

Algérienne Démocratique République 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 de Khemis Miliana

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Technologie.



Mémoire du projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutique

Thème :

**Etude des Propriétés Physico-chimiques et Biologiques de
l'Huile Essentielle de la Sauge Officinale (*Salvia officinalis*)**

**Application dans une Formulation d'une Pommade Anti-
inflammatoire**

Présenté par :

M^{elle} Berradja Saliha

M^{elle} Rahli Nour-el-Houda

Devant le jury composé de :

Président :	<i>M^r HACHAMA Kamel</i>	UDBKM
Examinatrice :	<i>M^{me} SLIMANE Fatma Zohra</i>	UDBKM
Encadrante	<i>M^{me} ALICHE Zahia</i>	UDBKM
Co-Encadrante :	<i>M^{me} BOUDJEMA Fatiha</i>	UDBKM

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme notre formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche.

*Nous remercions les membres du jury **Monsieur HACHAMA KAMEL (Président)** et **Madame SLIMANE FATIMA ZOHRA (Examinatrice)** de nous avoir honorées en acceptant de juger ce travail.*

*Nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice et notre Copromotrice **M^{me} Zahia Aliche** et **M^{me} Boudjema Fatiha** de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, que nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de leurs connaissances et compétences, de leurs précieux conseils, de leur suivi tout au long de notre parcours académique, le fait d'être toujours montrées à l'écoute ainsi que leur rigueur scientifique.*

*On tient à remercier la directrice et toute l'équipe du laboratoire physicochimique et microbiologique du groupe SAIDAL Médéa, qui ont contribué au bon déroulement de notre stage et pour leurs soutien et aide. Nous remercier aussi **Mr. Benaissa Mustapha** pour son aide précieuse.*

*Un grand merci à **Mr Chaouchi Mohamed** responsable du laboratoire d'analyse, que nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences, de ses précieux conseils,*

On tient à remercier aussi les équipes de laboratoire du génie des procédés, et de laboratoire de recherche « FIMA » de l'université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

*Un grand merci à **Mr MAZARI Noureddine** pour son aide et sa contribution dans ce mémoire.*

*Un grand merci aussi à **Mr TADJER Bekacem** du CRAPC pour son aide.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit accompli

Nous vous remercions infiniment.



Dédicace

*Je remercie Dieu de m'avoir accordé le succès et la
capacité d'atteindre ce jour.*

*A celle qui a sacrifié sa vie pour moi, ce travail est
le fruit du labeur de ma mère "Malika" sur moi et de
son souci d'obtenir les plus hauts degrés de
connaissance, sans qui je ne serais pas ici
aujourd'hui.*

*Je remercie ma tante "Bakhta" qui a été le meilleur
soutien dans ma vie et mes études Et à tous les
membres de la famille de ma mère.*

*Je remercie tous ceux qui m'ont soutenu avec un mot
à tous ceux qui m'ont aidé et à tous ceux qui m'ont
souhaité une bonne chance.*

Merci à tous

Saliha





Dédicace

Je dédié ce travail à :

Mes parents.

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de
l'amour*

Dont ils ne cessent de nos combler

*Que dieu leur procure une bonne santé et une longue
vie*

A mes frères et sœurs

Mes amis

A toute personne qui nous a aidés

HOUDA



ملخص

الهدف هو تحضير مرهم بالزيت الأساسي للزينة المرهبة (سالڤيا اونيڤيرسال) زيتة معرونة ني الجزائر من منطوة عين الدبلى و دراسة الخصائص البيولوجية للزيت الطيار و للمرهم . التقطير المائي سمح بالحصول على مردود 0.54% . وأكدت التحليل على جودة الزيت الطيار للمرهم. و سمح التحليل الكروماتوغرافي بتحديد تركيبة الزيت الطيار الذي سادته الڤيريڤنيلورول (14.44%)، بېنا ٲوجون (12.67%)، الڤورنېول (11.33%) و 1،8 سينېول (10،84%) . (الختبار عن طريق DPPH) اظهر أن الزيت الطيار للمرهم له خاصية مضادة لألكسدة مؤارنة مع الڤينامېن ج، و تحصلنا على قيمة تثبي DPPH تقرب ب $IC_{50}=115.071 \mu l/ml$. نجرنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا على اثنان من البكتيريا إيجابية الغرام (العنقوديات الذهبية ، الباسيلي سيبتيلايس) و اثنان من بكتيريا سالبة الغرام (إشريشيا كوالي وسالمونيال تيڤيموريوم)، وخميرة الكانديدا ألبيكانس. النتائج أثبتت أن البكتيريا إيجابية الغرام أكثر حساسية من البكتيريا سالبة الغرام.

الكلمات الرئيسية: زيت طيار، المرهم، نشاط مضاد لالتهابات، نشاط مضاد، سلوك رڤولوجي.

Abstract

Sage (*Salvia officinalis*) is a well-known plant in Algeria. The objective of this work is to prepare an ointment based on the essential oil of sage (EOS) from Ain Defla region, and studying the biological properties of the essential oil and the ointment. Hydrodistillation allowed obtaining an essential oil with a yield of 0.54%. The organoleptic and physicochemical properties confirmed the good quality of the EO compared to AFNOR norms. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis identified the composition of the HES, dominated by viridiflorol (14.44%), β -thujone (12.67%), borneol (11.33%), and 1,8-cineole (10.84%). The DPPH assay revealed antioxidant activity of the SEO compared to vitamin C and previous studies, with an IC_{50} value of 115.071 $\mu l/ml$. The antibacterial activity was tested against two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), two Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*), and the yeast *Candida albicans*. The results showed that the two Gram-positive bacteria were more sensitive to the SEO compared to the Gram-negative bacteria.

Keywords: Essential oil, *Salvia officinalis*, ointment, anti-inflammatory activity, wound healing activity, rheological behavior.

Résumé

Salvia officinalis est une plante très connue en Algérie. L'objectif de ce mémoire est de préparer une pommade à base de l'huile essentielle de la sauge (HES) de la région d'Ain Defla, en étudiant les propriétés biologiques de la l'huile essentielle et de la pommade.

L'hydrodistillation a permis d'obtenir une huile essentielle à un rendement de 0,54%. Les propriétés organoleptiques et physicochimiques ont confirmé la bonne qualité de l'HE Par rapport aux normes AFNOR. L'analyse CG-SM a permis d'identifier la composition de l'HES dominée par le viridiflorol (14,44%), la β -thuyone (12,6 7%), le bornéol (11,33%) et le 1,8-cinéole (10,84%). Le test par la méthode de DPPH a révélé une activité antioxydante de l'HES comparée à la vitamine C et aux travaux précédents avec un $CI_{50} = 115.071 \mu\text{l/ml}$. L'activité antibactérienne a été conduite sur deux souches gram+ (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et deux souches gram- (*Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*) et une levure *Candida albicans*. Les résultats ont montré que les deux souches gram + sont plus sensible à l'HES que les deux souches gram -.

Mots clés : Huile essentielle, *Salvia officinalis*, pommade, activité anti-inflammatoire, activité cicatrisante, comportement rhéologique.

Liste des tableaux

Tableau I.1.	Localisation des huiles essentielles dans la plante	04
Tableau I.2.	Principaux composition biochimiques des huiles essentielles	05
Tableau I.3.	principales propriétés des huiles essentielles	07
Tableau I.4.	Classification botanique de Saugé officinale	16
Tableau I.5.	Composition chimique de l'huile essentielle de Saugé officinale.....	17
Tableau I.6.	Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de la saugé officinale	17
Tableau II.1.	Classification des excipients utilisés pour la prédation des pommades..	25
Tableau III.1.	Lieux des parties expérimentales réalisées.....	37
Tableau III.2	Conditions opératoires de l'analyse en GC-SM.....	47
Tableau III.3.	Composition de la pommade 20%contenantl'huile essentielle de la saugé officinale.....	57
Tableau III.4.	Composition de la pommade 10%contenantl'huile essentielle de la saugé officinale.....	57
Tableau III.5.	Composition de la pommade 5%contenantl'huile essentielle de la saugé officinale.....	57
Tableau IV.1.	Changements de masseen fonction de temps de séchage de la saugé....	61
Tableau IV.2.	Rendement en l'huile essentielle de la saugé officinale en fonction de la période d'hydrodistillation	62
Tableau IV.3.	Caractéristiques organoleptiques de l'HES	63
Tableau IV.4.	Propriétés physico-chimiques de l'HE de saugé	64
Tableau IV.5.	Constituants chimiques de l'HE de la saugé analysée par CG-SM.....	65
Tableau IV.6.	Diamètre de la zone d'inhibition de l'HES	69
Tableau IV.7.	Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition.....	70
Tableau IV.8.	Propriétés organoleptiques et physicochimiques de la pommade en HES pour les trois concentrations 5, 10 et 20%.....	70
Tableau IV.9.	Récapitulation des résultats de l'application de pommade à base d'HE de la plante sur les lapins.....	81

Liste des figures

Figure I.1.	Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles	08
Figure I.2.	Montage de hydrodistillation	09
Figure I.3.	Montage de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau	10
Figure I.4.	<i>Salvia officinalis</i> L.	13
Figure I.5.	Culture de la sauge	14
Figure I.6.	Plante <i>Salvia officinalis</i> fleurs et feuilles	15
Figure I.7.	Tige de la sauge officinale	15
Figure I.8.	Feuilles de la sauge officinale	16
Figure I.9.	Fleurs de Sauge officinale	16
Figure II.1.	Schéma de la structure de la peau humaine	21
Figure II.2.	Forces agissant sur deux éléments de couches voisines	29
Figure II.3.	Mouvement de cisaillement entre deux surfaces planes	31
Figure II.4.	Diagrammes caractéristiques des fluides newtoniens	31
Figure II.5.	Rhéomètre à contrainte imposée de type Antan Paar MCR 302. (Laboratoire FIMA, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana)	32
Figure II.6.	Types de Rhéomètre rotatif (type plan-plan (a), type cône-plan (b) et type Couette (c)	33
Figure II.7.	Evolution de la vitesse déformation au sein d'un fluide viscoélastique lors d'un test de fluage	34
Figure III.1.	Sauge officinale (a- Plante fraîche de la sauge avant la floraison. b- Plante fraîche de la sauge pendant la floraison. c- feuilles sèches de la sauge).....	38
Figure III.2.	Situation géographique de la région d'étude.....	38
Figure III.3.	Montage d'Hydrodistillation.....	40
Figure III.4.	Réfractomètre (université de Djilali Bounaama).....	42
Figure III.5.	Préparation d'indice d'acide.....	44
Figure III.6.	Préparation du mélange de saponification.....	45
Figure III.7.	Photo représentant l'équipement de la GC-SM. (Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques).....	47
Figure III.8.	Forme libre et réduite du DPPH.....	48
Figure III.9.	Préparation d'une solution éthanolique de DPPH et Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydant.....	49

Figure III.10.	Appareil d'UV Visible.....	49
Figure III.11.	Préparation le milieu de culture.....	51
Figure III.12.	Préparation de l'activité antimicrobienne.....	52
Figure III.13.	Boites de pétrie préparées avant incubation.....	52
Figure III.14.	Différentes concentrations de l'HES+oval	54
Figure III.15.	Organigramme de protocole de test anti-inflammatoire (la dénaturation thermique de BSA)	55
Figure III.16.	Différentes concentrations de HES +BSA, Dichlofenac+ BSA et Aspirine +BSA.....	56
Figure III.17.	Composants et Préparation de pommade dermique en HES.....	58
Figure III.18.	Photos représentant le contrôle microbiologique de la pommade.....	59
Figure III.19.	Photo de cellule de mesure Plan-Plan d'échantillon.....	59
Figure III.20.	Test de fluage.....	60
Figure III.21.	Test oscillatoire en domaine linéaire LVE (linéaire viscoélastique).....	61
Figure III.22.	Zone des petites fissures avant le traitement.....	61
Figure III.23.	Injection de carragénine.....	62
Figure III.24.	Patte arrière gauche de rat (a- avant l'injection ; b- après l'injection).	63
Figure III.25.	Mesure de l'épaisseur de la patte à l'aide d'un pied à coulisse.....	63
Figure IV.1.	Taux d'humidité de la sauge officinale	62
Figure IV.2.	Rendement en l'huile essentielle de la sauge officinale en fonction de la période d'hydrodistillation	63
Figure IV.3.	Photos des résultats expérimentaux pour les propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de la sauge officinale a) Indice de réfraction ; b) pH ; c) Indice d'acide ; d) indice de saponification).....	64
Figure IV.4.	Illustration d'un chromatogramme d'HES obtenue par CG-SM.....	66
Figure IV.5.	Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HES et Vit C par la méthode du DPPH.....	67
Figure IV.6.	Photos représentant les résultats de zone d'inhibition pour les cinq souches bactériennes (a) les zones d'inhibition de l'huile essentielle et le DMSO, b) les zones d'inhibition des dilution d'HES).....	69
Figure IV.7.	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique par l'HES, Dichlofenac et l'Aspirine.....	72
Figure IV.8.	Photo représentant les trois échantillons de la pommade préparée.....	73
Figure IV.9.	Photos représentant les résultats de contrôle microbiologique de la pommade.....	74
Figure IV.10.	Courbe d'écoulement : variation de la viscosité η en fonction de gradient de cisaillement $\dot{\gamma}$ de la pommade de 20 % et testée après 2 jours à 20 °C..	75
Figure IV.11.	Superposition des courbes de la viscosité en fonction de gradient de cisaillement des trois pommades(S 5% ; S 10% ; S 20%) testés après 2 jours de leurs préparation à 20 °C.....	76

Figure IV.12.	Courbe représente la déformation de la pommade de la sauge en fonction de temps de conservation.....	77
Figure IV.13.	Evolution des deux paramètres viscoélastiques G' , G'' : a) en fonction de la déformation γ limite du domaine linéaire, b) en fonction de la fréquence angulaire ω	78
Figure IV.14.	Courbes des tests dynamiques des trois pommades préparés (10% ; 20%) : a) limite de domaine linéaire la fréquence représenté par la ligne noire b) évolution de G' et G'' en fonction de la fréquence angulaire ω	79
Figure IV.15.	Rampe de température de la pommade sauge S 20% pour $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$	80
Figure IV.16.	Comparaison de la viscosité de la pommade S20 %, testée après 14j jour, 21jour, et 60 jours de sa préparation.....	80
Figure IV.17.	Histogramme de pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes des rats.....	82

Nomenclatures et Lettres latin

C	Concentration	
°C	Température	Degré Celsius
$\frac{dx}{dy}$	Déplacement horizontal de la surface supérieure dx par rapport à dy	
d₂₀	Densité relative	
df	Résultantes forces de volume	(N)
dS	Surface élémentaire d'une couche cisillée.	(N)
dx dy dz	Volume d'un élément	
f	Fréquence	(HZ)
G	Module élastique du matériau	(Pa)
G'	Module de conservation	(Pa)
G''	Module de perte	(Pa)
H	Taux d'humidité	(%)
h	Hauteur entre les deux disques (rotor et stator)	(m)
h	Temps	(min)
I %	Pourcentage de réduction du radical DPPH.	
I_A	Indice d'acidité	
Ic₅₀	Concentration équivalente requise pour réduire 50% des radicaux libres initialement présents en solution.	
I_E	Indice d'ester	
IR₂	Indice de réfraction	
I_s	Indice de saponification	
m	Masse	(g)
m	Mètre	(m)
m_f	Poids frais de l'échantillon	(g)
m_s	Poids sec de l'échantillon	(g)
P	Pression	(Pa)
R(%)	Rendement	(%)
R, r	Rayon de disque ou bien de la géométrie	(m)
T	Température	(°C)
t	temps	(S)

V	Vitesse	(m/s)
V	Volume	(ml)

Lettres grecques

τ	Contrainte de cisaillement	(Pa)
γ	déformation de cisaillement	(sans unité)
$\dot{\gamma}$	taux de cisaillement	(s^{-1})
η	Viscosité dynamique	(Pa.s)
r_0	Contrainte critique ou contrainte seuil ou contrainte pour $\dot{\gamma} = 0$.	(Pa)
Ω	Vitesse de rotation de rotor	(rad.s ⁻¹ ,)
α	Angle de disque (géométrie)	
δ	Déphasage : différence de fréquence entre deux phénomènes	
γ_0	Contrainte seuil	

Liste des abréviations

Abs	Absorbance
Ac	Absorbance du contrôle
AFNOR	Agence Française de Normalisation
AMM	autorisation de mise sur le marché
ASP	Aspirine
At	Absorbance de l'extrait testé
ATCC	American Type Culture Collection
BSA	Albumine de sérum bovin (bovine serum albumin)
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
Dic	Diclofénac
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DPPH	1,1-Diphényle-2-picrylhydrozyl
EC50	concentration efficace à 50%
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E/H	Eau dans l'Huile

FIMA	Fluides Industriels, Mesures et Application
CG-SM	Chromatographie Gazeuse Couplée à la Spectromètre de Masse
g	Gramme
HA	Phase aqueuse
HE	Huile essentielle
H/E	Huile dans l'Eau
HECT	Huile essentielle Chémotype
HES	Huile essentielle de la sauge
KOH	Hydroxyde de Potassium
LVE	Linéaire visqueux élastique
M	Molarité
min	Minute
µl	Microlitre
ml	Millilitre
mm	Millimètres
N	Normalité
nm	Nanomètre
OVAL	Ovalbumine
PA	Principe active
pH	Potentiel d'hydrogène
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SA	Soja agar
SM	Science de la matière
ST	Science et technologie
Vit C	vitamine C

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Nomenclatures

Introduction générale 01

Partie théorique

Chapitre I : Plantes Medicinales

I.1 Généralités sur les huiles essentielles.....	03
I.1.1 Définition	03
I.1.2 Caractérisation des huiles essentielles	03
I.1.3 Localisation.....	04
I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles	05
I.1.5 Propriétés physico-chimiques des HE	06
I.5.1.1 Propriétés physiques	06
I.1.5.2 Biosynthèse dans les plantes	07
I.1.6 Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles	07
I.1.7 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	08
I.1.7.1 Hydrodistillation	09
I.1.7.2 Entraînement à la vapeur d'eau	09
I.1.8 Toxicité des HEs	10
I.1.9 Conservation des HEs.....	10
I.1.10 Critères de qualité des huiles essentielles	11
I.1.11 Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	11
I.1.11.1 L'industrie pharmaceutique	12
I.1.11.2. Parfumerie et cosmétologie	12

I.1.11.3 Industrie agro-alimentaire	12
I.2 Présentation de la plante de la sauge officinale (<i>Salvia officinalis</i>).....	12
I.2.1 Historique.....	12
I.2.2 Définition	13
I.2.3 Nomenclature	13
I.2.4 Habitat et Culture de la sauge officinale.....	14
I.2.4.1 Habitat	14
I.2.4.2 Culture de la sauge	14
I.2.5 Description	14
I.2.5.1 Caractéristiques	15
I.2.6 Classification botanique.....	16
I.2.7 Composition chimique.....	16
I.2.7.1 Huiles Essentielles.....	16
I.2.7.2 Composés phénoliques	17
I.2.8 Activités biologiques	18
I.2.8.1 Activité Antibactérienne	18
I.2.8.2 Activité antioxydante.....	18
I.2.8.3 Activité anti-inflammatoire.....	18
I.2.9 Usage de la sauge officinale	18
I.2.9.1 Usage médicinal et pharmaceutique	18
I.2.9.2 Utilisations cosmétiques	19
I.2.9.3 Usages alimentaires	19
I.10 Conclusion	20

Chapitre II : Pommades et Rhéologie

II.1 Formulation d'une pommade	21
II.1.1 Structure et fonctions de la peau	21
II.1.2 Aspects qualitatifs et quantitatifs de l'absorption cutanée	22
II.1.3 Facteurs influençant la pénétration à travers la peau	22
II.1.4 Définition de la pommade	23

II.1.5 Classification des pommades.....	23
II.1.5.1 Pommades hydrophobes ou lipophiles	23
II.1.5.2 Pommade absorbant l'eau	23
II.1.5.3 Pommades hydrophiles.....	23
II.1.6 Intérêts thérapeutiques des pommades	24
II.1.7 Principe actif	24
II.1.8 Excipient	24
II.1.8.1 Types des excipients utilisés pour les pommades	24
II.1.9 Préparation des pommades	25
II.1.10 Control de qualité	26
II.1.10.1 Homogénéité	27
II.1.10.2 Détermination de la consistance.....	27
II.1.10.3 Potentiel d'Hydrogène pH	27
II.1.10.4 Stérilité.....	27
II.1.10.5 Essais de diffusion ou de biodisponibilité	28
II.1.11 Conservation	28
II.2 Rhéologie des fluides complexes.....	28
II.2.1 Grandeur fondamentaux de rhéologie	28
II.2.1.1 Contrainte de cisaillement	29
II.2.1.2 Déformation	29
II.2.1.3 Vitesse de déformation	29
II.2.1.4 Viscosité dynamique	30
II.2.2 Fluide Newtoniens et non Newtoniens.....	30
II.2.2.1 Fluide Newtonien	30
II.2.2.2 Fluide Non Newtonien	31
II.2.3 Types des rhéomètres et équipement	32
II.2.3.1 Type de rhéomètre.....	33
II.2.4 Tests rhéologiques.....	33

II.2.4.1 Essai d'écoulement.....	33
II.2.4.2 Essai de fluage	34
II.2.4.3 Caractérisation en régime oscillatoire	34
II.5 Conclusion	35

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1 Lieu et période de travail.....	36
III .2 Etude de l'huile essentielle du la sauge	36
III.2.1 Matériel végétale	37
III.2.1.1 Situation géographique.....	38
III.2.1.2 Teneur en eau.....	38
III.3 Extraction des huiles essentielle de la sauge officinale	39
III.3.1 Hydrodistillation	39
III.3.2 Détermination du rendement	40
III.3.3 Etude de la cinétique d'extraction	40
III.4 Caractéristiques de l'huile essentielle de la sauge officinale	41
III.4.1 Caractéristiques organoleptiques	41
III.4.2 propriétés physico-chimique	41
III.4.2.1 propriétés physique	42
III.4.2.2 Propriétés chimique.....	43
III.5. Analyse chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)	45
III.6 Activité biologique de l'huile de la <i>sauge officinale</i>	47
III.6.1 Activité antioxydant	47
III.6.2 Activité antibactérienne	49

III. 12 Conclusion	60
--------------------------	----

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1 Matière végétale	61
IV.1.1 Taux d'humidité	61
IV.1.2. Cinétique et rendement d'extraction de l'huile essentielle	62
IV.2 Caractéristiques de l'huile essentielle de la sauge officinale	63
IV.2.1 Caractéristiques organoleptiques	63
IV.2.2 Propriétés physico-chimique de l'huile essentielle de la sauge	64
IV.3 Composition chimique de l'huile essentielle	65
IV.4 Activité antioxydant	67
IV.5 Activité antibactérienne	69

IV.11 Conclusion	84
Conclusion Générale	85
Référence Bibliographique	87

Introduction Générale

Introduction générale

L'Algérie est connue par sa diversité en espèces botaniques qui représentent plus de 3500 espèces végétales [1]. Ceci a fait que l'intérêt pour les plantes médicinales et leurs bienfaits ne cesse d'augmenter afin d'en tirer profit. Parmi les applications les plus efficaces est l'utilisation des huiles essentielles des plantes dans les formulations de plusieurs produits, notamment : les produits pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. Parmi les plantes médicinales abondantes en Algérie la Sauge officinale (El-miramia), qui est connue pour ses nombreux bienfaits ainsi que pour ses propriétés thérapeutiques (antioxydantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes...). Elle s'appelle également la plante des femmes, elle module les hormones, aide à élever le niveau de concentration et d'intelligence chez les enfants comme elle est bénéfique pour le système digestif. Cette plante est utilisée par plusieurs voies d'administration, dont la plus connue est la voie orale. Mais la voie préférable, mais malheureusement mal connue, est la voie cutanée qui fait l'objet de notre étude [2].

Donc, l'objectif principal de notre travail est l'étude d'huile essentielle déjà extraite de sauge. La première partie est consacrée à l'huile essentielle de cette plante : extraction par hydrodistillation, caractérisation physicochimique, analyse par CG-SM et évaluation des activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire).

Ce mémoire comporte quatre chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles : procédés d'extraction, composition et propriétés ; présentation de la plante étudiée la sauge officinale ainsi que ses propriétés biologiques.

Le deuxième chapitre est divisé en deux parties : la première est consacrée à la présentation de quelques notions sur les pommades. La deuxième partie illustre des généralités sur la rhéologie.

Le troisième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir : extraction de l'huile essentielle de la sauge, détermination de ses propriétés organoleptique et physicochimiques, de son activité antibactérienne antioxydante.

Introduction générale

Le quatrième chapitre est réservé à la présentation, la discussion et l'interprétation des résultats obtenus en les comparant aux travaux antérieurs et aux normes.

Enfin, notre étude se termine par une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats obtenus et des perspectives.

Partie théorique

Chapitre I : Plantes Médicinales

Depuis les anciens temps l'homme a toujours cherché des moyens pour soulager les douleurs, ce qu'il l'a poussé à utiliser les plantes qui étaient autour de lui. Avec le temps l'homme commençait à découvrir des plantes efficaces qui soulageaient ses maux et douleurs. L'efficacité de ces plantes dites médicinales est grâce à l'existence de substances actives aux propriétés thérapeutiques. La curiosité de l'homme l'a conduit à inventer des moyens d'extraction pour profiter de ces substances. Il a commencé à étudier la composition chimique et son influence sur les propriétés thérapeutiques de la plante. Dans ce chapitre on présente un aperçu sur les huiles essentielles (HEs) en se basant sur : définition, caractérisation, composition chimique, méthodes d'extraction, conservation. Cet aperçu est suivi par la présentation de la plante étudiée la sauge, en donnant : une définition, les caractéristiques de la sauge, classification botanique, les utilisations de sauge officinale.

I.1 Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles sont utilisées depuis longtemps en aromathérapie. Leur présence est indispensable pour l'obtention des effets pharmacologiques recherchés et pour éviter la survenue des effets secondaires indésirables [3].

I.1.1 Définition

Selon la pharmacopée une HE est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Selon l'afnor (l'Association Française de Normalisation), elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche [4].

I.1.2 Caractérisation des huiles essentielles

De nombreux facteurs peuvent modifier les essences provenant du végétale. Les HEs sont des composés très altérables car ils renferment des composés oxydables sous l'action de l'air et de la lumière. Ils s'altèrent en se résinifiant, ce qui entraîne une modification de leur parfum, leur saveur et leur constantes physique et chimique en les rendant impropres à l'utilisation. La normalisation des HEs concerne [5] :

- ✓ Les propriétés organoleptiques : odeur, couleur, aspect, saveur ;
- ✓ Les caractéristiques chimiques : indice d'acide, d'ester
- ✓ Le profile chromatographique et la quantification relative des différents constituants.

I.1.3 Localisation

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans la plante, donc avant de faire l'extraction, nous devons déterminer la partie appropriée pour extraire l'huile avec des bonnes propriétés et un bon rendement (**tableau I.1**).

Tableau I.1 : Localisation des huiles essentielles dans la plante [6].

Huile essentielle de ...	Extraite de...
Ail, Vanille	Gousses broyées
Oignon	Bulbes
Clou de girofle	Boutons séchés
Pin, sapin	Aiguilles
Cannelle	Ecorce, feuilles
Bois de rose, cade, cèdre, épinette noire, genévrier, sassafras, santal,	Bois
Angélique, livèche, vétiver	Racines
Myrrhe, galbanum	Gomme
Gingembre, bigarade, citron, mandarine, orang, pamplemousse	Ecorces, feuilles et zestes
Aneth, cardamome, carotte, carvi, céleri, coriandre, cumin, fenouil, persil	Graines
Genièvre	Baies
Muscade, poivre, anise, cubèbe	Fruits
Cajepout, petit grain, romarin	Tiges et feuilles
Cyprès	Branches et feuilles
Eucalyptus, laurier noble, lemongrass, mélisse, niaouli, thuya, gaulthérie	Feuilles
Citronnelle, géranium	Plante entière non fleurie
Armoise, estragon, hysop, menthe, origan, sarriette, thym, verveine	Plante fleurie
Marjolaine, camomille allemande, sauge	Tiges fleuries
Achillée millefeuille, basilic, camomille allemande, camomille romaine, géranium, hélichryse, lavande aspic, lavande super, lavande officinale, néroli, palmarosa, patchouli, tagetes, rose de damas, tanaïsie, ylang-ylang	Fleurs et/ou sommités feuilles
Térébenthine	Résine

I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles

Une connaissance basique des principes actifs fondamentaux permet d'utiliser au mieux les huiles essentielles, même si l'action de chacun d'elles ne peut pas résumer aux caractéristiques d'un seul de ses composants. Les composants principaux des huiles essentielles peuvent être regroupés en grandes familles [7]. Le **tableau I.2** représente les composants principaux des huiles essentielles.

Tableau I.2 : Principaux composés biochimiques des huiles essentielles [8].

Famille biochimique	Principales variétés	Principales huiles essentielles
Acide		
Ces anti-inflammatoires très puissants se trouvent en très petite quantité ou combinés à des alcools pour former des esters	Acide géranique, acide campholénique.	Vétiver, clou de girofle.
Alcools		
Ils possèdent des propriétés anti-infectieuses, comme es phénols, mais moins importantes.	Alpha-terpinéol, citronellol, géranol, linalol, menthol, nérol, terpinéol, thujanol.	Tea tree, thym, origan, menthe, géranium.
Aldéhydes		
Ils sont très répandus et possèdent une puissante action anti-inflammatoire.	Citral, géranial, neral, citronellal, cuminal.	Citron, eucalyptus, mélisse, verveine, cumin, citronnelle.
Cétone		
Elles possèdent d'importantes propriétés mucolytiques et cicatrisantes, mais elles doivent être utilisées avec prudence en raison de leur neurotoxicité.	Bornéone, carvone, cryptone, fenchone, menthone, pulégone, thuyone, verbénone.	Armoise, camomille, carvi, cèdre, hysope, thuya, romarin, fenouil, absinthe, sauge officinale, lavande, menthe poivrée, eucalyptus.
Coumarines		
Elles sont présentes en faible concentration dans les huiles essentielles, mais leur action sédatrice et anticoagulante est très puissante. Les huiles essentielles contenant des furanocoumarines sont photo-sensibilisantes et ne doivent pas être appliquées avant une exposition au soleil.	Angélicine, bergaptène, scopolétole, esculoside.	Angélique, céleri, santoline, orange amère, orange, mandarine, bergamote, lime.
Ester		
Ils possèdent généralement une action antispasmodique, antiarythmique et rééquilibrent l'état nerveux.	Acétate de bornyle, géranyle, lavandulyne, linalyl, mentholille.	Laurier, lavandin, lavande, ylang-ylang, camomille, géranium.

Ethers		
Ces molécules sont positivantes et douées d'action antispasmodique couplée à un effet antalgique et antiviral. Ce sont d'excellents rééquilibrants nerveux et ils ont un important pouvoir spasmolytique (qui supprime les spasmes). Ils nécessitent une dilution dans une huile végétale à 50 % pour un usage sur les peaux sensibles et irritables.	Carvacrol, méthyleugenol, hymol, menthyle éther.	Estragon, basilic.
Oxydes		
Ce sont des molécules aromatiques qui contiennent un atome d'oxygène. Le plus courant est l'eucalyptol, à l'action respiratoire reconnue.	Eucalyptol.	Eucalyptus.
Phénols		
Cette famille aromatique est très connue pour sa très puissante action anti-infectieuse et stimulante du système nerveux central.	Carvacrol, chavicol, eugénol, thymol.	Clou de girofle, origan, basilic, sarriette, thym, cannelle, poivre noir.
Terpènes		
Ce sont des molécules constituées uniquement d'hydrogène, qui possèdent des propriétés énergisantes, anti-infectieuses et antiseptiques.	Tinène, limonène, cymène.	Thym, sarriette, lemongrass, origan, cyprès, genièvre, pin, niaouli, sauge officinale, cannelle.

I.1.5 Propriétés physico-chimiques des HE

I.5.1.1 Propriétés physiques

- ✓ Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins Fluides, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle ;
- ✓ La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont Entraînables à la vapeur d'eau ;
- ✓ La densité nous renseigne sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques ;
- ✓ Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires ;
- ✓ Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire ;
- ✓ Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides, en ce sens qu'elles se Volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur ;

- ✓ Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires, la solubilité est plus ou plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite « eau distillée florale » [9].

I.1.5.2 la biosynthèse dans les plantes

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante que sont les protéines, les lipides, les sucres..., elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles, certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse [10].

I.1.6 Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques **Tableau I.3** :

Tableau I.3 : Principales propriétés des huiles essentielles [8].

Propriétés thérapeutiques	Définition	Huiles essentielles
Propriétés Anti-infectieuse	Réduit l'inflammation.	Cajeput, camomille, lavande, menthe, rose.
Propriétés antibactérienne	Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus	clou de girofle
Propriétés antivirale	Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales.	Ravintsara, Bois de Hô, Cannelle de Ceylan.
Propriétés antifongique	Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue.	cannelle, girofle, niaouli
Propriétés antiparasitaire	Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites.	thym à linalol,
Propriétés antiseptique	Détruit les microbes et empêche leur prolifération.	Bergamote, citron, eucalyptus, genévrier, lavande, orange douce, pin, romarin, santal, teatree, thym.
Propriété insecticide	Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes	Citronnellal, citronné, citronnelle.
Propriétés anti-	Réduit l'inflammation.	Cajeput, camomille,

inflammatoires		lavande, menthe, rose.
Propriétés digestives	Les huiles essentielles de cumin (avec la molécule de cuminal), d’anis étoilé ou par exemple d’estragon ont une action digestive et apéritive.	menthe poivrée
Calmantes, anxiolytiques :	Les aldéhydes type citrals	Mélicse,
Analgésiques, antalgiques :	Atténue la douleur.	Bergamote, cajepu, camomille, lavande, menthe, romarin, teatree.
Cicatrisante	Favorise la formation de nouveaux tissus.	Encens, lavande, néroli, rose, santal.

I.1.7 Méthodes d’extraction des huiles essentielles

On peut extraire les huiles essentielles par différents procédés d’extractions. La **figure I.1** résume ces procédés :

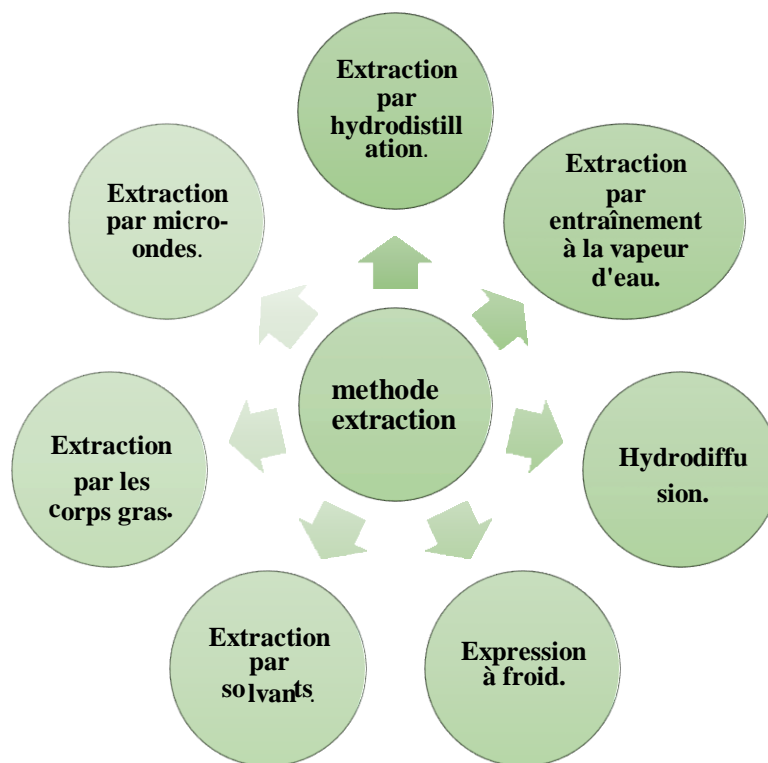


Figure I.1 : Différentes méthodes d’extraction des huiles essentielles.

Parmi ces méthodes, on cite deux méthodes d’extraction par distillation : hydrodistillation et l’extraction par entraînement à la vapeur d’eau où la première fait partie des procédés de notre travail.

I.1.7.1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée (**Figure I.2**). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur.

La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clvenger [3].

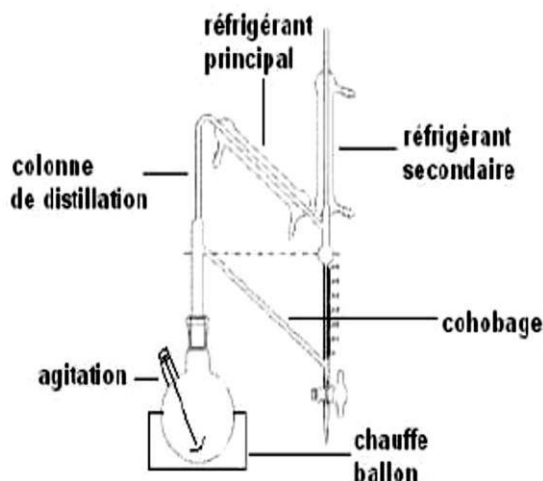


Figure I.2 : Montage d'hydrodistillation[3].

I.1.7.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE (**Figure I.3**). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters [11].

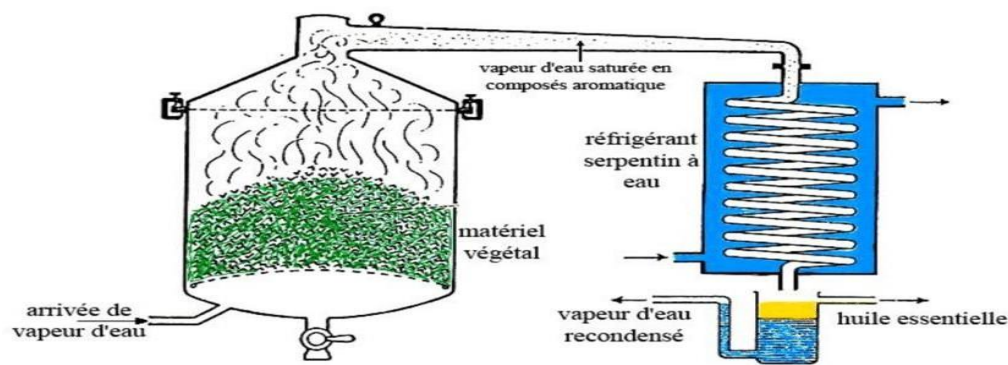


Figure I.3 : Montage de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau [3].

I.1.8 Toxicité des huiles essentielles

Tout produit renfermant de nombreux principes actifs présente un risque de toxicité. La toxicité d'une huile essentielle dépend de plusieurs facteurs : sa composition biochimique, le taux auquel une molécule toxique est présente dans une HE donnée, la manière de l'appliquer (par voie orale ou sur la peau), le dosage et la durée d'application. Pour faire un usage sûr et efficace de ces remèdes aux multiples vertus, il faut les connaître et respecter scrupuleusement les conseils d'usage. Il est impératif de garder à l'esprit que toute huile essentielle, même si elle ne contient pas de molécules répertoriées comme étant toxiques, peut engendrer une réaction allergique. Avant toute application d'une huile essentielle sur la peau, il faut la tester impérativement en appliquant 1 goutte dans le pli du coude pour voir s'il y a une réaction allergique [12].

I.1.9 Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des matières vivantes facilement oxydables qu'il faut conserver efficacement de l'oxygène de l'air. Il conviendra donc, après chaque manipulation, de refermer correctement leur flacon. Sinon, étant donné leur composition très volatile, on pourra se retrouver rapidement devant un flacon vide. De plus, pour éviter la lumière, elles doivent être conservées dans des flacons spécifiques, ambrés, en verre ou en Aluminium. De préférence, les flacons seront même vernissés à l'intérieur pour éviter une éventuelle oxydation. Un grand nombre d'huiles étant réactives, il est plus sage de conserver toutes vos huiles essentielles dans un lieu frais et sombre. Le réfrigérateur pourrait d'ailleurs s'avérer un endroit de choix. Cependant, il faudra penser à les sortir du réfrigérateur quelques minutes avant de les utiliser, car certaines d'entre elles s'épaississent lorsqu'elles sont refroidies [13].

I.1.10 Critères de qualité des huiles essentielles

Les substances chimiques de synthèse sont des substances mortes dont les déchets non éliminés et stockés dans certains organes perturbent et dévitalisent l'homme. A l'inverse, les huiles essentielles sont des produits naturels qui développent une revitalisation intense de l'organisme. Pourtant, l'obtention d'une huile essentielle de qualité thérapeutique se révèle être un processus particulièrement délicat car cette H.E.C.T. doit impérativement répondre à de nombreux critères de qualité [14] :

- ✓ Certification botanique : L'application de la plante doit préciser le genre, l'espèce, la Sous-espèce, le cultivar afin d'empêcher toute erreur issue des noms vernaculaires. Ex : *Aniba Rosaeodora var. amazonica* - *Helichrysum italicum. Serotinum*.
- ✓ L'origine géographique : Le nom du pays ou d'une région apporte des précisions Intéressantes sur le biotope (l'environnement) de la plante aromatique et caractérisera sa Composition biochimique particulière.
- ✓ Mode de culture : Cette précision vous dira si la plante est sauvage ou cultivée et issue D'une culture biologique (label BIO) ou non.
- ✓ Stade de développement botanique : Les caractéristiques des chémotypes dépendent Parfois du stade de développement : cueillette avant, pendant ou après floraison...
- ✓ L'organe distillé (ou pressé pour les zestes de Citrus uniquement) : La composition Biochimique des huiles essentielles chémotypes varient en fonction de la partie Ou organe de la plante distillée.
- ✓ Mode d'extraction : La composition des H.E.C.T, peut varier selon le mode d'extraction utilisé : distillation, Hydrodistillation, percolation, expression.
- ✓ Chémotypes ou chimiotype : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse indique les molécules fondamentales pour une bonne utilisation des H.E.C.T.

I.1.11 Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que [15] :

I.1.11.1 L'industrie pharmaceutique

Les Huiles essentielles peuvent être utilisées comme :

- ✓ Principes actifs dans des formulations pharmaceutiques.
- ✓ Elles peuvent aromatiser des médicaments destinés à la voie orale.

I.1.11.2. Parfumerie et cosmétologie

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines Huile essentielle constituent des bases des parfums.

- ✓ Exemples : Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc...

I.1.11.3 Industrie agro-alimentaire

Les Huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

Tous les segments alimentaires sont consommateurs des huiles essentielles : alcools, boissons non alcoolisées, confiseries produits laitiers, produits carnés, sauces, soupe, snacks, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale.

I.2 Présentation de la plante de la Sauge officinale (*Salvia officinalis*)

I.2.1 Historique

La sauge possède des vertus un peu semblables à celles du romarin. Chez les Grecs et les Romains, on s'en servait pour conserver la viande, pour améliorer la mémoire, pour cicatriser les blessures et pour aider à la digestion.

Selon le naturaliste romain Pline, la sauge pouvait servir à soigner les morsures de serpents, l'épilepsie, les vers intestinaux et les problèmes d'estomac, chez les Grecs, Dioscoride vantait ses qualités diurétiques et antiseptiques, et la recommandait pour les problèmes d'ordre menstruel.

Les Arabes, quant à eux, la considéraient comme la plante pouvant procurer l'immortalité, rien de moins. Au Moyen Age, les Français lui avaient donné le nom de « toute bonne », pour ses vertus quasi illimitées. En Allemagne, Hildegarde de Bingen la prescrivait pour les maux de tête et les problèmes gastro-intestinaux et respiratoires, du rhume et la tuberculose.

Au cours de leurs visites en chine, les Néerlandais échangeaient une livre de sauge contre trois livres de thé. Les guérisseurs chinois s'en servaient pour combattre l'insomnie, la dépression, les troubles mentaux et l'inflammation des mamelons chez les femmes qui allaitaient, les Indiens ajoutèrent le traitement des hémorroïdes, de la gonorrhée, de la vaginite et des problèmes oculaires.

Les guérisseurs Américains s'en servaient pour traiter l'insomnie, l'épilepsie, le mal de mer, la fièvre, la rougeole et les problèmes intestinaux [16].

I.2.2 Définition

La Sauge officinale (*Salvia officinalis*. L.), appartenant à la famille de la labiée (Lamiacées), est formée de petits arbustes aux fines feuilles du venteuses, à l'odeur camphrée caractéristique. C'est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle. A côté d'une utilisation artisanale (alimentation familiale et médecine populaire), cette plante et surtout ses huiles essentielles sont utilisées par les industries de la parfumerie et de la cosmétologie, par l'industrie alimentaire et enfin par l'industrie pharmaceutique [17].



Figure I.4: *Salvia officinalis* L. [17]

I.2.3 Nomenclature

Le nom du genre *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie « sauver » et « Guérir » et *officinalis* signifie « médicinale », les noms vernaculaires sont [18] :

- ✓ **En français :** Grande sauge, thé d'Europe, herbe sacrée.
- ✓ **En arabe :** Souak ennebi, salmia et maramia.
- ✓ **En kabyle :** Tazourt.

I.2.4 Habitat et Culture de la Sauge officinale

1.2.4.1 Habitat

Sauge officinale est une plante très répandue dans la région méditerranéenne, souvent cultivée dans les jardins. Il existe plusieurs variétés de sauge communes dans le tel algérien mais elles sont moins connues ou moins appréciées que *Salvia officinalis*, qui est cultivée dans les jardins comme plante ornementale [19].

1.2.4.2 Culture de la sauge

a) Méthodes de culture de la *Salvia officinalis* :

La Sauge se multiplie par semis, division des touffes ou bouturage. Les plantations se font au mois d'avril. Si vous faites des semis, semez en surface et laissez les graines prendre de la lumière pendant un ou deux jours avant de les recouvrir de terre [20].



Figure I.5 : Culture de la Sauge[20].

b) Période de récolte

Les feuilles peuvent être récoltées durant toute l'année au fur et à mesure des besoins mais la meilleure période se situe juste avant la floraison au printemps [20].

I.2.5 Description

La sauge est une plante annuelle et vivace, appartenant au genre le plus important de la famille des Lamiaceae, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre Sauge. Il possède de nombreuses tiges quadrangulaires ligneuses, velues, qui mesurent de 50 à 100 cm (**figure I.6**) [21].



Figure I.6 : Plante *Salvia officinalis* fleurs et feuilles.

I.2.5.1 Caractéristiques

- ✓ **La tige :** est ligneuse à la base de 30 à 60 *cm* de hauteur, de tiges formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus (**figure I.7**) [22].



Figure I. : Tige de la Sauge officinale [20].

- ✓ **Les feuilles :** ovales et allongées, rugueuses, épaisses, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure, ont une odeur aromatique caractéristique (**figure I.8**) [22].



Figure I.8: Feuilles de la Sauge officinale [20].

- ✓ **Les fleurs** : la Sauge officinale sont des petites fleurs bleu- violettes, qui s'épanouissent en juin ou juillet. Elles sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures (**figure I.9**) [22].



Figure I.9 :Fleurs de Sauge officinale [15].

I.2.6 Classification botanique

La classification botanique de Sauge officinale [23] est présentée dans **le tableau 4**.

Tableau I.4 : Classification botanique de Sauge officinale [23].

Règne	Planta
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Magnoliophytes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i>

I.2.7 Composition chimique

I.2.7.1 Huiles Essentielles

Sa teneur en extraits de Sauge officinale varie de 0.8 à 2.5 % d'huile essentielle, et sa composition était très étudiée [24].

Les principaux constituants identifiés dans cette huile, par la CG-SM, sont illustrés dans le **tableau I.5**.

Tableau I.5 : Composition chimique de l'huile essentielle de Sauge officinale [22].

Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
α -thuyéne	0,10	α -thuyone	24,88
α -pinène	3,5	β -thuyone	8,08
camphène	3,14	Camphre	16,03
2- β -pinène	0,58	1-bornéole	4,31
β -myrcène	0,59	1,4-terpeniole	0,81
α -terpinène	0,89	Acetate	2,68
1,8-cinéole	9,79	d'endobornyl	0,82
γ -terpinène	0,15	Caryophyllène	3,9
veridiflorol	7,87	β -selinène manool	3,22

I.2.7.2 Composés phénoliques

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpénique sont considérées commendes constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénols Carboxyliques (rosmarinique, caféique, l'orogénique, p-coumarique et férulique), des principes amers diterpéniques, des triterpénepentacycliques (acides ursolique, crategolique, oléanolique etc.), des phytostérols et des flavones [25].

Tableau I.6 : Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de la sauge officinale [25].

Classe	Composé
Acides	Acide gallique, Acide 3-0-caffeoylquinique, Acide 5-0-caffeoylquinique, A ci de caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique et dérivée, Melitrate A méthyl saugecoumarine, Acide saugerinique, Tanshinone II A, Acide lithospermique, Acide yunnanéiques, Acide A melitrique, Acide royleanonique et Acide oléanolique.
Phénoliques	Acide carnosolique, Rosmadials, Carnosote de méthyl, Carnosol, Epirosmanol, Epiisorosmanolmethylether et Epiisorosmanoethylether.
Acide gallique, Acide 3-0-caffeoylquinique, Acide 5-0-caffeoylquinique, A ci de	Hespéridine, Apigénine, Hispiduline, Cirsimaritine, Genkwanine, Lutéoline et Luteoline 7- glucoside.
caféique, Acide rosmarinique,	Catéchine et Salvia tannins.

I.2.8 Activités biologiques

Les extraits des plantes médicinales possèdent de nombreuses activités telles que :

I.2.8.1 Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme, c'est une technique de laboratoire identique à celle de l'antibiogramme. Ce dernier sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

L'aromatogramme 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 [21].

I.2.8.2 Activité antioxydante

Les antioxydants sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à faible concentration par rapport au substrat oxydable, retardent ou stoppent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre redox cellulaire. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques [22].

I.2.8.3 Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse physiopathologique de la blessure, d'une infection ou d'une destruction caractérisée par la chaleur, la rougeur, la douleur et le gonflement. L'inflammation est une réaction normale de corps pour se protéger des lésions causées par des traumatismes physiques, agents chimiques ou microbes pathogènes. C'est la réponse de l'organisme pour inactiver ou détruire les organismes envahisseurs, pour éliminer les irritants [26].

I.2.9 Usage de la Sauge officinale

La sauge a été employée comme une plante à plusieurs propriétés pendant des millénaires.

I.2.9.1 Usage médicinal et pharmaceutique

✓ Stimulant pour les gens anémiques,

- ✓ Ses effets antioxydants et sa capacité à améliorer la fonction « tête et cerveau », à améliorer la mémoire, à stimuler les sens et à retarder le déclin cognitif associé à l'âge ; elle est conseillée pour les personnes stressées et déprimées et les étudiants en période d'examen.
- ✓ Elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies. et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices.
- ✓ Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpent
- ✓ Elle a été principalement utilisée pour traiter l'infertilité dans les anciens L'Egypte
- ✓ Elle est utilisée pour traiter presque tous les types de maladies, y compris la Peste.
- ✓ Elle est utilisée comme tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux.
- ✓ Elle est anti-sudorifique excessif [21].

I.2.9.2 Utilisations cosmétiques

L'espèce Saugue présente un grand intérêt en cosmétologie. La sauge est largement introduite dans les produits de beauté et les parfums. La sauge peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et ses crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches [10].

I.2.9.3 Usages alimentaires

- ✓ La sauge est largement utilisée dans la préparation de nombreux aliments, en raison de ses propriétés aromatisantes et assaisonnâtes.
- ✓ Les feuilles de la Saugue sont un condiment courant, apprécié depuis l'antiquité, elles peuvent être consommée fraîches, elles sont employées comme aromates en cuisine.
- ✓ Les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures.
- ✓ Au Mexique et en Amérique latine, les graines de sauge sont intensivement employées comme source de nourriture et aussi pour préparer des boissons.
- ✓ La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de Saugue officinale connue par son activité antioxydante élevée. Afin de protéger les denrées alimentaires contre la détérioration oxydative [19].

Conclusion

Les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle pour l'homme pour au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques. L'homme a toujours trouvé des moyens et des techniques pour extraire des produits actifs. Ce chapitre a résumé l'essentiel de théorie liée aux plantes médicinales et à la plante choisie pour l'étude : la sauge. Dans le chapitre suivant, on représentera des notions sur les pommades, et la rhéologie.

Chapitre II : Pommades et Rhéologie

Les huiles essentielles présentent un intérêt thérapeutique qui a conduit à leurs introductions dans différentes formulations médicamenteuses, soit comme principes actifs PA soit comme excipients pour obtenir plus d'efficacité et sans crainte de dépasser les doses autorisées et pour faciliter l'utilisation et large domaine d'application. Dans ce chapitre nous présentons les pommades : compositions, utilisation et des notions sur la rhéologie des pommades.

II.1 Formulation d'une pommade

II.1.1 Structure et fonctions de la peau

La peau, ou membrane cutanée est un organe en constant renouvellement, recouvre la surface externe du corps. Elle constitue l'organe le plus lourd (masse) et le plus étendu (superficie) du corps humain [27].

Sur un plan structural, la peau comprend trois couches superposées de tissus qui correspondent, de la surface à la profondeur, à l'épiderme, au derme puis à l'hypoderme (Figure 2.1). Elle a une épaisseur de 0,5 à 5 mm selon les localisations du corps, sa surface est d'environ de $1,75 - 2m^2$, son poids atteint $3,5 - 4kg$ et elle renferme 20% de la totalité de l'eau du corps humain. C'est une structure en mille-feuille à la fois imperméable, résistante et souple, peuplée d'organites spécialisés dans l'alerte et la défense ou la réparation [28].

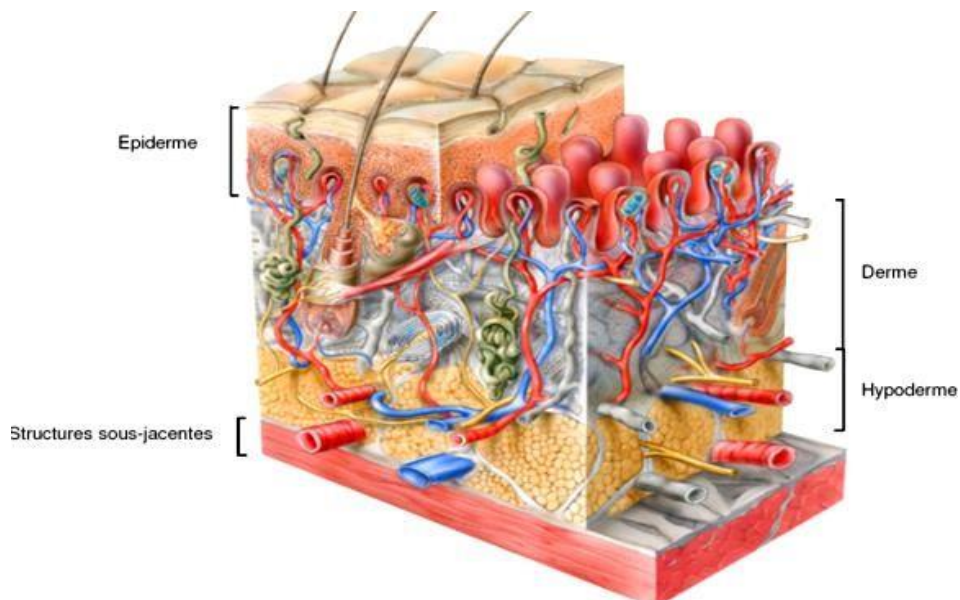


Figure II.1 : Schéma de la structure de la peau humaine [28].

II.1.2 Aspects qualitatifs et quantitatifs de l'absorption cutanée

La couche cornée, faite de cornéocytes non-vivants fermement liés et de voies de transport non perceptibles telles les glandes sébacées et sudoripares, peut être envisagée comme une membrane passive. La plupart des substances la traverseront proportionnellement au gradient de concentration entre le côté supérieur et inférieur de la membrane. Ainsi on peut appliquer la loi de Fick, du moins tant que la concentration en surface est grande et la concentration dans l'épiderme faible.

Pour parvenir à l'épiderme vivant, c'est à dire traverser le stratum corneum, une molécule a trois possibilités. Elle peut diffuser entre les cellules, à travers les cellules ou à travers les follicules pilo-sébacés ou les glandes sudoripares.

L'importance relative de chacune des voies paraît être influencée par les caractéristiques du produit appliqué et celles de la surface cutanée [27].

- ✓ Diffusion intracellulaire : autrefois considérée comme la voie majeure, désormais controversée ;
- ✓ Diffusion intercellulaire (espaces lipidiques) : voie préférentielle pour de nombreuses molécules, même polaires comme l'eau. Les modalités de pénétration restent encore obscures ;
- ✓ Diffusion à travers les annexes cutanées : bien que la surface couverte par les annexes cutanées soit inférieur à 1% de la surface cutanée, l'absence de barrière cornée au niveau de ces annexes favorise l'absorption des molécules. Cette voie interviendrait au cours des premières minutes de diffusion des molécules plus ou moins polaires. En fait, elle bénéficie surtout aux molécules de grande taille et de faible polarité pour lesquelles elle est la seule issue possible. En effet, selon les mêmes auteurs, la plupart des molécules traversent la couche cornée en empruntant la voie intercellulaire.

II.1.3 Facteurs influençant la pénétration à travers la peau

Parmi les facteurs influençant la pénétration à travers la peau telle que [29] :

- ✓ La nature du principe active (PA).
- ✓ Les excipients constituant la base de la pommade.
- ✓ Région d'application.
- ✓ Le degré d'hydratation de la peau.

- ✓ Le flux sanguin.
- ✓ Le mode d'application.
- ✓ L'état de la peau.
- ✓ Le PH de la pommade.

II.1.4 Définition de la pommade

Les pommades sont des préparations de consistance molle, obtenues par le mélange d'une substance médicamenteuse avec un excipient approprié ; elles sont appliquées sur la peau soit dans le but d'administrer des médicaments par voie dermique, ou pour obtenir une action locale superficielle. Les pommades qui contiennent des résines sont appelées des onguents et celles renfermant une forte proportion de poudres sont des pâtes dermiques [30].

II.1.5 Classification des pommades

Nous pouvons classer les pommades de la manière suivante [31] :

II.1.5.1 Pommades hydrophobes ou lipophiles

Les pommades hydrophobes (lipophiles) ne peuvent absorber normalement que de petites quantités d'eau. Les substances les plus communément employées pour la formulation de telles pommades sont la vaseline, la paraffine, la paraffine liquide, les huiles végétales ou les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides.

II.1.5.2 Pommade absorbant l'eau

Ces pommades peuvent absorber des quantités plus importantes d'eau. Leurs excipients sont ceux d'une pommade hydrophobe dans lesquels sont incorporés des émulsifiants du type eau-dans-huile tels que la graisse de laine, des alcools de graisse de laine, des esters de sorbitane, des monoglycérides, des alcools gras.

II.1.5.3 Pommades hydrophiles

Les pommades hydrophiles sont des préparations dont les excipients sont miscibles à l'eau. Ces derniers sont constitués habituellement par des mélanges de polyéthylèneglycols (macrogols) liquides et solides. Ils peuvent contenir des quantités appropriées d'eau.

II.1.6 Intérêts thérapeutiques des pommades

Les pommades à côté de leurs propriétés thérapeutiques dans le traitement des affections dermatologiques peuvent soit ramener le pH cutané à la normale soit maintenir autant que possible la surface de la peau à son pH normal

Elles ont une action générale par la voie cutanée sans passer par le foie, en plus de leur application dermique, elles peuvent être appliquées sur les muqueuses [32] :

- ✓ Rectale ;
- ✓ Vaginale ;
- ✓ Conjonctivale.

II.1.7 Principe actif

Le principe actif C'est une substance qui détermine l'activité de la préparation. C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal. Est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Ajouté à faible dose mais peut assurer l'efficacité du produit [33].

II.1.8 Excipient

Composant du médicament qui ne lui confère pas ses propriétés thérapeutiques ou préventives, mais qui peut jouer un rôle notamment dans l'absorption (assimilation) et la stabilité du médicament et conditionnant son aspect, sa couleur, son goût [34].

II.1.8.1 Types des excipients utilisés pour les pommades

Suivant la nature de l'excipient, la préparation peut avoir des propriétés hydrophobes ou lipophiles et contenir des additifs appropriés. Ceci nous permet de faire une classification non exhaustive des excipients [32].

Tableau II.1 : Classification des excipients utilisés pour la prédation des pommades [32].

Excipients anhydres	Glycérides	Oxonge	
		Saindoux	
		Huile végétale	
		Huile hydrogénée	
	Cires	Lanoline	
		Cire d'abeille	
		Palmitate de cétyle	
	Hydrocarbures	Vaseline	
		Perhydrosqualène	
		Paraffine	
		Silicones	
	Polyoxyéthylènes- glycols et homologues		
	Excipients hydratés ou hydrogels	Gels de produits minéraux	Bentonite
Clarsol			
Silice			
Gels de polymères organiques		Alginate	
		Gélose	
		Pectine	
		Lanoline	
		Kaogel	
Excipients émulsionnés		Excipients émulsionnés E/H	
		Excipients émulsionnés H/E	

II.1.9 Préparation des pommades

Selon la pharmacopée française, les pommades doivent être homogènes.

Il faut donc préparer un mélange onctueux facilement applicable dans lequel les composants solubles ou insolubles sont parfaitement dispersés et non visibles à l'application. En fonction des excipients, elles devront être préparées au moment du besoin pour éviter leur rancissement.

Le mélange des différents composants est réalisé en fonction du lieu de la préparation et des quantités à préparer.

D'une façon générale la préparation des pommades s'effectue en deux temps :

- ✓ le mélange des excipients qui se fait le plus souvent en commençant par celui qui a le point de fusion le plus élevé, soit dans l'ordre des quantités croissantes ;
- ✓ l'addition des principes actifs solides ou liquides qui s'effectue en fonction de leur solubilité et de leur état solide insoluble ou liquide.

La préparation des pommades s'effectue généralement par trituration lorsque le principe actif est insoluble dans l'excipient ou dans l'eau.

On peut aussi préparer les pommades après incorporation du principe actif préalablement dissout dans l'eau ou ramollit dans la glycérine ou encore en réalisant le mélange par fusion ou par digestion. S'il s'agit d'incorporer des liquides, on dispose la totalité de l'excipient dans le mortier et non les liquides, on enduira le mortier et le pilon de l'excipient. L'ajout des liquides.

S'effectuera peu à peu en triturant jusqu'à absorption complète. On terminera la préparation par battage énergique.

Si l'excipient est la vaseline, il faudra faciliter l'incorporation des liquides en additionnant à cette vaseline un peu de cholestérol (1%).

Les pommades seront ensuite conditionnées dans des pots ou des tubes [30].

II.1.10 Control de qualité

Les produits semi-solides sont souvent des systèmes complexes d'une stabilité relative, ce qui explique la diversité des essais proposés.

Dans la période de conception, une grande diversité de contrôles est nécessaire pour définir les caractéristiques du nouveau médicament.

En routine, les contrôles à effectuer ont pour but de s'assurer de la reproductibilité du produit ; leur choix varie avec la stabilité de la forme et avec les paramètres critiques du procédé de fabrication. Ils sont en général simples et d'autant moins nombreux qu'il a été démontré en cours de validation qu'il y a des interdépendances entre eux.

À la limite d'utilisation, les contrôles ont pour but de vérifier que la préparation est toujours conforme aux spécifications du dossier d'AMM. Sélectionnés en période de mise au point, ils sont plus approfondis que les essais de routine [31].

II.1.10.1 Homogénéité

Toute préparation résulte d'une opération de mélange dont l'efficacité doit être vérifiée.

Le dosage du principe actif est un élément de ce contrôle.

Macroscopiquement, on vérifie l'homogénéité d'une préparation par étalement en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. Cet essai est complété par un examen au microscope qui permet de bien contrôler la dispersion des poudres ou des gouttelettes de liquides dans une émulsion. Lorsque la taille des particules des composants incorporés a une influence sur l'activité thérapeutique, elle doit être contrôlée.

II.1.10.2 Détermination de la consistance

- ✓ viscosité (viscosimètres à écoulement, à mobile tournant, etc.) ;
- ✓ dureté : l'essai consiste à mesurer l'enfoncement d'un mobile, en général conique, dans le produit semi-solide, dans de conditions rigoureusement définies.
- ✓ force d'extrusion : mesure de la force nécessaire pour expulser une quantité déterminée de pommade à partir d'un tube ;
- ✓ capacité d'étalement : mesure de la surface d'étalement sous l'action d'une force déterminée ;
- ✓ pouvoir d'adhésion : mesure du temps nécessaire pour séparer deux surfaces solides enduites de pommade à l'aide d'un poids donné.

II.1.10.3 Potentiel d'Hydrogène pH

Le pH d'une préparation est intéressant à connaître car il peut avoir des influences sur la stabilité d'une émulsion ou d'un gel, sur la viscosité de certains gels, sur la stabilité des principes actifs, sur la compatibilité avec les excipients, sur l'activité des conservateurs et surtout sur le pH de la peau qu'il peut modifier.

II.1.10.4 Stérilité

Si la préparation est destinée à être appliquée sur des plaies ouvertes importantes ou sur une peau gravement atteinte, il y a intérêt à ce qu'elle soit stérile.

La qualité microbiologique des fabrications et l'efficacité des conservateurs antimicrobiens doit être vérifiée.

II.1.10.5 Essais de diffusion ou de biodisponibilité

Au cours de la mise au point, des essais *in vitro* peuvent être envisagés pour voir si la préparation cède bien son ou ses principes actifs à une phase aqueuse.

L'essai *in vitro* donne quelques renseignements mais ne permet pas de se rendre compte de ce qui se passera exactement sur des tissus. Pour cela, des essais sur l'animal et sur l'homme sont toujours nécessaires.

II.1.11 Conservation

Les préparations pour application cutanée doivent être conservées dans des récipients bien clos. Ceci est particulièrement important lorsqu'il y a une phase aqueuse qui risque soit de s'évaporer, soit d'être contaminée. Les bouchons de liège doivent être évités dans la mesure du possible, car ils contiennent toujours des germes de moisissures. De toute façon, lorsqu'il y a une phase aqueuse, il faut ajouter des conservateurs antimicrobiens. Avec les glycérides, les antioxydants sont souvent nécessaires [31].

II.2 Rhéologie des fluides complexes

La rhéologie (du grec *rheo* qui signifie couler et *logos* qui signifie étude) est un mot créé aux états unis en 1928 par Eugène Cook Bingham (1878-1945), est une branche de la physique qui étudie de l'écoulement ou la déformation de la matière sous l'action de contraintes. La rhéologie joue un rôle important dans les procédés de mise en œuvre des produits cosmétiques, à savoir notamment la rationalisation des opérations de mélange et de dispersion [35].

II.2.1 Grandeur fondamentaux de rhéologie

Deux grandeurs physiques fondamentales composent la rhéologie : une grandeur physique Dynamique appelée contrainte de cisaillement (shear stress en anglais) et deux grandeurs Physiques cinématique appelées déformation (shear strain) et vitesse de cisaillement (shear Rate) [36].

II.2.1.1 Contrainte de cisaillement

La contrainte de cisaillement (notée τ) est la grandeur dynamique fondamentale en rhéologie. Au cours d'un mouvement laminaire de cisaillement, deux couches successives au contact l'une de l'autre se déplacent relativement l'une par rapport à l'autre. Il apparaît à l'interface de ces deux couches des forces de frottement qui s'exercent tangentiellement à la surface de la couche, elles sont appelées force de cisaillement (**figure II.2**) [37].

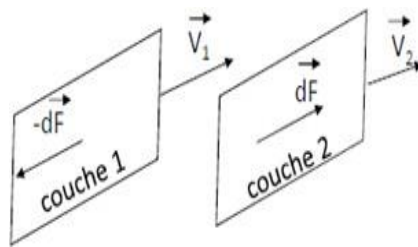


Figure II.2 : Forces agissant sur deux éléments de couches voisines [37].

La contrainte de cisaillement τ est définie comme le rapport entre la force appliquée au matériau et la surface d'application de cette force. Elle est donnée par l'équation (II.1) :

$$\tau = \frac{dF}{dS} \tag{II.1}$$

Où τ : Contrainte de cisaillement en Pa ou N/m², **dF** : Projection de la force de frottement Tangentielle et **dS** : Surface élémentaire d'une couche cisillée.

II.2.1.2 Déformation

La déformation γ est le gradient de déplacement, c'est-à-dire la variation du déplacement Entre deux couches de fluide successives, rapportée à la distance entre ces couches. Elle est Donnée par l'équation (II.2) [38].

$$\gamma = \frac{dx}{dy} \tag{II.2}$$

Cette grandeur est sans unité et s'exprime en %.

II.2.1.3 Vitesse de déformation

La vitesse de déformation ou la vitesse de déformation ou encore le taux de cisaillement, traduit la variation de la déformation au cours du temps. Autrement dit, elle est le rapport

entre la déformation et le temps nécessaire à celle-ci pour se produire [39]. Donnée par l'équation II.3 :

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{d}{dt} \left(\frac{dx}{dz} \right) = \frac{d}{dz} \left(\frac{dx}{dt} \right) = \frac{dv}{dz} \quad \text{II.3}$$

II.2.1.4 Viscosité dynamique

La viscosité dynamique (η) est une propriété physique d'un fluide. Elle traduit la capacité d'entraînement exercée par une couche fluide en mouvement sur les autres couches adjacentes. D'après l'hypothèse de Newton, la viscosité dynamique est définie comme le rapport entre la contrainte de cisaillement et la vitesse de déformation [39]. Elle est donnée par l'équation (II.4) :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad \text{II.4}$$

Avec : η : Viscosité dynamique (en **Pa.s**), τ : Contrainte de cisaillement (en **Pa**) ou **N/m²** et $\dot{\gamma}$: Vitesse de déformation.

II.2.2 Fluide Newtoniens et non Newtoniens

Les comportements sont classés en deux types : comportement Newtonien et comportement Non Newtonien.

II.2.2.1 Fluide Newtonien

Les mouvements les plus fréquemment mis en œuvre en rhéologie sont les mouvements de cisaillement. Un mouvement de cisaillement est classiquement représenté par le mouvement d'un échantillon entre deux faces planes, l'une au repos, l'autre animée d'un déplacement parallèle à elle-même. Sous l'effet de ce cisaillement, le matériau s'écoule en couches planes, parallèles entre elles, animées de vitesses différentes qui varient continûment entre 0 pour la couche en contact avec la surface fixe et V pour celle en contact avec la surface mobile (Figure II.3).

Le taux de cisaillement noté $\dot{\gamma}$ caractérise la variation de vitesse entre ces deux couches limites. Elle est égale au quotient de la vitesse V et de l'épaisseur e de l'échantillon e , donné par l'équation II.5 :

$$\dot{\gamma} = \frac{V}{e} \tag{II.5}$$

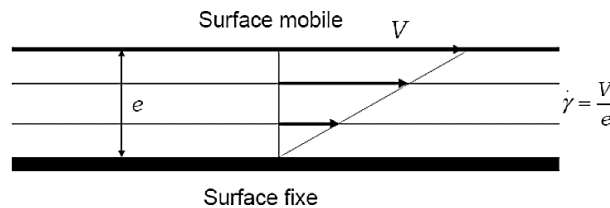


Figure II.3 : Mouvement de cisaillement entre deux surfaces planes [40].

Les différentes couches se déplaçant les unes par rapport aux autres, des forces de frottement apparaissent entre ces couches et s'exercent tangentiellement à leur surface. Ces forces rapportées à l'unité de surface définissent la contrainte de cisaillement notée τ . Le rapport de la contrainte au taux de cisaillement est appelé coefficient de viscosité et est classiquement noté η . Pour le cas des liquides newtoniens, il y a proportionnalité entre contrainte et taux de cisaillement ainsi la viscosité est la même quelle que soit le taux de cisaillement et est définie par l'équation (II.4)[40].

Les Rhéogrammes des fluides newtonien ont l'aspect suivant :



Figure II.4 : Diagrammes caractéristiques des fluides newtoniens [41].

II.2.2.2 Fluide Non Newtonien

On dit d'un fluide qu'il est non-Newtonien lorsque sa courbe d'écoulement est non linéaire, c'est-à-dire que la viscosité n'est plus constante mais dépend des conditions d'écoulement, du taux de cisaillement et parfois même de l'histoire de l'élément fluide. La caractérisation

rhéologique d'un fluide consiste à établir la relation qui existe entre sa déformation et la contrainte qui lui est appliquée. En fonction de sa réponse, il sera dit dépendant du temps ou non [42] :

- Fluides indépendants du temps : le comportement rhéologique est indépendant de l'histoire mécanique antérieure de l'échantillon.
- Fluides dépendant du temps : le comportement rhéologique dépend en outre de la durée de cisaillement et de l'histoire de l'échantillon.

II.2.3 Types des rhéomètres et équipement

Le rhéomètre, comme celui présenté dans la (**figure II.5**), est un appareil conçu spécialement pour mesurer les propriétés rhéologiques des fluides. Il permet une caractérisation plus complète en termes de viscosité, de plasticité (seuil d'écoulement) et d'élasticité. Il constitué d'un axe de rotation lié à un moteur qui peut être soit à vitesse imposée, soit à un couple imposé et d'une cellule de mesure.



Figure II.5 : Rhéomètre à contrainte imposée de type Antan Paar MCR 302.

(Laboratoire FIMA, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana)

La cellule est composée d'une partie fixe (stator) et d'une partie mobile (rotor), Les mobiles sont soit des cônes (système cône/plan), soit des plans (système de plans parallèles) ou des cylindres (systèmes de cylindres coaxiaux). Le fluide à étudier est confiné entre le rotor et le stator dans une zone appelés entrefer. Les trois grandeurs expérimentales qui entrent en jeu lors de la mesure sont le couple mécanique appliqué (mesuré), la vitesse angulaire ω de rotation du rotor et l'angle de rotation du rotor mesuré à partir de la position au repos [43].

II.2.3.1 Type de rhéomètre

Les appareils permettant de caractériser les propriétés rhéologiques des gels et lotions cosmétiques et pharmaceutiques de types semi-solides sont :

- rhéomètres à contraintes imposées
- rhéomètres à déformations imposées

Il existe d'autre classification : rhéomètre capillaire ou rotatif. Dans cette étude, on s'intéresse au Rhéomètre rotatif à contrainte imposée. Pour celui-ci, le fluide est soumis à un cisaillement entre deux surfaces solides, l'une en rotation autour de son axe (nommée rotor), et l'autre immobile (nommée stator) [35]. Les rhéomètres rotatifs sont classés en deux familles : rhéomètres à déformation imposée et rhéomètres à contrainte imposée. Ces deux types de rhéomètres peuvent être équipés de plusieurs géométries rotatives : couette (cylindres coaxiaux), cône-plan et plan-plan. Ces géométries sont représentées par les schémas de la figure II.6.

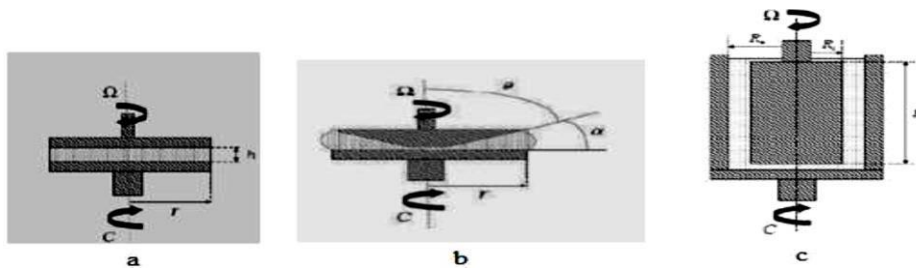


Figure II.6 : Types de Rhéomètre rotatif (type plan-plan (a), type cône-plan (b) et type Couette (c) [35].

II.2.4 Tests rhéologiques

Plusieurs types de tests peuvent être utilisés pour caractériser différents types de matériaux. Dans notre étude, on cite les trois tests indispensables pour caractériser la formule préparée et qui seront pris en étude expérimentale par la suite.

II.2.4.1 Essai d'écoulement

C'est le test le plus important dans la caractérisation de la plupart des matériaux telles que les formulations pharmaceutiques et cosmétiques. Ce cisaillement est caractérisé par un gradient

de vitesse $\dot{\gamma}$ (en s^{-1}) et une force (ou contrainte) τ (en Pa) qui est fonction de sa nature intrinsèque et de sa consistance ou plutôt de sa viscosité η (Pa.s). Si la contrainte est imposée par l'appareil, le gradient de vitesse est mesuré et inversement. L'augmentation de la force ou de la vitesse de ce cisaillement provoque l'écoulement de l'échantillon, c'est-à-dire la diminution de sa viscosité pour la plupart des formulations, c'est le caractère rhéofluidifiant des échantillons non newtoniens. Il en résulte une courbe qui peut s'exprimer sous plusieurs formes différentes : soit de la viscosité en fonction du gradient de vitesse (résultat qui nous intéresse dans cette étude), soit la contrainte de cisaillement en fonction du gradient de vitesse, soit de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement [44].

II.2.4.2 Essai de fluage

L'essai de fluage permet une meilleure compréhension des comportements rhéologiques des matériaux viscoélastiques en accédant à leurs propriétés dans des conditions proches de celles de l'état de repos. En effet, le test consiste à appliquer une contrainte constante inférieure au seuil d'écoulement du fluide puis de suivre l'évolution de la déformation engendrée au cours du temps. La relaxation du matériau s'opérant après la suppression de la contrainte correspond à la recouvrance (figure II.7). Cette dernière permet de récupérer tout ou partie de cette déformation [42]. cas des produits pharmaceutiques semi-solides [45].

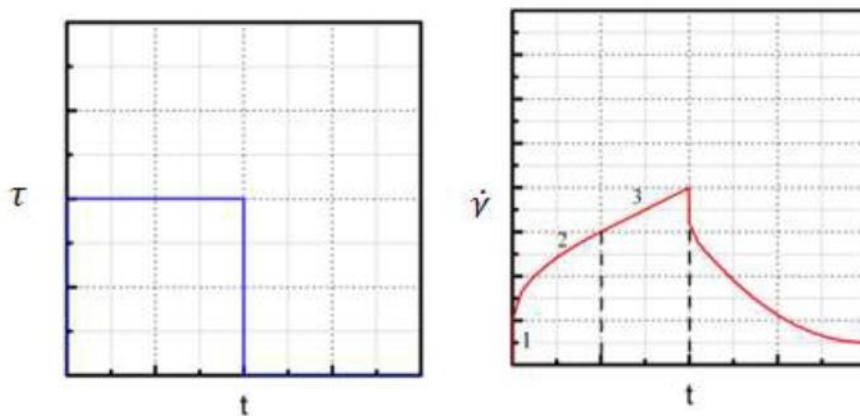


Figure II.7 : Evolution de la vitesse de déformation au sein d'un fluide viscoélastique lors d'un test de fluage [39].

II.2.4.3 Caractérisation en régime oscillatoire

La bonne caractérisation du comportement viscoélastique des fluides complexes nécessite la détermination du module de stockage G' et module de perte G'' par la méthode dynamique. Ce

test consiste à appliquer à l'échantillon une contrainte ou de déformation harmonique pour une amplitude ou une fréquence fixée. Le déphasage qui en résulte, est traduit à l'aide de méthodes électroniques appropriées, en module de stockage G' et module de perte G'' en fonction de l'amplitude ou de la fréquence [46].

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons mentionné l'essentiel de ce qui concerne les pommades et les tests de qualité, et nous avons abordé la rhéologie précisément, car elle est devenue importante, en permettant d'étudier plusieurs grandeurs qui influencent les propriétés d'un produit pharmaceutique et cosmétique. Dans le chapitre suivant nous aborderons les protocoles expérimentaux que nous avons menés dans ce travail.

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Dans la partie précédente on a présenté des notions théoriques sur, les huiles essentielles, les pommades, la rhéologie et l'utilisation des extraits naturels dans le domaine pharmaceutique. Sur la lumière de cette synthèse, nous avons réalisé une étude expérimentale sur l'huile essentielle de la plante de la sauge officinale. Dans ce chapitre, nous présentons le matériel ainsi que les techniques expérimentales utilisées dans cette étude.

Pour mener à bien ce travail, le protocole expérimental consiste est basé sur :

- 1- Extraction de l'huile essentielle de la sauge HES ;
- 2- Détermination des propriétés physicochimiques de l'HE de la sauge ;
- 3- Identification chimique de l'HE par CG/SM ;
- 4- Activité antimicrobienne de l'HES ;
- 5- Activité antioxydant de l'HES ;

III.1 Lieu et période de travail

Cette étude a été réalisée pendant les trois mois : mars, avril et mai 2023. L'huile essentielle a été récoltée de la région de Miliana, Wilaya de Ain Defla.

Le **Tableau III.1** suivant montre les différents lieux où la partie expérimentale a été réalisée.

Tableau III.1 : Lieux des parties expérimentales réalisées.

Lieu de travail		Laboratoire	Travail expérimentale
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana	Faculté ST	Laboratoire de génie des procédés	Extraction d'HE. Etude des propriétés physicochimiques (indice de réfraction). Préparation d'une pommade.
		Laboratoire d'analyse	Etude de l'activité anti-oxydante. Potentiel d'hydrogène, Densité. Activité anti-inflammatoire in vitro.
	Faculté SM	Laboratoire FIMA	Etude rhéologique
Médéa	Groupe industriel SAIDAL	Laboratoire physico- chimique et antimicrobien ne	Etude l'activité microbienne. Indice d'acide et indice de saponification.
Ain defla	Laboratoire des analyses médicales du Dr Zibouche	Laboratoire microbiologi que	Tests microbiologiques de pommade
Tipaza	Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico- Chimiques	Laboratoire d'analyse	Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

III .2 Etude de l'huile essentielle de la sauge officinale

III.2.1 Matériel végétale

Notre étude a porté sur l'espèce du « *Salvia officinalis* », une plante de la famille des Lamiacées qui est :« Sauge officinale », La plante a été confirmée par Monsieur “ **Kouache Ben Moussa** ” de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

La plante a été recueillie entre février et mars (la période de floraison de la sauge est au mois de Mars et Avril) à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, dans la Région Miliana (**Figure III.1**). Nous avons nettoyé et séché la sauge pendant plusieurs jours à l'abri du soleil, puis conservé dans un endroit sec.



Figure III.1 : *Salvia officinalis* (a- Plante fraîche de la sauge avant la floraison. b- Plante fraîche de la sauge pendant la floraison. c- feuilles sèches de la sauge).

III.2.1.1 Situation géographique

Notre plante a été récoltée au niveau de la région de Miliana qui se situe à l'est de la wilaya d'Ain Defla, Comme le montre l'image ci-dessous (**Figure III.2**) :



Figure III.2 : Situation géographique de la région d'étude (Miliana, wilaya Ain Defla).

III.2.2 La teneur en eau

La teneur en eau c'est la quantité d'eau contenue dans la plante fraîche [47].

Une prise de 100 g de feuilles de *Salvia officinalis* est disposée pour être séchée à l'air libre. L'échantillon est pesé quotidiennement jusqu'à ce que sa masse fraîche devienne constante.

$$H\% = [(m_f - m_s) / m_f] \times 100 \quad \text{III.1}$$

Où :

m_f : Poids frais de l'échantillon.

m_s : Poids sec de l'échantillon.

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

III.3 Extraction des huiles essentielle de la sauge officinale

III.3.1 Hydrodistillation

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (**Figure III.3**). Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par Hydrodistillation [9].

✓ Mode opératoire

L'extraction a été effectuée par Hydrodistillation (**figure III.3**) à l'aide d'un appareil de type "Clevenger", La partie utilisée dans l'extraction des huiles essentielles sont les feuilles et les boutons floraux (partie aérienne). Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre où l'on place le matériel végétal (50g) et de l'eau distillée (600ml), une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) où les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile se sépare par différence de densité. L'Hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger. Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon.

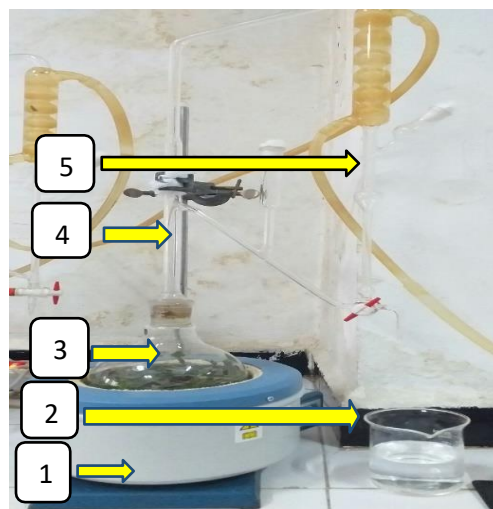


Figure III.3 : Montage d'Hydrodistillation : 1 Chauffe ballon, 2 Bêcher(l'hydrolat), 3 Ballon en verre (matériel végétal+ L'eau distillée), 4 Colonne à distillation (les vapeurs), 5 Réfrigérant (Les vapeurs d'eau condensée + HE)).

III.3.2 Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle de la sauge officinale à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier aluminium).

III.3.3 Détermination du rendement

Le rendement de l'huile essentielle (R%) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale [47], il est calculé selon l'équation suivante III.2 :

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE} / M_S) \times 100 \quad \text{III.2}$$

Où :

R % : Rendement d'huile essentielle en pourcent.

M_{HE} : Quantité d'HE récupérée exprimée obtenue.

M_S : Quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée.

III.3.4 Etude de la cinétique d'extraction

Afin de suivre l'évolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction. Nous avons mis 50 grammes de la plante dans 600 ml d'eau. La durée de l'extraction de l'huile de 1h à 1h30.

Nous avons mesuré la quantité d'huiles volatiles libérées par la plante chaque minute après l'obtention de la première goutte de l'HE.

III.4 Caractéristiques de l'huile essentielle de la sauge officinale

III.4.1 Caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle extraite est soumise à des tests afin d'évaluer ses caractères organoleptiques, notamment l'aspect, la couleur et l'odeur. Tel que :

a. Odeur

L'odorat est un sens chimique très sensible. De plus, d'après la nature du système olfactif, une substance pour être sentie doit être volatile [47].

b. Couleur

La couleur d'une huile essentielle dépend des produits qui constituent l'extrait. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur de l'huile. Cette caractéristique a été vérifiée à l'œil nu [47].

c. L'aspect

L'aspect d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent ; il peut paraître sous forme solide, liquide ou solide-liquide [47].

III.4.2 propriétés physico-chimiques

La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par les caractéristiques physicochimiques. Parmi ses caractéristiques, on cite les paramètres physico-chimiques étudiés dans ce travail.

III.4.2.1 propriétés physiques**a. Indice de réfraction IR_{20}**

Cet indice est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante [48].

✓ Mode opératoire

La surface du réfractomètre a été nettoyée avec du coton et de l'éthanol et laissée sécher, puis des gouttelettes d'HE ont été placées sur le miroir à l'aide d'une pipette jusqu'au trait de signale et régler avec les deux boutons, jusqu'à la localisation du trait signale au centre de la cellule.

Les résultats ont été enregistrés à 20 °C (**figure III.4**). Il est calculé par **l'équation III.3** :

$$IR_{20} = I_{\theta} + 0.00045 \times (\theta - 20^{\circ}C) \quad \text{III. 3}$$

Où :

IR_{20} : Indice de réfraction à 20°C.

I_{θ} : Indice de réfraction à la température de mesure.

θ : Température de mesure.

0,00045 : Constant de variation de l'indice d'acide quand la température varie de 1°C.



Figure III.4 :Réfractomètre (Université de Djilali Bounaama).

b. Densité relative d_{21}

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à la masse d'un volume égal d'eau à 20°C[49].

✓ Mode opératoire

Nous avons nettoyé le pycnomètre par l'eau distillée et l'avons séché dans l'étuve pendant 7 minutes et l'avons laissé refroidir, le processus s'est déroulé en 3 étapes :

- ✓ Nous avons pesé le pycnomètre à vide (m_0).
- ✓ Nous avons pesé le pycnomètre rempli par 1 ml de l'eau distillée (m_1).
- ✓ Nous avons pesé le pycnomètre rempli par 1g d'HE (m_2).

Les poids de chaque pycnomètre sont enregistrés. la densité de l'huile essentielle est Calculée à partir de l'équation III.4 :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) \quad \text{III. 4}$$

Où :

m_0 : Masse en gramme du tube vide.

m_1 : Masse en gramme du tube rempli d'eau distillée.

m_2 : Masse en gramme du tube rempli d'HE de *saugé officinale*.

d : Valeur de la densité relative selon les normes.

III.4.2.2 Propriétés chimiques

a. Potentiel d'hydrogène pH

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier pH [49].

✓ Mode opératoire

Nous avons pris quelque gouttes d'huile essentielle, et mis sur le papier pH, et attendu un moment puis nous avons pris le résultat.

b. Indice d'acide I_A

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g d'HE [50].

L'indice d'acide témoigne de la « fraîcheur » d'une huile.

✓ Principe

L'indice d'acide est déterminé par un dosage acide/base en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique selon la réaction suivante [51] :



✓ Mode opératoire

- ✓ Dissoudre une prise d'essai (1g) dans 50 ml d'éthanol ;
- ✓ Ajouter quelques gouttes de la solution de phénolphtaléine ;
- ✓ Titrer en agitant avec la solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à l'apparition de la couleur rose persistante pendant 10 secondes ;
- ✓ Déterminer le volume (V) de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée.

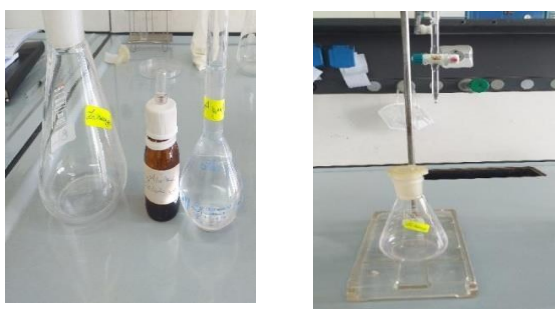


Figure III.5 :Préparation d'indice d'acide.

✓ Expression des résultats

L'indice d'acide est calculé par l'équation III.5 :

$$IA = (56.1 \times C \times V) / m \quad \text{III. 5}$$

Où :

V : Volume de KOH utilisé en ml ;

C : Concentration de la solution de KOH en mol/l ;

m : Masse de la prise d'essai en g .

c. Indice de saponification

✓ Principe

L'indice de saponification d'une huile correspond à la masse de KOH, en mg , nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier ceux estérifiés et contenus dans un gramme de matière grasse. Cette masse varie en fonction de la masse molaire des acides gras existants dans la composition de cette huile : plus la masse molaire est élevée, plus l'indice de saponification est faible, ce qui suppose que l'indice de saponification est une mesure indirecte de la masse molaire des acides gras [52].

✓ Mode opératoire

Dans un ballon de 250 ml, on introduit 1g d'HE et 25 ml d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5M à l'aide d'une burette. L'ensemble est porté au reflux pendant 60 min. Après refroidissement de la solution, on ajoute 5 gouttes de phénolphtaléine. L'excès de KOH est titré par une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,5N. Le point d'équivalence a été mis en évidence de la même manière expliquée précédemment.

Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment.



Figure III.6: Préparation du mélange de saponification (a- préparation de mélange ; b- montage à reflux ; c- titrage).

✓ Expression des résultats

Le calcul de l'Is est donné par l'équation III. 6 [52]:

$$I_s = 28.05 \times (V_0 - V_1) / m_s \quad \text{III. 6}$$

Is: indice de saponification en mg .

C_{HCL}: concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l .

M_{KOH} : Masse molaire du KOH en *g/mol*.

V_0 : Volume d'HCl versé à blanc en *ml*.

V_1 : Volume d'HCl versé pour l'essai en *ml*.

m : Masse de la prise d'essai en *g*.

d. Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier les esters contenus dans un gramme de corps gras [53].

✓ **Principe**

Les esters sont hydrolysés par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanoïque titrée de KOH et l'excès d'alcali est dosé par une solution titrée d'HCl [52].

✓ **Expression des résultats**

À partir des deux indices de saponification et d'acide, on peut déduire l'indice d'ester d'huile étudiée. Cet indice est utilisé pour connaître la longueur des chaînes carbonées des acides gras et évaluer la masse molaire des esters présents dans notre huile [54].

$$I_E = I_S - I_A \qquad \text{III. 7}$$

Où:

I_E : Indice d'ester.

I_S : Indice de saponification.

I_A : Indice d'acide.

III.5. Analyse chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Afin de connaître les composants chimiques des huiles essentielles, il existe plusieurs techniques spectroscopiques Parmi elles, La chromatographie en phase gazeuse (CG).La chromatographie en phase gazeuse (CPG)est une technique de séparation d'un mélange de molécules volatiles, appelées ici « analytes ».La CPG repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse. La séparation des analytes

repose sur la différence d'affinité de ces composés pour la phase mobile et pour la phase stationnaire.



Figure III.7 : Photo représentant l'équipement de la CG-SM.(Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques).

Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire. Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé « gaz vecteur », qui constitue la phase mobile [55].

Afin de connaître la composition chimique de l'huile essentielle obtenue, nous avons utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection par spectrométrie de masse. Les Conditions opératoires sont résumé dans le **Tableau III.2**.

Tableau III.2 : Conditions opératoires de l'analyse en CG-SM.

Conditions Opératoires de l'analyse	
Injecteur	Température : 250°C Mode d'injection : Split 1 ; 80 Volume injecté : 0.2 µl
Colonne	Type : HP-5MS Dimensions : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm Phase stationnaire :5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane
Température du four	45°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 250°C ; isotherme 10 min ; Durée d'analyse : 120min Gaz vecteur : hélium pur 6.0 Débit : 0.6 ml/min
Détecteur de masse	Mode d'analyse : scan Délai du solvant : 3.5 min Température de l'interface : 270 °c Type d'ionisation : Impact électronique Intensité du filament : 70 év Type de l'analyseur de masse : Quadripôles Température de la source : 230 °c
Equipement	Chromatographe : Hewlett Packard Agilent 6890 plus Spectromètre de masse : Hewlett Packard Agilent 5973

III.6 Activité biologique de l'huile de la sauge officinale

III.6.1 Activité anti-oxydante

Le pouvoir antioxydant de l'HE de la sauge officinale a été évalué in vitro en utilisant le test du DPPH ;

A. Principe

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, anti-oxydante, il y'a formation de la forme réduite (**Figure III.8**). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm [56].

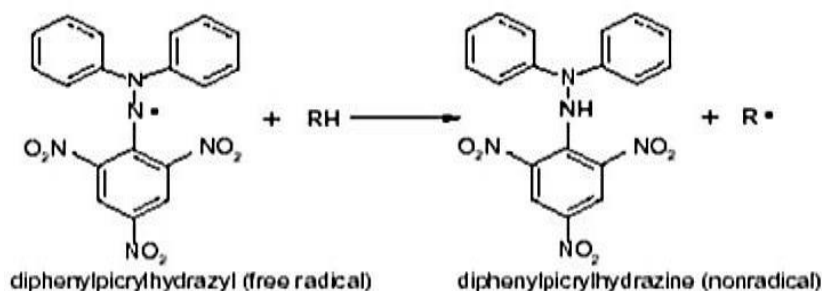


Figure III.8 :Forme libre et réduite du DPPH [56].

✓ Mode opératoire

Le protocole utilisé est basé sur la solubilisation de 0.0042 g de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Nous avons recouvert la fiole jaugée d'une feuille d'aluminium et l'avons mis sur l'agitateur magnétique pendant 15 minutes, en même temps nous avons préparés des tubes de différentes concentrations (40, 60, 80, 100, 250, 500 μ l ml) de l'HE de la sauge diluée par 1 ml d'éthanol. A chaque tube nous avons ajouté 1ml de la solution de DPPH préparée, après une incubation pendant 30 min à température ambiante (**figure III.9**), les absorbances sont mesurées à 517 nm (515 nm) (**figure III.10**).

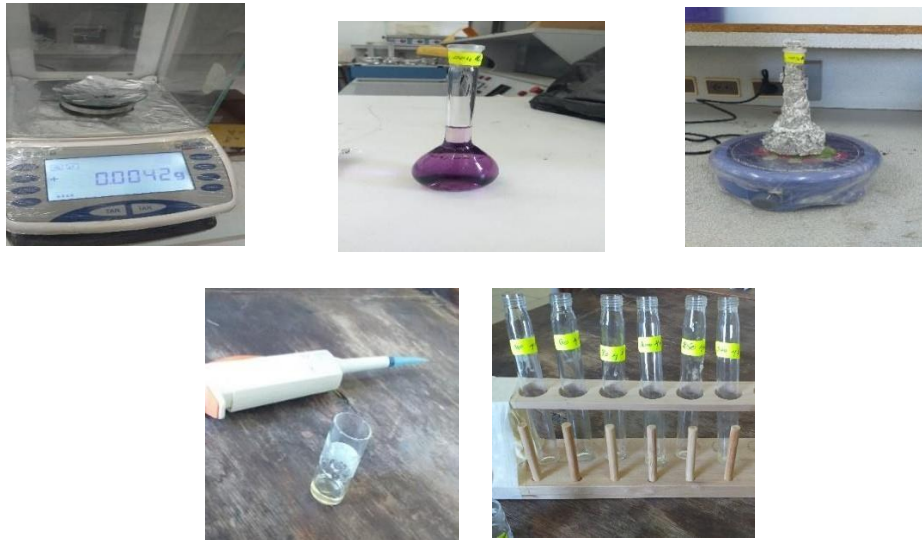


Figure III.9 : Préparation d'une solution éthanolique de DPPH et Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydante.



Figure III.10 : Appareil d'UV Visible.

✓ Expression des résultats

Le contrôle négatif est réalisé en remplaçant l'échantillon par l'éthanol, le blanc contient l'éthanol et l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH, l'absorbance est lue à 515 et 517 nm. Le pourcentage d'inhibition (PI%) est calculé par l'équation suivante [54] :

$$I\% = \frac{(A_c - A_t)}{A_c} \times 100$$

III. 8

Où :

A_c : Absorbance du contrôle négatif.

A_t : Absorbance de l'extrait testé.

La concentration d'inhibition (CI₅₀) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH[•] présents dans le milieu

réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence.

III.6.2 Activité antibactérienne

✓ Principe

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée aussi méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'HE sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité [25].

✓ Choix des souches

Le choix des bactéries a été porté sur 5 souches fréquentes en pathologie humaine (responsables d'infections multiples de l'organisme) et pour leur résistance naturelle à divers types d'agents antimicrobiens ; on a choisi 5 souches :

- ✓ Deux de gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028)
- ✓ Deux de gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)
- ✓ Une levure : *Candida albicans* (ATCC10231)

✓ Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture est un mélange de substances, sous forme liquide, semi-solide ou solide, qui contient des constituants naturels et/ou synthétiques permettant la croissance des micro-organismes (avec ou sans inhibition de certains d'entre eux), leur identification ou leur conservation [57].

- ✓ Peser 40 *grammes* de milieu de culture de gélose typique soja et le mettre dans un récipient avec 1 litre d'eau distillée sur le feu, en remuant constamment jusqu'au début de l'ébullition.
- ✓ Nous remplissons le milieu de culture dans des flacons, les refermons bien et les mettons dans l'autoclave pendant une heure et demie à une température de 121 °C.
- ✓ On sort les bouteilles et on les laisse refroidir un peu, puis on remplit les boîtes de pétrie avec le milieu de culture sous la hotte et on les laisse toute une nuit au frais.



Figure III.11 : Préparation du milieu de culture.

✓ Mode opératoire

Réaliser une série de dilution de l'huile dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) à 1/2 jusqu'à 1/32 à partir de la solution mère ($500\mu\text{L DMSO} + 500\mu\text{L HE}$) dans des tubes en verre stériles :

- ✓ $500\mu\text{l}$ de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube de la dilution 1/4 auquel on rajoute $500\mu\text{l}$ de DMSO (Diméthylsulfoxyde), puis agiter.
- ✓ Des dilutions à 1/8, 1/16, 1/32 sont préparés de la même manière.
- ✓ Des disques de papier buvard stériles de 9 mm de diamètre sont imprégnés de différentes solutions d'HE dissouts dans le (DMSO), à l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés sur la surface de géloseensemencée par une suspension microbienne et étalée dans des boîtes de pétrie dans des conditions stériles.
- ✓ Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 h à 37°C.

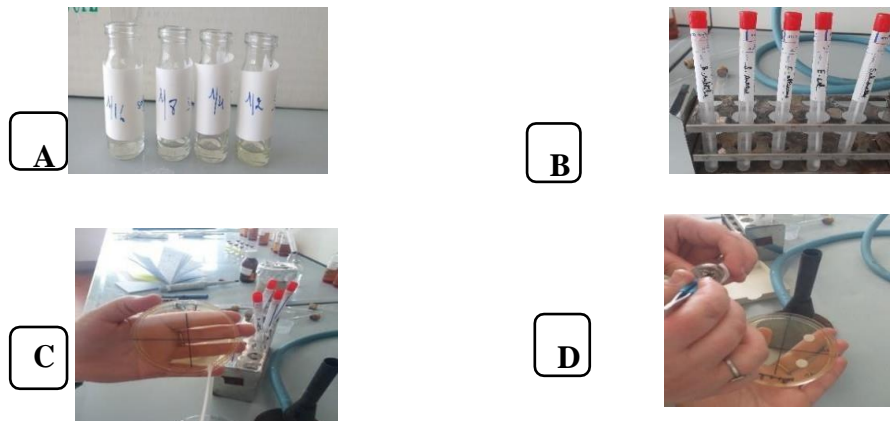


Figure III.12 : Préparation de l'activité antimicrobienne (a- représente les délutions de HE par DMSO, b- La souche bactérie, C- Ensemencement de boîte pétrie, D- Dépôt des disques sur la surface de gélose).

La lecture s'effectue par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo translucide autour de chaque disque ; la présence ou l'absence d'un halo expliquerait la sensibilité ou la résistance des germes vis-à-vis les concentrations testées ; selon une échelle de notation symbolique allant de – à +++ et dont la lecture après se fait comme suit [58] :

- $\emptyset \leq 10$ mm : huile essentielle (HE) sans action inhibitrice (-)
- $16 > \emptyset > 10$ mm : HE à une action inhibitrice intermédiaire (+)
- $25 > \emptyset \geq 16$ mm : HE à une action inhibitrice importante (++)
- $\emptyset \geq 25$ mm : HE à une action inhibitrice très efficace (+++)

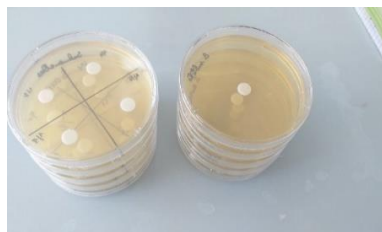


Figure III.13 : Boîtes de pétrie préparées avant incubation.

Conclusion

Ce chapitre a été consacré aux méthodes et matériels liés au travail expérimental. Le procédé utilisé pour extraire l'huile essentielle de la sauge officinale est l'hydrodistillation à l'aide du montage Clevenger. Nous avons également présenté les tests physicochimiques et les tests d'activité antibactérienne ainsi que l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire in vitro qui ont été utilisés.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Après avoir présenté le matériel et les protocoles expérimentaux dans le chapitre précédent, ce chapitre sera consacré à la présentation des résultats ainsi que des discussions de ces derniers. On rappelle que la partie expérimentale s'est reposée sur les points suivants :

- 1- Extraction de l'huile essentielle de la sauge HES ;
- 2- Détermination des propriétés physicochimiques de l'HE de la sauge ;
- 3- Identification chimique de l'HE par CG/SM ;
- 4- Activité antimicrobienne de l'HES ;
- 5- Activité Antioxydante de l'HES ;
- 6- Elaboration d'une pommade anti-inflammatoire à base de l'HE de sauge à différentes concentrations ;
- 7- Contrôle de qualité de la pommade ;
- 8- Activité anti-inflammatoire de la pommade ;
- 9- Activité cicatrisante de la pommade ;
- 10- Tests rhéologiques sur la pommade.

IV.1. Matière végétale

IV.1.1. Taux d'humidité

Les plantes ont besoin d'eau pour la croissance, ce qui signifie qu'elles ont une quantité d'eau variable, et cela varie d'une plante à l'autre. Pour une bonne conservation sans problème de la plante, la sauge a été séchée à l'air libre et à l'ombre, et pesée quotidiennement jusqu'à ce que son poids se stabilise. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : Changements de masse en fonction de temps de séchage de la sauge.

Jours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Poids (g)	100	86	72	60	47	37	35	33	30	29	28	26	25	25	25

Les résultats obtenus après séchage des feuilles de sauge sont montrés par la Figure IV.1.

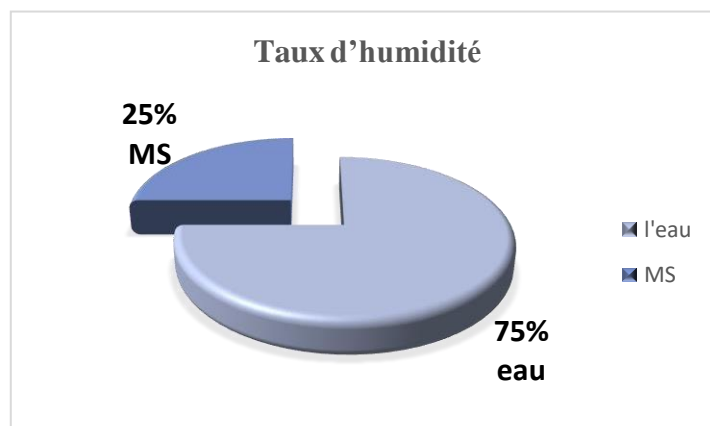


Figure IV.1 : Taux d'humidité de la sauge officinale

Le taux d'humidité est élevé montrant que la plante de la sauge officinale contient une grande quantité d'eau, jusqu'à trois quarts du poids de la plante fraîche (75%).

Dans une autre expérience et dans le but de comparer l'influence de l'eau sur le processus d'extraction, nous avons utilisé des feuilles sèches de sauge dans une expérience et des feuilles fraîches dans une autre expérience. Par la suite on a comparé les rendements obtenus dans chaque expérience. Nous avons conclu que la plante sèche donne plus de rendement que celui obtenu par la plante fraîche.

IV.1.2. Cinétique et rendement d'extraction de l'huile essentielle

Avant chaque opération d'extraction, il est important de connaître le temps optimal pour récupérer la quantité maximale en huile essentielle. Le tableau IV.2 montre les valeurs de rendement d'extraction en fonction du temps (la période) de l'hydrodistillation.

Tableau IV.2 : Rendement en l'huile essentielle de la sauge officinale en fonction de la période d'hydrodistillation

T (min)	15	30	45	60	75	90	105	120
V (ml)	0.20	0.22	0.28	0.28	0.30	0.30	0.30	0.30
R %	0.36	0.40	0.51	0.51	0.54	0.54	0.54	0.54

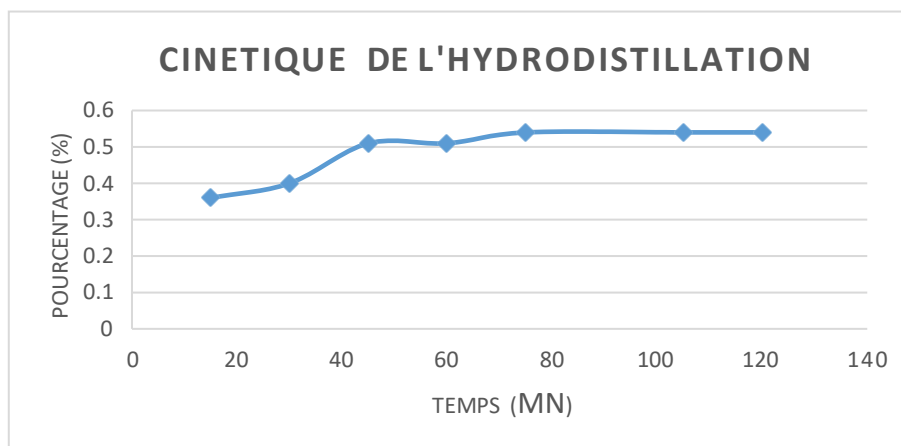


Figure IV. 2 : Rendement en l’huile essentielle de la sauge officinale en fonction de la période d’hydrodistillation

D’après ces résultats, un rendement de 0.54% a été trouvé. Cette valeur est inférieure à celle trouve avec d’autres sauges algériennes : 0.9% d’Alger [65] et 2.1% de Batna [66]. Cependant, ce rendement est supérieur à d’autres résultats comme une sauge d’inde (0.15%) [67].


Rappelons qu’un test a été effectué pour compares les rendements dans le cas de plante sèche et fraîche. Un rendement de 0,38 % a été trouvé avec les feuilles fraîches comparé à un rendement de 0,54 % trouvé dans le cas de feuilles sèches. Ainsi, on peut dire que l’eau inhibe l’extraction et augmente sa durée.

IV.2 Caractéristiques de l’huile essentielle de la sauge officinale

IV.2.1 Caractéristiques organoleptiques

Le tableau suivant regroupe les Caractéristiques organoleptiques de l’huile essentielle.

Tableau IV.3 : Caractéristiques organoleptiques de l’HES

	Aspect	Couleur	Odeur
Huile essentielle de la sauge officinale L.	Liquide mobile, limpide	Jaune pale 	Spécifique à la plante

IV.2.2 Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de la sauge

Tableau IV.4 : Propriétés physico-chimiques de l'HE de sauge

Caractéristiques physico-chimiques	Notre résultat	Normes AFNOR [68]
pH	6	4-6
Indice d'acide	0.561	<2
Indice de réfraction	1.469	1.458 – 1.474
Densité relative à 20°C	0.9120	0.910 – 0.920
Indice de saponification	73.79	/
L'indice d'ester	73.28	/

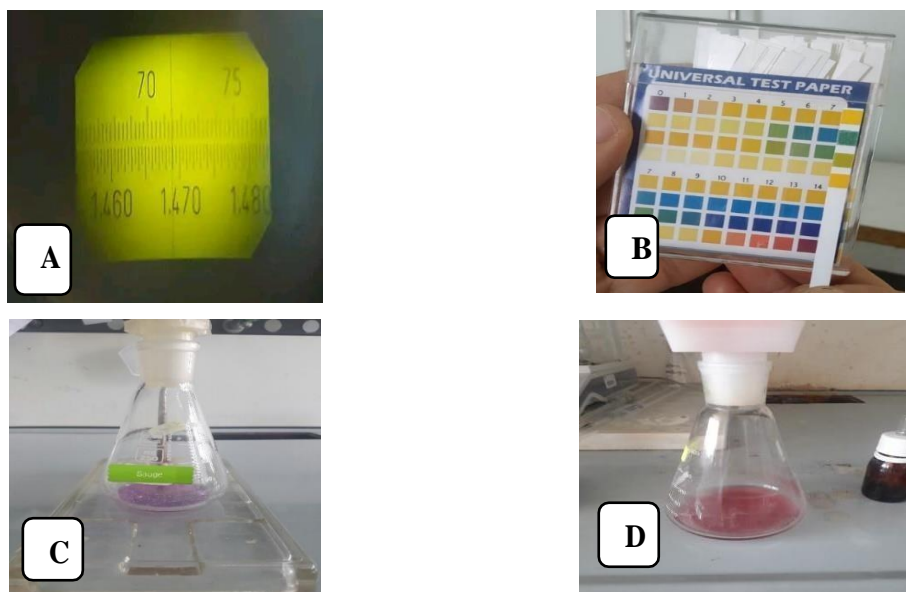


Figure IV.3 : Photos des résultats expérimentaux pour les propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de la sauge officinale (a) Indice de réfraction ; b) pH ; c) Indice d'acide ; d) indice de saponification).

A la lumière du tableau **IV.4** représentant les propriétés physicochimiques et organoleptiques de l'HES, il est clair que les valeurs trouvées sont comparables à ceux donnés par les normes AFNOR.

- ✓ Les valeurs de pH et de la densité montrent que l'HES est acide ($\text{pH} < 7$). et plus légère par rapport à l'eau ($d/1$).
- ✓ L'indice d'acide I_a qui représente le taux d'acides libres est faible. Un indice élevé indique la dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Inversement, un indice inférieur à 2 indique une bonne conservation de l'huile (faible quantité d'acides libres) [69]. Ceci confirme la stabilité et la bonne qualité de l'HES.
- ✓ L'indice de réfraction est lié à la composition chimique de l'huile essentielle en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Il y a une corrélation entre l'indice de réfraction et la réfraction de la lumière. Un indice de réfraction faible de l'HE égale à la faible réfraction de la lumière ce qui favorise son utilisation en cosmétiques [69].
- ✓ Pour l'indice de saponification, il faut 79.79 g de soude pour saponifier 1g d'HES, ainsi ce qui veut dire que l'huile est riche en acides gras.

Il est vrai que la connaissance des propriétés physico-chimiques permet de caractériser l'HE, mais il est nécessaire de déterminer le profil chromatographique. Ceci est primordial pour lier les activités biologiques aux éléments chimiques responsables de chaque activité.

IV.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'identification de la composition chimique de l'HE a été réalisée par l'analyse Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse.

Les principaux composés majoritaires sont présentés dans le **tableau IV.5**, dans lequel les composés majoritaires identifiés par leurs temps de rétention sont listés suivant l'ordre de prédominance.

Tableau IV.5 : Constituants chimiques de l'HE de la sauge analysée par CG-SM.

Composés	TR (min)	Pourcentage %
Viridiflorol	52.16	14.44
β -thuyone (thujone)	20.487	12.97
Borneol	23.006	11.33
1,8-Cineole	14.566	10.84
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene	75.434	9.43
α -thuyone (thujone)	21.123	5.44

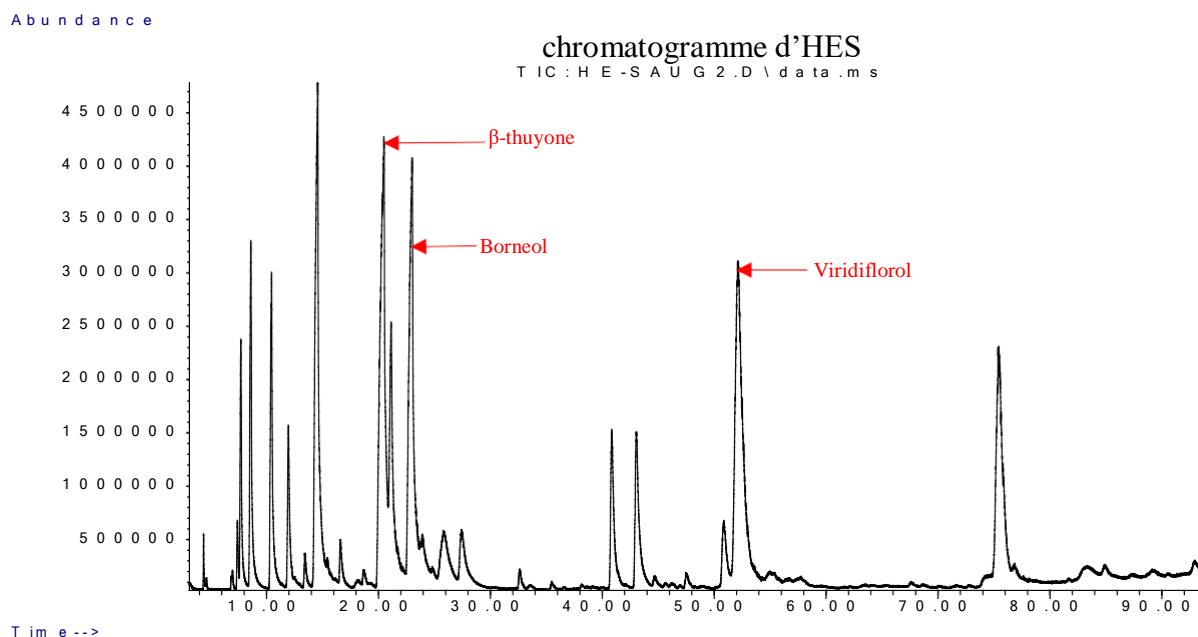


Figure IV.4 : Illustration d'un chromatogramme d'HES obtenue par CG-SM.

L'analyse CG/SM permet d'identifier 40 composés représentant 72.54% de la composition. L'analyse montre que le viridiflorol (alcool sesquiterpénique à 15 atomes de carbone) (14.44%) est le composé majoritaire, suivi par le β -thuyone (12.67%), puis le bornéol (11.33%) et 1,8 cineol (10.84%). On note aussi la présence de α -thuyone à 5.44 % et d'autres composés à des concentrations moins. Ce résultat est proche à celui trouvé avec plusieurs sauges de la Russie extraites par hydrodistillation, où le viridiflorol est le composé principal (17.68 à 33.08) avec la présence de verticiol, camphre, bornéol, α -thuyone, β -thuyone et l'eucalyptol à des niveaux plus au moins significatifs [70]. Il a été reporté lors de l'étude de l'influence de la période de récolte sur la composition chimique et en utilisant l'hydrodistillation que dans ce stage de croissance de la plante (et même période de récolte) que le viridiflorol est le composé majoritaire [67], ce qui concorde avec notre cas. Les travaux précédents ont permis d'identifier environ 120 composés dans l'HES. Les principaux composés sont les monoterpènes thujènes (α , β), le borneol, leucalyptol (1,8 cineole) et le bornéol, avec la présence de sesquiterpènes (humulène) et β caryophyllène [71]. Comme dans notre cas, L'étude de la sauge algérienne (Alger) par hydrodistillation a révélé la présence de viridiflorol (17,79%) comme premier composé majoritaire suivi par l' α -thuyone (11,99%), l' α -humulène (11,59%), le β -caryophyllène (10,47%) et le manool (9,21%) [72]. Cependant, Notre résultat diffère de celui trouvé avec une autre sauge algérienne où le viridiflorol ne représente que 8% de la composition tandis que le camphre représente 20.4% suivi par l' α -thuyone (19.6%), le 1,8-cineole (12.3%) et le β -thuyone

(8%) [65]. La sauge récoltée dans la région de Batna est riche en α -thuyone (24.52%), 1,8-cineole (15.92), le camphre (16.86%), la β -thuyone (6.5%) et le viridiflorol (6.25%).

IV.4 Activité antioxydante

La méthode de DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydant de l'HE de la sauge. D'après l'expérience, les différentes concentrations d'HE réduisent le radical DPPH (décoloration). L'ampleur de la réaction est liée au pouvoir réducteur de l'antioxydant. Les valeurs des absorbances notées servent à calculer les pourcentages d'inhibition du radical DPPH.

Le graphe de la figure IV.5 représente le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'HE de la sauge et de vitamine C à 517 nm.

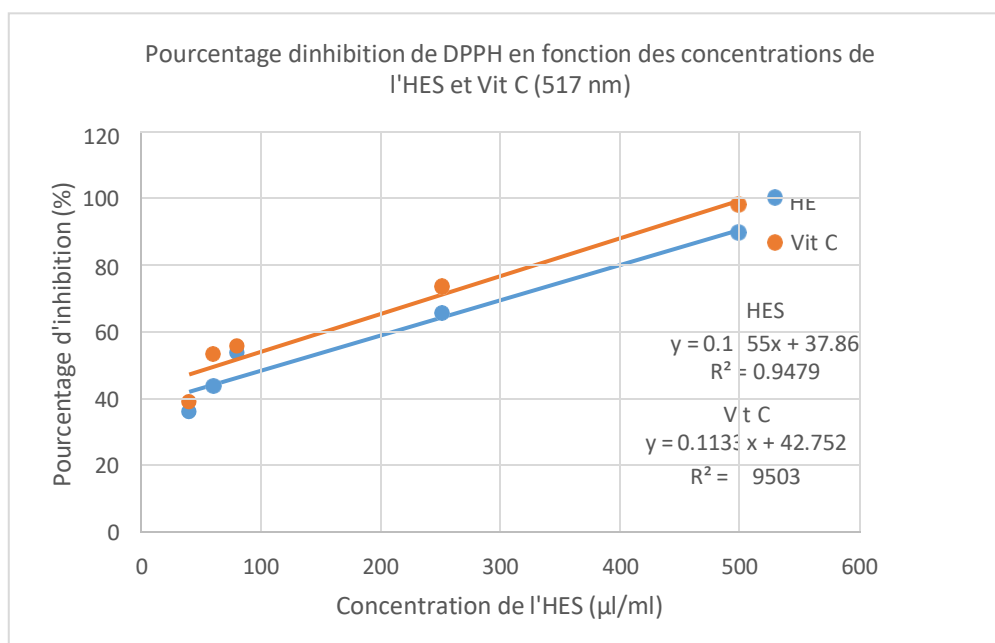


Figure IV.5 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE et Vit C par la méthode du DPPH.

Les tests antioxydants révèlent une valeur de la concentration inhibitrice C_{150} de 115.071 $\mu\text{l/ml}$ (ou 104.71 $\mu\text{g/ml}$) pour l'HE de sauge (figure IV.5), portée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) « antioxydant de référence ». La valeur C_{150} trouvée avec la vitamine C égale à 63.97 $\mu\text{l/ml}$. Ce résultat est logique puisque la valeur de C_{150} diminue avec l'augmentation du

pouvoir antioxydant, donc on s'attend à une valeur de C_{150} plus faible dans le cas de vitamine C comparé à l'HE, et c'est ce qui a été trouvé.

Le pouvoir antioxydant de l'HES, de notre étude ($C_{150}=104.71 \mu g/ml$), est meilleur par rapport à celui rapporté dans une étude sur la sauge de la Russie extraite par hydrodistillation ($C_{150}=482.3 \mu g/ml$) et d'Espagne ($C_{150}=4200 \mu g/ml$) [70].

Il est aussi plus grand que celui obtenu avec l'HES de la sauge algérienne de Bouira ($C_{150}=2000 \mu g/ml$) [73] et l'huile essentielle de la Tunisie ($C_{150}=8310 \mu g/ml$) [74].

L'effet antioxydant est dû à la composition chimique de la sauge qui est riche en composés comme le viridiflorol, la β - thylene et le bornéol.

Cette activité intéressante de l'HES lui donne un intérêt dans la préservation des aliments des effets toxiques des oxydants. On note qu'il faut éviter une utilisation prolongée (surdose : 0.5g/kg) en HES, car des effets secondaires peuvent se présenter [19, 75].

De plus, cet effet antioxydant joue un rôle important dans la prévention de certaines maladies telles que les dysfonctionnements cérébraux, le cancer, les maladies cardiaques et la chute du système immunitaire, qui sont le résultat d'une destruction cellulaire causée par les radicaux libres [75].

IV.5 Activité antibactérienne

La quasi-totalité des huiles essentielles présente une activité microbienne [8]. Pour estimer cette activité avec l'huile essentielle de sauge, le test d'aromatogramme a été utilisé. Le tableau IV. 6 présente les résultats de ce test.

Tableau IV.6 : Diamètre de la zone d'inhibition de l'HES.

Zone d'inhibition (mm)	HE	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>Escherichia coli</i>	19	15	11	10	/	/
<i>Salmonella typhimurium</i>	17	12	11	10	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	23	22	14	11	/
<i>Bacillus subtilis</i>	26	21	18	13	11	/
<i>Candida albicans</i>	/	/	/	/	/	/

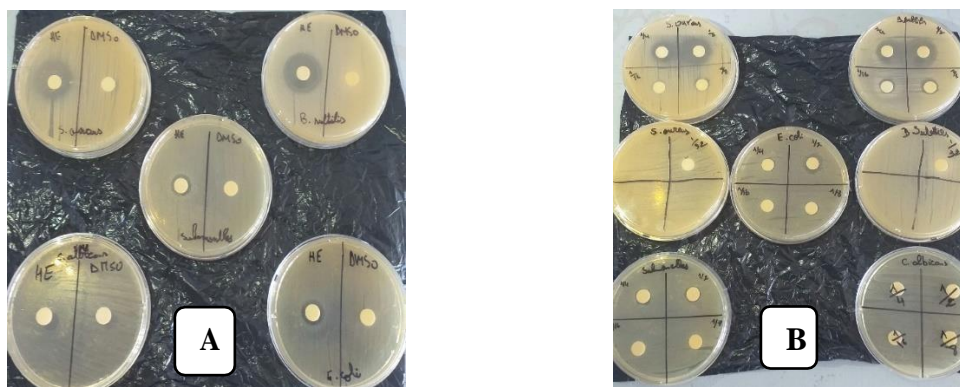


Figure IV.6 : Photos représentant les résultats de zone d’inhibition pour les cinq souches bactériennes (a) les zones d’inhibition de l’huile essentielle et le DMSO, b) les zones d’inhibition des dilution d’HES)

D’après l’expérience effectuée sur les cinq microorganismes (deux bactéries Gram positives, deux bactéries Gram négatives et une levure), on note :

- ✓ Une augmentation de l’effet inhibiteur quand la concentration de l’huile augmente.
- ✓ L’HES a une activité plus grande contre les souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* par rapport à *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*.

En se basant sur les classifications proposées dans la littérature [76, 77], on peut estimer le degré d’inhibition de l’HE et la sensibilité des microorganismes. Le tableau IV.7 résume une transcription basée sur les diamètres d’inhibitions obtenus dans ce test.

Tableau IV.7 : Transcription des valeurs des diamètres d’inhibition.

	D (mm)	Classe de la bactérie	Classe de l’huile essentielle
<i>Bacillus subtilis</i> +	26	Sensible +++	Inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i> +	24	Sensible +++	Inhibitrice
<i>Escherichia coli</i> -	19	Sensible ++	Modérément inhibitrice
<i>Salmonella typhimurium</i> -	17	Sensible ++	Modérément inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	-	-	-

Les résultats d’autres travaux révèlent des réponses différentes et variables en fonction des souches et de la concentration d’HE. Donc, on peut constater que l’activité antimicrobienne

dépend de la qualité d'huile essentielle d'une part et dans une autre part de la souche bactérienne elle-même.

Plusieurs études ont montré que les bactéries à Gram positifs sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que celles à Gram négatifs [78]. Nos résultats montrent cette constatation : les diamètres d'inhibitions dans le cas de gram positifs sont plus importants que ceux dans le cas de Gram négatif (c'est montré sur le tableau IV.7). Ceci est expliqué par le fait que les bactéries à Gram négatifs sont dotées d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines. Cette structure peut empêcher la prise d'huiles ou protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles essentielles [79].

L'activité de notre HE pourrait principalement dues aux composés majoritaires. Cependant, les constituants mineurs de l'huile essentielle peuvent également avoir une influence potentielle ou un effet synergique [79]. Les terpènes altèrent la perméabilité cellulaire en perturbant la membrane bicouche phospholipidique et provoquent des modifications des fonctions et des propriétés membranaires [79].

On note l'absence de l'activité antibactérienne de l'huile dans le cas de *candida albicans*. Selon la littérature, cette activité vis-à-vis ce micro-organisme varie d'une huile à l'autre. Ceci est dû à la variation en composition chimique. Par exemple, l'huile essentielle de la sauge syrienne (qui est marqué par la présence de : 1,8-cineol, camphre, bornéol, α -pinène, β -pinène et le camphre) a inhibé la croissance de *C. albicans* [80].

Les concentrations minimales inhibitrices sont comme suit : 1/32 dans le cas de *Bacillus* et *Staphylococcus* et 1/16 dans le cas de *Salmonelle* et *Escherichia*.

L'effet antimicrobien est attribué aux composés tels que le 1.8-cineol, l' α -thyone et le camphre [70]. Il convient également de rappeler que d'autres constituants de l'HE provoquent l'effet antimicrobien par effet synergique, ce qui permet une utilisation dans la conservation des aliments [70].

En raison de leur activité antimicrobienne, les huiles essentielles de la sauge peuvent être utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour la production de nouveaux agents synthétiques et le traitement des maladies infectieuses causées par les bactéries étudiées ou peuvent être suggérées comme agents naturels de conservation des aliments [80].

Conclusion

Ce chapitre regroupe tous les résultats obtenus. Un rendement de 0.54% en huile essentielle de la sauge a été obtenu. L'huile essentielle est composée majoritairement de viridiflorol, β -thuyone, bornéol et 1,8 cineol. Quelques activités biologiques ont été étudiées : antioxydantes, et antibactérienne.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Un intérêt croissant aux produits naturels, a poussé les chercheurs et les spécialistes à s'engager dans le domaine des plantes médicinales. Si les plantes médicinales s'utilisent convenablement, elles peuvent devenir une source excellente de composés biologiquement actifs. L'Algérie est un pays très riche en plantes médicinales variées selon la variation du climat et de la géographie d'une région à une autre.

La plante de la sauge officinale (*Salvia officinalis*, *El-Miramia*) de la famille des lamiacées très abondante en Algérie est très appréciée chez la population et a une place importante dans la médecine traditionnelle algérienne. Elle est aussi utilisée dans le domaine alimentaire, comme conservateur, et dans le domaine cosmétique. Dans le domaine pharmaceutique, elle est utilisée pour des maladies telles que les maladies du système digestif, du système respiratoire et l'ajustement des hormones. Son utilisation est connue par voie orale, mais la voie cutanée n'est pas utilisée malgré son efficacité. L'objectif de ce mémoire d'une huile essentielle de sauge de la région d'Ain Defla. Le mémoire était fondé sur les étapes suivantes :

- 1- Extraction de l'huile essentielle de la sauge HES ;
- 2- Détermination des propriétés physicochimiques de l'HE de la sauge ;
- 3- Identification chimique de l'HE par CG/SM ;
- 4- Activité antimicrobienne, antioxydante de l'HES ;

L'huile essentielle est extraite par Hydrodistillation avec un rendement de 0,54%. Les tests organoleptiques et physico-chimiques sont conformes aux normes AFNOR et aux travaux antérieurs.

L'analyse CG-SM a permis d'identifier 40 composés chimiques représentant 72%. L'HE de la sauge est dominée par la présence de Viridiflorol (14,44%), β -thuyone (12,67%), Bornéol (11,33%) et 1,8-Cinéole (10,84%). Ces composés chimiques sont responsables de l'odeur distinctive de la sauge et de ses propriétés biologiques.

Conclusion générale

Le test par la méthode du DPPH a montré que l'HES a des propriétés antioxydante, avec un pourcentage d'inhibition des radicaux libre de $CI_{50}=115.071 \mu l/ml$ qui est satisfaisante par rapport à la vitamine C (antioxydant de référence) et par rapport à d'autres études sur cette plante.

Pour l'activité antibactérienne, nous l'avons réalisé par la méthode de l'aromatogramme, sur deux souches à gram+ (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et deux souches à gram- (*Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*) et une levure *Candida albicans*. Les résultats ont montré que les souches à deux grams + sont plus sensible à l'HES que les deux souches à gram -.

En perspective, Il est souhaitable de :

Conclusion générale

- Faire des encapsulations de l'huile essentielle pour connaître les doses adéquates à mettre dans les formulations
 - Approfondir l'étude sur les activités biologiques de la pommade préparée, en gardant cette même formulation, et en variant les doses pour confirmer si la pommade a un effet anti-inflammatoire prononcé (c'est le pouvoir anti-inflammatoire de l'HE de lavande qui nous a incité à formuler cette pommade).
 - Continuer l'étude sur l'activité cicatrisante de cette pommade.
 - Continuer l'étude sur la toxicité de cette pommade sur la peau.
 - Approfondir l'étude sur la relation entre la composition chimique et les propriétés biologiques de la plante.
 - Chercher d'autres propriétés pharmaceutiques chez cette espèce.
- *etc*

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [01] حليمي عبد الزادر , الزبانات الطبية نُزير الوكالة الوطنية لحفظ الطبوعة, الجزائر, 1997.
- [02] Aromathèque, monographie huile essentielles, myrtéformation, France, 2005.
- [03] Belkhodja H., Effet Des Biomolécules Extraites A Partir Des Différentes Plantes, Thèse de Doctorat, Université De Mustapha Stambouli –Mascara, Algérie, 2016.
- [04] Florence M., Utilisations Thérapeutiques Des Huiles Essentielles : Etude De Cas En Maison De Retraite, Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France, 2012.
- [05] Taleb-Toudert K., Extraction Et Caractérisation Des Huiles Essentielles De Dix Plantes Aromatique Provenant De La Région De Kabylie (Nord Algérien).Evaluation De Leurs Effets Sur Le Bruche Du Niébé *Callosobruchus Maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, Algérie, 2015.
- [06] Daniele F., Les Huiles Essentielles Ça Marche Pharmacien, Edition Luducs, France, 2009.
- [07] Alessandra M., Grand Guide Des Huiles Essentielles "Santé Beauté Bien-Etre", Edition Hachette Pratiques, France, 2008.
- [08] Marta M., Huiles Essentielles Pour Tout Le Jour, Edition Artémis, France, 2012.
- [09] Kraiffi F. Boualam K., Extraction Et Caractérisation De Quelques Huiles Essentielles Des Plantes Utilisés Dans La Thérapie Grippale (*Thymus Lancelots*, *Eucalyptus Globulus*), Mémoire de Master, Université Mohamed Khider De Biskra, Algérie, 2021.
- [10] Belabbas H. Riad F., Etude de L'effet Antimicrobien des Huiles Essentielles de *Salvia officinalis* Sur Les Bactéries (*Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aerugenosa*, *Escherichia Coli*),Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie, 2019.
- [11] Boukhatem. M N ;Ferhat. A ;Kameli. A, Méthodes d'extraction Et de distillation des Huiles Essentielles : Revue de Littérature, Revue Agrobiologie, 9(2) : 1653-1659, Algérie, 2019.
- [12] Elske M., Le Grand Livre des Huiles Essentielles Pour Le Nules, First Edition, France, 2016.
- [13] Marjorie D.L., L'univers des Huiles Essentielles Ensembles Vers La Quête De Bien Etre, Edition Ada Inc., Canada, 2020.
- [14] Zhiri.A ; Baudoux. D, Huiles Essentielles Chémotypées Et Leurs Synergies, Edition Inspir Développement, Luxembourg.
- [15] Annan A. Boualili M., Evaluation In Vitro de L'action Antibactérienne d'huile Essentielle de Saugé officinale. (*Salvia officinalis*) de La Région Nord-Ouest de Tizi-Ouzou, Mémoire

Références Bibliographiques

- de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie, 2014.
- [16] Jourdain D., Dictionnaire Des Plantes Médicinales, Edition Quebecor, 1997.
- [17] Anfel, B.D .Kouiten D., Etude Phytochimique et Biologique de'une Plante Médicinale *Salvia officinalis* L, Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine I, Algérie, 2022.
- [18] Kamelia Z. Issolah Y., Synthèse Bibliographique Sur L'évaluation de L'activité Antioxydant de Menthe Pulegium et *Salvia Officinalis*, Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Alegria, 2020.
- [19] Kaddem S., Les Plantes Médicinales En Algérie, Algérie, 1990.
- [20] Rayane B. Mlle S., Etude Théorique sur L'activité Antibactérienne et Antioxydant des Extraits (Huile Essentielle Et Hydrolat) de *Salvia officinalis*, Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 2021.
- [21] Hammoudi R., Activités Biologiques de Quelques Métabolites Secondaires Extraits de Quelques Plantes Médicinales du Sahara Méridional Algérien, Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah - Ouargla, Algérie, 2015.
- [22] Benkherara S. Bordjiba O. Ali Boutlelis D., Etude de L'activité Antibactérienne des Huiles Essentielles de La Saugue officinale : *Salvia officinalis* L. sur Quelques Entérobactéries Pathogènes, Revue Synthèse, N°23, Algérie, 2011.
- [23] Zerrouki K., L'effet Antioxydant de Quelques Plantes Médicinales Sur La Neurotoxicité Et Les Maladies Neurodégénératives Dues Aux Métaux Lourds (Aluminium Et Plomb) : « Etude Expérimentale Chez La Souris », Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn-Badais-Mostaganem, Algérie, 2016.
- [24] Rombi M. ; Roberte D., 120 Plantes Médicinales Composition ; Mode D'action Et Intérêt Thérapeutique, Edition Alpent Edition, Monaco, 2007.
- [25] Berrahou H. Belmiloud F., Détermination du Pouvoir Antibactérien et Antifongique des Huiles Essentielles de la Saugue officinale. et d'artemisia Herba Alba L, Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie, 2018.
- [26] Bouzid D., Evaluation de L'activité Biologique de L'huile Essentielle d'une Plante Endémique Hélichrysum Italicum (Roth) G., Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie, 2018.
- [27] Boughendjoua H., La Plante Médicinale Utilisée Pour Les Soins de La Peau. Composition Chimique, Activité Antioxydants et Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Citrus*

Références Bibliographiques

- Limon .Cinnamomum Zeylanicum Et Thymus Numidicus*, Thèse de doctorat, Université de Annaba, Algérie, 2015.
- [28] Hyng-Viet .T, Caractérisation des Propriétés Mécaniques de La Peau Humaine In Vivo Via L'irm, Thèse de doctorat, Université de La Technologie de Compiègne, France, 2007.
- [29] Hamici A., La Préparation Semi-Solide Pour Application Cutané Les Pommades, Cour Service de Pharmacie Galénique, Université Mostapha Ben Boulaid Batna-2-, Algérie, 2020.
- [30] Dembélé .D, Formulation de Pommade Antalgique et Anti-Inflammatoire À Base De Securidaca Longepedunculata Fresen (Polygalaceae), Thèse de doctorat, Pharmacie et d'odonto-Stomatologie, Mali, 2011.
- [31] Hir A, Chaumei .J.-C, Broussard D, Pharmacie Galénique (Bonne Pratique De Fabrication), 9^{ème} Edition, France, 2009.
- [32] Salamon K, Contribution à La Formulation à Base d'extraits de Plantes a Propriétés Antifongiques et Antibactériennes, Thèse de doctorat, Ecole Nationale de La Médecine et de Pharmacie, Mali, 1994.
- [33] Chabrier J-Y., Plantes Médicinales et Formes Plantes Médicinales et Formes d'utilisation en Phytothérapie, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, France, 2010.
- [34] Camille P, Mise en Place du Guideline Excipient dans Un Etablissement Pharmaceutique, Thèse de Doctorat, Grenoble, France, 2018.
- [35] Coulibaly Sie A, Etude de Quelques Propriétés Rhéologiques d'un Gel Mixte Thermo Gélifiant Poloxamer 407/Amidon de Patate douce (Ipomoea Batatas) (Convolvulaceae), Thèse de Doctorat, Cote D'ivoire, 2017.
- [36] AïssounB. M., Influence des caractéristiques rhéologiques des bétons autoplaçants sur leur durabilité, Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke, Canada, 2015.
- [37] Nicolas T, Approche Des Propriétés Rhéologiques De Suspensions Biologiques, Thèse Doctorat, Université De Limoges, France, 2003.
- [38] Jean-Louis G., Alain P, La Mesure en Rhéologie, Éditeur Scientifique, France, 2013.
- [39] Boualit A., Contribution à L'étude Thermo Hydrodynamique des Fluides Binghamiens, Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara Boumerdès, Algérie, 2011.
- [40] Annie. C, Développement d'un Outil Ehd Micro Fluidique Pour La Mesure De Propriétés Physico-Chimiques, Thèse De Doctorat, Université De Recherche Paris Sciences Et Lettres PDI, France, 2018.

Références Bibliographiques

- [41] Mekroussi F., Salem A, Étude Expérimentale du Comportement Rhéologique des Liquides Ioniques, Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Algérie, 2021.
- [42] Abdelhakim B, Rhéologie Et Ecoulement de Fluides Chargés : Application Aux Réseaux D'assainissement Urbains : Etude Expérimentale et Modélisation, Thèse de Doctorat, Université De Strasbourg, France, 2012.
- [43] Reeve P., Amigoni S, La Rhéologie un Outil Précieux Pour La Formulation Cosmétique, L'actualité Chimique, N° 323-324, France, 2008.
- [44] Mezger T. M., The rheology handbook, 2nd edition, Vincentz, Germany, 2006.
- [45] Xiangming Z.; Zongjin L.; Mizi F.; Huapeng C., Rheology of semi-solid fresh cement pastes and mortars in orifice extrusion, Cement & Concrete Composites 37 (2013) 304–311, Hong Kong, 2013.
- [46] Coussot P. ; Grossiord L., Comprendre la rhéologie : de la circulation du sang à la prise du béton, EDP Sciences, France, 2001.
- [47] Alili D. ; Brahim O. ; Doumandji A., Serier Bouchenak N., Obtention et Caractérisation Physicochimique Chromatographique de L'huile Essentielle des Graines de Foeniculum Vulgare Mille. (Fenouil Sauvage), Revue Agrobiologie, Alegria, 2022.
- [48] Kosi Mawuéna N., Kodjo W., Balbine Amoussou F., Koffi K., Kokouvi D., Elogo O., Et Kossi Honoré K., Etude de Quelques Paramètres Physicochimiques et Analyse des Eléments Minéraux, des Pigments Chlorophylliens et Caroténoïdes de L'huile de Graines de Griffonia Simplicifolia, International Journal of Biological And Chemical Sciences, 13(4) : 2360-2373, France, 2019.
- [49] Boukhatem M., Hamaid M., Saidi F., Hakim Y., Extraction Composition Et Propriétés Physico-Chimiques de L'huile Essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium Graveolens L.) Cultivé dans La Plaine de Mitidja (Algérie), Revue « Nature et Technologie », N° 03, Alegria, 2010.
- [50] Corps Gras D'origines Animale Et Végétale -Détermination De L'indice D'acide Et De L'acidité.
- [51] Ornellaz, Fonctionnalisation et Photo Polymérisation de L'huile de Lin en Vue de L'élaboration de Nouveaux Matériaux Sans Emission de Composés Organiques Volatils (Cov), Thèse de doctorat, Ecole doctorale Normande de Chimie, France, 2009.
- [52] Khiari.K, Contribution A L'étude des Propriétés Thermo-Physiques de Biocarburants de deuxième Génération et Leur Influence Sur Le Comportement des Moteurs, Thèse de

Références Bibliographiques

- doctorat, Université Bretagne Loire, France, 2016.
- [53] Paquot C, « Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (I.U.P.A.C). Commission des Huiles, Graisses et Dérivés, Méthode Standard Pour L'analyse des Huiles », des Graisses et ses dérivés, 6^{ème} Ed, Pergamon Press, 1979.
- [54] Dahamna. S ; Chergui. N, Extraction et Caractérisation Physico-Chimique d'une Huile Végétale, Mémoire de Master, Université Mohamed el Bachir el Ibrahim- B.B.A, Alegria, 2021.
- [55] Guillaume.G, La Chromatographie en Phase Gazeuse : Principe, Culture Ienceschimie, France, 2017.
- [56] Bouchouka.E, Extraction des Polyphénols et Etude des Activités Antioxydant et Antibactérienne de Quelques Plantes Sahariennes, Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba, Algérie, 2016.
- [57] Iso : Microbiologie des Aliments, des Aliments Pour Animaux et de L'eau_ Préparation, Production, Stockage et essais de Performance des Milieux.
- [58] Boughendjioua.H, Composition Chimique et Activité Antibactérienne de L'huile Essentielle de *Lavandula officinalis* Cultivées dans La Région de Skikda, Bulletin de La Société Royale des Sciences de Liège, Vol.86, Articles, P.88-95, Algérie, 2017.
- [59] Chandra, R. ; Chatlod, L. R. ; Kumar, S. ; Toppo, S. ; Haque, N. ; Rahman, H., Nutritional evaluation of NB-21 hybrid Napier grass for goats. Indian J. Small Rum. 18 (2): 261-263, 2012.
- [60] Bouhlali E. ; Bammou M. ; Sellam K. ; El Midaoui A. ; Bourkhis B. ; Ennassir J. ; Alem Ch. ; Filali-Zegzouti Y., Physicochemical properties of eleven monofloral honey samples produced in Morocco, Arab Journal of Basic and Applied Sciences, 26 (2): 476-487, 2016.
- [61] Kandikattu K. ; BharathRathna Kumar P. ; VenuPriya R.; Sunil Kumar K.; Ranjith Singh.B.Rathore. , Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology 1(5): 729-730, 2013.
- [62] Benamira I. ; Benhafed D. ; Benabderahman Kh., Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d'Artemisia herba alba Asso et d'Ajuga iva L, Animale B, Mémoire de Master, Algérie, 2021.
- [63] Kar, T.; Gosh B., Sustainability and Optimal Control of an Exploited Prey-Predator System through Provision of Alternative Food to Predator, Biosystems, 109, 220-232, 2012.

Références Bibliographiques

- [64] Winter, C.A., Risley, F.A. & Nuss, O.W., Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 544-547, 1962.
- [65] Dob T.;Berramdane D.; Dahmane T.; Benabdelkader, and Chelghoum C.,
CHEMICALCOMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Salvia officinalis* FROM ALGERIA, Chemistry of Natural Compounds, Vol. 43, No. 4, 2007.
- [66] Lakhal H , Ghorab H , Chibani S , Kabouche A , Semra Z, Smati F , Abuhamdah S3 and Kabouche Z1, Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Batna (Algeria), Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre, 5 (3):310-314, 2013.
- [67] Harvesting season and plant part dependent variations in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. grown in northern India.
- [68] Les huiles essentielles. Recueil de normalisation française, 1992.
- [69] Mohamed N., « Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L^o) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie) », Revue Nature et Technologie n^o 03, p 37 – 45, 2010.
- [70] Sařsa Đurović , Darko Micić , Lato Pezo , Danka Radić , Julia G. Bazarnova b , Yulia A. Smyatskaya b , Stevan Blagojević a The effect of various extraction techniques on the quality of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil, expressed by chemical composition, thermal properties and biological activity, Food Chemistry: X 13, 2022.
- [71] Ghorbani, A., & Esmailzadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7(4),
- [72] K. KASSOUSSI et M. M. ZEKRI, L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. : extraction, composition chimique, propriétés physiques et antimicrobiennes, mémoire d'ingénieur d'État, école polytechnique, Alger, 2008.
- [73] Adrar N.; Oukil N.; Fatiha Bedjou. ; Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination, Industrial Crops and Products, Vol :88 Pages :112-119, 2016.
- [74] Kammoun El Euch, D.B. Hassine, S. Cazaux , N. Bouzouita, J. Bouajila, *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of antienzymatic and antioxidant bioactivities S.
- [75] Mills S.; Bone K., The Essential Guide To Herbal Safety Elsevier, St. Louis, Missouri,

Références Bibliographiques

- pp.558-559, 2005.
- [76] Belaiche P., L'aromatogramme, traite de phytothérapie, Edition MSA, paris, tomel, 204, 1979.
- [77] Meena M.R., et Sethi V., «Antimicrobial activity of the essential oils from spices », *Food Science and Technology*, Vol. 31, p 68-70, 1994.
- [78] Poole K., « Multidrug resistance in Gram-negative bacteria», *Current Opinion in Microbiology*, p 500-508, 2001.
- [79] Al Zuhairi M.J., et all, «Antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil against bacteria isolated from urinary tract infection», *European Journal of Integrative Medicine*, vol. 38, 2020.
- [80] Rami Khalil1, Zheng-Guo Li1, Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria, vol. 10, No. 42, 2011.
- [81] M. R. Farahpoura, E. Pirkhezrb , A. Ashrafianc , A. Sonbolid, Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound mode, *Biomedecine and pharmacotherapy*, 120, 2020.
- [82] El Hachimi .F, Alfaiz .C, Bendriss .A , Cherrah .Y et Alaoui .K, Activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Phytothérapie*, 15(3), 147–154, 2017.
- [83] Loukhaoukha .R et Saidi .F, evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory properties of *lavandula stoechas l.* essential oil, *Revue Agrobiologia*, 7(2), 531-538, 2017.