russo, A., Senatore, F. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 42–47.

-C-

Canillac N. and Mourey A. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excels* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol.* 18 : 261– 268.

Cavallo JD., (2007). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. 3^{ème} édition.

Chloé Gonzales. Apport de la phytothérapie dans le traitement des symptômes de la ménopause. Université de Limoges, faculté de pharmacie. 2014, 175. Couladis M, Tzakou O, Mimica-Ducki Y N, Jancic R, Stojanovic D, *Flavour. Frag. J.*, 2002, 17, 119.

Craft, J.D., P. Satyal, and W.N. Setzer, The Chemotaxonomy of Common Sage (*Salvia officinalis*) Based on the Volatile Constituents. *Medicines*, 2017. **4**(3): p. 47.

Cuvelier. H, Richard. C, Berset; 1996; Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary; *Journal of the American Oil Chemists Society*; 73, 645-652.

-D-

De Maack F. et Sablier M. (1994). Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse.

Djarmati, Z. R.M. Jankov, A. Djordjevic, B. Ribar, D. Lazar, P. Engel; 1992; *Phytochemistry*; 31;1307.

Djerroumi A., et Nacef M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.

Duling E.N., Owen J.C., Joh B.G., Rosmaru F.W., Kevin A.M., Yeap L.F & Nigel B.P. (2007): Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*salvia officinalis*) using ethanol water mixture. *Food chemistry*, **101**:1417-1424.

-E-

Eidi M., Eidi A. & Bahar M. (2006). Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition*. **22**: 321-326.

EL IDRISSE, M. and A. AMECHROUQ, Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) and *salvia officinalis* (L.).(Lamiaceae) against *bruchus lentis* (Coleoptera chrysomelidae). *Global journal of Pur and Applied Chemistry Research*, Vol. 2 (2), pp. 15-25, 2014, 2014.

Ersilia Alexa, Renata Maria Sumalan, Corina Danciu, et al., “Synergistic Antifungal, Allopathic and Anti-Proliferative Potential of *Salvia officinalis* L., and *Thymus vulgaris* L. Essential Oils”. *Molecules*, vol. 23, n°1, pp 185. 2018

Esam Y. Ounais, Mohamed Abu-Dieyh, Fuad A. Abdulla, Shtaywy S. Adalla. The antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Salvia officinalis* leaf aqueous and butanol extracts. *Pharmaceutical Biology*. 2010, 48(10) : 1149-1156, ISSN 1388- 0209.

-F-

Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques et Moget Elisabeth. (1992) : Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Résoudre Les Problèmes Simples, p93.

Farag R. S., Salem, H., Badei, A., & Hassanein, D. E. (1986). Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichmittel.*, 88 (2), pp. 69 -72.

-G-

Ganou, L., 1993. Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Traitements des matières premières végétales.

Garcia C.S.C., Menti C., Lambert A.P.F., et al. (2016). Pharmacological perspectives from Brazilian *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidant, and antitumor in mammalian cells. *An Acad Bras Ci^enc.* **88**: 281-292.

Gérard Debuigne et François Couplan. (2008-2009). Petit Larousse des plantes médicinales. Faculté libre des sciences et technologies L3 environnementaliste Monographie *Salvia officinalis*, 352, 6.

Ghorbani, A et M. Esmaeilzadeh, “Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components”. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, col 7, n°4, pp 433-440.

Ghorbani A., MoradiMarjaneh R., Rajaei Z. &Hadjzadeh M.A.R. (2014). Effects of Securigerasecuridaca extract on lipolysis and adipogenesis in diabetic rats. *Cholestrol*. **2014:** 582-106.

Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen&Douira Allal. (2013) : Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocaine (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, **17 :1**, 2388-2411.

Gomar A., Hosseini A. &Mirazi N. (2014). Evaluation of *Salvia officinalis L.* (sage) leaves on morphine-induced memory impairment in adult male rats. *Focus Altern Complement The*.**19:** 156-162.

Grieve M. (1984). A Modern Herbal. Savvas Publishing. ISBN unknown.

Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., Sahin F., Adiguzel A., Agar G., Sokmen A., (2006). Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*. **13:** 515–521.

Guy Gilly. (2005). Plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse, Edition Harmattan.

-H-

Hammoudi Roukia. Activité biologiques de quelques metabolites secondaire extraits de quelques plantes médicinales du sahara méridional Algérien. Université Kasdi Merbah Ourgla-. **2015**, 166.

Hayouni E.A., Chraief I., Abedrabba M., et al. (2008). Tunisian *Salvia officinalis L.* and *Schinusmolle L.* essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Int J Food Microbiol*.**125:** 242-251.

Hernandez-Saavedra D., Perez-Ramirez I.F., Ramos-Gomez M., Mendoza-Diaz S., Loarca-Pina G. &Reynoso-Camacho R. (2016). Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity associated cardiovascular risk. *Med Chem Res*.**25:** 163-172.

Horvathova E., Srancíková A., Regendova-Sedlackova E., et al. (2016). Enriching the drinking water of rats with extracts of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* increases their resistance to oxidative stress. *Mutagenesis*.**31:** 51-59.

Hubbert, M. H. Sievers, R. Lehnfeld et W. Kehrl, “Efficacy and tolerability of a spray with *Salvia officinalis* in the treatment of acute pharyngitis - a randomised, Double-blind, placebo

controlled study with adaptive design and interim analysis”. European Journal of Medical Research, vol. 11, n°1, pp 20-26.

-I-

Iliora Oniga, Alina Elena Parvu, Anca Toiu, Daniela Banedec. Effects of *Salvia officinalis* L. Extract on experimental acute inflammation.2007, vol 111.

Iserin P. (2001) : Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypogly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat.**01**: p335.

-J-

Joulain D et König W. A. J. (1999). The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons. E.B. – Verlag Hambourg, *Natural Products*. 62(8): 1212-1213.

-K-

Keshavarz M., Mostafaie A., Mansouri K., Bidmeshkipour A., Motlagh H.R. &Parvaneh S. (2010). In vitro and ex vivo antiangiogenic activity of *Salvia officinalis*. *Phytother Res*. **24**: 1526-1531.

Khan, I.A, Abourashed, E.A. Leung’s encyclopedia of common naturel ingredients: used in food, drugs and cosmetics. (Hoboken, Ed) (3rd ed, p.845). 2010.

Khedher, M.R.B., et al., Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI journal*, 2017. **16** : p. 160.

Khenfer Siham, Medjonel Maroua. Evaluation biologique des extraits des plantes à caractères médicinales récoltés dans la région du sud algérienne. Université Kasdi Merbah. 2014, 51.

Khiredine Hamida. (2013).Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelque plantes médicinales d’Algérie, Mémoire de Magister, option : Technologie Alimentaire, université Bougara-Boumerdes.

Kianbakht, S. B. Abasi, M. Perham et F. Hashem Dabaghian, “Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial”. *Phytotherapy Research*, vol. 25, n°12, pp 1849-1853. Décembre 2011

-L-

Labioud, R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide.

Thèse de doctorat en biochimie appliquée Université d' Annaba : 26-28-29-31.

Lakhal, H., et al., Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Batna (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 2013. **5**(3): p. 310-314.

Lawrence, BM. *Ins. Food Technol. J.*, 1971, 44, 4.

Lawrence, BM. *Progress in essential oils perfum. Flav.* 1991, 16(5), 75.

Longaray Delmare A.P., Ivete T.M.P., Liane A., Luciana A.S. et Sergio E. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba* cultivated in south Brazil. *Food chemistry*.**100**: 603-608.

Longe, JL. The gale encyclopedia of alternative medicine. (D.S. Blanchfield, F. Laurie, E. Watts, Eds) (2nd ed). Thomson Gale. 2005.

Lu, Y.; L.Y. Foo; 2001; Salvianolic acid L, a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis*; *Tetrahedron Letters*; 42, 8223-8225.

-M-

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 de Constantine.

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 dinaric *Salvia* species: *Salvia brachydonvandas* and *Salvia officinalis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*. **35**: 473-478.

Masterova.I, Uhrin.D , Kettmann.V , Suchy.V; 1989; *Phytochemical study of Salvia officinalis L* ; *Chemical Abstracts* (112, 731917v); *Chemical Papers*; 43, 797-803;.

Mebarki. N., (2010). Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formation d'une forme médicamenteuse antibacterienne, Mémoire de magister à l'université Méhamed Bougara Boumerdes, ,185p.

Mitic-Culafi C.D., Vukovic-Gacic B., Knezevic-Vukcevic J., Stankovic S. & Simic D. (2005). Comparative study on the antibacterial activity of volatiles from sage (*Salvia officinalis L.*). *Arch Biol Sci.* **57**: 173-178.

Miura, K. H. Kikuzaki, N. Nakatani, J. Agric; 2002; and Food Chem; 50; 1845

Mohsen Hamidpour, Rafie Hamidpour, Soheila Hamidpour, Mina Shahlari. Chemistry, pharmacology and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of traditional and complementary medicine.* 2014, 4(2), 82-88.

Murray PR., Baron EJ., Pfaller MA. Tenover FC. Tenover FC. Tenover FC. Yolke RH. (1995). *Manual of Clinical Microbiology.* Sixth Ed. ASM, Washington, DC, USA.

-N-

Newall C. A., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (1996). *A guide for Health-care Professionals.* London.

-O-

OLIVEIRA K.B., PALÚ É., WEFORT-SANTOS A.M., OLIVEIRA B.H; 2013; Influence of rosmarinic acid and *Salvia officinalis* extracts on melanogenesis of B16F10 cells. *Braz. J. Pharmacogn.* 23 (2): 249-258

-P-

Pace L., Piccaglia R., *Essent J. Oil. Res.*, 1995, 7, 443.

Patrick B., Jean L., and Michel S. (1988). *Bactériologie : Les bactéries des infections humaines.* 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. Pp : 100-108-274.

Pauline Paget (2011). *La phytothérapie dans la prise en charge des troubles climateriques de la ménopause: enquête auprès des officinalis nantaises.* Université de Nantes, p128.

Pedro D.F., Ramos A.A., Lima C.F., Baltazar F. & Pereira-Wilson C. (2016). Colon cancer chemoprevention by sage tea drinking: decreased DNA damage and cell proliferation. *Phytother Res.* **30**: 298-305.

Peskin AV., Winterbourn CC., (2000). A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). *Clinica Chimica Acta.* 293:157–166.

Porte, A., R. Godoy, and L. Maia-Porte, Chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 2013. **15**(3): p. 438-441

-R-

Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004): Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *salvia officinalis*. *Journal of chromatography a*, **1027**:121-126.

Richard C et Kiredjian M., (1995). Méthodes de laboratoire pour l'identification des Bacilles à gram négatif aérobies stricts : Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella. 2ème édition. Ed Institut. Pasteur .Paris. **Pp** : 42-43.

Ristic D., Brikic N.T et Zalfija. (1999): *salvia officinalis l*, Bric D (ed) institue for medicinal plants Josif Panacic. Belgrade and Art Grafik Belgrad, p 151-167.

Rodrigues, M. R. Rodrigues, L. K. Kanazawa, T. L. das Neves, et al., (2012). "Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice". *Journal of Ethnopharmacology*, vol 139, n°2, pp 519-526.

Rouessac. F, Rouessac A., (2004). **Analyse chimique** : Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6ème édition, p61.

Rus, C., et al., Antifungal activity and chemical composition of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Research Journal of Agricultural Science*, 2015. **47**(2).

Russo A., Formisano C., Rigano D., et al. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food Chem Toxicol.***55**: 42-47.

-S-

Said-Al Ahl, H., et al., Quality of sage (*Salvia officinalis* L.)Essential oil grown in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 2015. **1**(4): p. 119-123.

Sánchez-Moreno C., (2002). "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems." *Food science and technology international* 8(3): 121-137.

Santos-Gomes, P.C. M.F. Ferreira, J. Agric. Food. Chem., 2001, 49, 2908.

Scholey, A.B, Tildesly, N.T.J, Bellard, C.G, Wesnes, K.A, Tasker, A, Perry, E.K, Kennedy, D.O. An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology*. 2008, 198, 127-139.

Sharma A., Gupta S., Sarethy IP., Dang S., Gabrani R., (2012). Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food. chem.* 135: 672–675.

Steven. P., Rachel. C., Martha. E., Paul. H., Jane. S., and Peter W.J. (2004).

Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. Pp71-132

Sura Mohammed Kadhim, Mustafa Taha Mohammed, Omar Mohammed Ahmed, Abdulkadir Mohammed Norri Jassim. Study of some *Salvia officinalis* L. (sage) components and effect of their aqueous extract on antioxidant. *Sadguru publications*.2016, 14(2), 711-719. ISSN: 0972-768X.

-T-

Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2005) – plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris

Toyokuni S. (2016). Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. *Arch BiochemBiophys.* **595**: 46-49.

Tosun, A., et al., Essential oil composition and anti-inflammatory activity of *salvia officinalis* L (lamiaceae) in murin macrophages. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2014. **13**(6): p. 937-942.

Tsankova E, Konaktchiev A. N., Genova E.M., *Essent J.. Oil. Res.*, 1994, 6, 375.

-V-

Vincent MC., (1991). L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie, Paris.

Vukovic-Gacic B., Nikcevic S., Beric-Bjedov T., Knezevic-Vukcevi C. J. & Simic D. (2006). Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its monoterpenes against UV-induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem Toxicol.* **44**: 1730-1738.

Vuković-Gaćić, B.S. Nikcević, T. Berić-Bjedov, et al., “Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its monoterpenes against UV induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*”. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 44, n°10, pp 1730-1738.

-W-

Wan J., Wilcock A., and Coventry M.J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonashydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84:152–158.

Wang, M. Kikuzaki, H. Zhu, N. Sang, S. Nakatani, N. ; C.T. Ho; 2000; Isolation and structural elucidation of two new glycosides from sage (*Salvia officinalis* L.); *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 48, 235-238.

Wang, M. Li, J. Rangarajan, M. Shao, Y.; E.J. La Voie, T.C. Huang, C.T. Ho; 1998; Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*); *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 46, 4869-4873.

Wichtl M & Anton R. (2003). *Plante thérapeutiques : Traditions, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2 ième édition, Tec & Doc.

Willem, J. P. (2004). *Les huiles essentielles, Médecine d’avenir. Ed, Dauphin, Paris.* 311.

-X-

Xavier C.P., Lima C.F., Fernandes-Ferreira M. & Pereira-Wilson C. (2009). *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, and rosmarinic acid induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway. *Nutr Cancer.* **61**: 564-571.

-Y-

Yesil-Celiktas O., Sevimli C., Bedir E. & Vardar-Sukan F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. *Plant. Foods Hum Nutr.* **65**: 158-163.

-Z-

Zawiślak, G., Yield and chemical composition of essential oil from *Salvia officinalis* L. in third year of cultivation. *Herba Polonica*, 2014. **60**(3): p. 13-22.

Zeghad N., (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d’intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Mémoire de magister à l’Université Mentouri Constantine, 2009, 84p.

Zerrouki Khayra. L'effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la neurotoxicité et les maladies neurodégénératives dues aux métaux lourds (Aluminium et Plomb): —Etude expérimentale chez les souris. Université Abdlhamid Ibn-Badis – Mostaganem-, 2017, 272.