

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en science biologique

Option : Biochimie

Présenté par : KHEFFOUS Maroua

L'activité antioxydante d'une plante médicinale (*Salvia officinalis*) de la région d'Ain Témouchent

Soutenu le : 23-06-2019

Devant le jury composé de :

Président : Mme OUADDAH.

Examinatrice : Mme BENTABET.

Encadreur : Mrs BENNABI.

Année universitaire : 2018-2019

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui veille à ma réussite et mon bonheur pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et Sécurité.

A la mémoire de mon cher père qui a toujours cru en moi.
A mon très cher mari Miloud, en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir supporté, soutenu et surtout compris en permanence, pour ces sacrifices, ces encouragements, sa fidélité et sa gentillesse.

A mon petit rayon de soleil ALMAS MOKHTARIA.

A mon adorable frère : YACINE.

A mes sœurs : SABRINA et son époux ZOHEIR, MANAR, NAWEL.

A on beau père et ma belle mère.

A toi MOHAMED YACINE et ma princesse ASSIA MANAR

A toute la famille

KHEFFOUS ET BENFODDA

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin.

A mes amis de spécialité Biochimie du CUAT promotion 2017-2019.

MAROUA

Remerciement

Mon remerciement s'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie et accordé la volonté, la santé et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire;

Je tiens à remercier en premier lieu Monsieur BENNABI FARID pour m'avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, d'être le directeur de mon mémoire, pour son aide, son soutien et sa simplicité dans l'orientation;

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements aux membres de jury:

Mme OUADAH Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T, d'avoir accepté de présider ce travail.

Mme BENTABET Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T, d'avoir examiné ce travail.

Aux personnels du laboratoire pour leur aide.

A tous ceux qui m'ont soutenu afin de réaliser cette étude avec toutes

Les expressions de gratitude et de respect.

Résumé

Un grand nombre d'espèces végétales utilise dans le domaine médical : thérapeutique, pharmaceutique dans le monde à des fins alimentaires, cosmétiques et agroalimentaires. Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles, ce présent travail a pour objectif de mettre en évidence les capacités antioxydantes de la *Salvia officinalis*. Les tests qui sont réalisés sur la plante donnent des résultats intéressants puisqu'ils montrent que tous les extraits: (aqueux IC₅₀ = 0,01158 mg/ml), (méthanolique IC₅₀ = 0,03597mg/ml), (éthanolique IC₅₀ = 0,03862 mg/m), (Huile totale IC₅₀ = 0,05254mg/ml), (éther de pétrole IC₅₀ = 0,05686 mg/ml), de l'espèce végétale étudiée renferment des activités antioxydantes variables et importantes. On peut conclure que la plante *SAIVIA OFFICINALIS* renferme des molécules ayant un pouvoir antiradicalaire important et méritant d'être étudiées.

Mots clés : *Salvia officinalis* - radicaux libres –antioxydant-stress oxydatif -activité antioxydante.

Abstract

A large number of plant species used in the medical field: therapeutic, pharmaceutical in the world for food, cosmetic and agri-food. In the context of the development of natural resources, this work aims to highlight the capabilities antioxidants of *Salvia officinalis*. The tests that are carried out on the plant give interesting results since they show that all the extracts: (aqueous IC₅₀ = 0.01158 mg / ml), (methanol IC₅₀ = 0.03597 mg / ml), (ethanol IC₅₀ = 0,03862 mg / m), (total oil IC₅₀ = 0.05254 mg / ml), (IC₅₀ petroleum ether = 0.05686 mg / ml), of the plant species studied contain variable and important antioxidant activities. It can be concluded that the *Salvia officinalis* plant contains molecules with an important anti-radical power and deserve to be studied.

Key words: *Salvia officinalis* - free radicals - antioxidant - oxidative stress - antioxidant activity.

المخلص

هناك عدد كبير من الأنواع النباتية المستخدمة في المجال الطبي: العلاجية، الصيدلانية في العالم للأغذية ومستحضرات التجميل والأغذية الزراعية. في سياق تنمية الموارد الطبيعية، يهدف هذا العمل إلى تسليط الضوء على القدرات مضادة الأكسدة من *Salvia officinalis*. تعطي الاختبارات التي يتم إجراؤها على النبات نتائج مثيرة للاهتمام لأنها تظهر أن جميع المستخلصات: (IC50 المائي = 0.01158 ملغ / مل) ، (الميثانول IC50 = 0.03597 ملغ / مل) ، (الإيثانول IC50 = 0 ، IC 50 = 03862 ملغ / م) ، (إجمالي النفط IC50 = 0.05254 ملغ / مل) ، (IC50 إيثر البترول = 0.05686 ملغ / مل) ، من الأنواع النباتية التي تمت دراستها تحتوي على أنشطة مضادة للأكسدة متغيرة ومهمة. يمكن أن نستنتج أن مصنع *Salvia officinalis* يحتوي على جزيئات ذات قوة مهمة مضادة للراديكالية وتستحق دراستها.

الكلمات الأساسية

- الجذور الحرة - مضادات الأكسدة - الإجهاد التأكسدي - نشاط مضادات الأكسدة. *Salvia officinalis*.

Liste des abréviations

AAO : activité antioxydante

AQ : aqueux

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

E : extrait

EPP : éther de pétrole

EtOH : ethanol

HT : Huile totale.

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %.

Méch : est la masse sèche de l'échantillon végétal.

MeOH :Methanol

Mext : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant.

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

P : Poids.

R (%) : Le rendement en %.

S : Salvia

UV : Ultraviolet.

µl : Microlitre.

Liste des figures

Figure 1 : l'action d'un radical libre instable.

Figure 2 : Les principales enzymes antioxydantes.

Figure 3 : Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase .

Figure 4 : Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme oxydée.

Figure 5 : La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSHréductase qui utilise du NADPH.

Figure 6 : Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase.

Figure 7 : Les différentes classes des composés phénoliques

Figure 8 : La propriété des flavonoïdes et leurs capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxylipidiques.

Figure 9 : Structure de l'acide gallique (a) et structure de l'acide ellagique (b)

Figure 10 : Structure des tanins condensés

Figure 11 : Structure des anthocyanes .

Figure 12 : lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique en coumarine benzi- α -pyrone.

Figure 13 : *Salvia officinalis*, photo prise à l'intérieur de l'Université d'Ain Témouchent, en mai 2019.

Figure 14 : *Salvia officinalis* avant et après séchage à l'ombre.

Figure 15 : Broyage de la plante «*Salvia officinalis*» sèche.

Figure 16 : les cinq étapes d'extraction

Figure 17: Extraction de l'huile totale

Figure 18: Les cinq extraits de *Salvia officinalis*

Figure 19 : La structure de DPPH \cdot (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et sa réduction par un antioxydant

Figure 20 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH selon Seung-cheol et al. (2004)

Figure 21 : Histogramme des valeurs du rendement de chaque extrait

Figure 22 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'éthanol

Figure 23 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH du méthanol

Figure 24 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'éther de pétrole

Figure 25 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'huile totale

Figure 26 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'extrait aqueux

Figure 27 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'acide ascorbique

Figure 28 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH du catéchol

Figure 29 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'acide tannique

Figure 30 : Histogramme des valeurs de concentration inhibitrices 50 des différents extraits en mg/ml.

Figure 31: histogramme représentant les différentes valeurs d'IC50 des témoins

Figure 32 : histogramme représentant les différentes valeurs d'IC50 des cinq extraits ainsi que celle des témoins.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés.

Sommaire

Dédicace

Remerciement

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre I: les radicaux libre, l'anti oxydant, et le divers oxydatifs

1- Radicaux libre

1-1 Définition.....03

1-2 Principaux radicaux libre.....03

1-3 Origine et mécanisme d'action dans les radicaux libre.....03

1-4 Source de radicaux libres et espèce réactive de l'oxygène.....04

1-4-1 Source de radicaux libres.....04

1-4-2 Espèce réactive de l'oxygène.....05

2-Stress oxydatif.....05

2-1 Définitions.....05

2-2 Origines du stress oxydatif.....06

2-3 Conséquences du stress oxydatif.....06

3- Les antioxydants =système de défense contre les radicaux libres.....06

3-1 Définition.

3-2 Les systèmes antioxydants.....07

3-2-1 Les mécanismes de défense antioxydant non enzymatique.....07

3-2-2 Les mécanismes de défense antioxydant enzymatique.....07

3-2-2-1 Super oxyde discutassent(SOD).....08

3-2-2-2 Glutathion peroxydasse (GPX) et réductase(GR)08

3-2-2-3 Catalase10

Chapitre II: généralité pour les plantes médicinales

1-Historique des plantes médicinales11

1-1-Définition des plantes médicinales.....11

1-2- Origine des plantes médicinales.....11

1-2-1- Plantes sauvage (cueillette).....12

1-2-2- Plantes de culture	12
1-3- Principe actif des plantes médicinales	12
1-3-1 Les composés phénoliques.....	12
1-3-1-1 Les flavonoïde.....	13
1-3-1-2 Les tanins	14
1-3-1-3 Les anthocyanes	15
1-3-1-4 Les camarines	15
1-3-2 Les composés terpéniques (iso paranoïdes).....	16
1-3-2-1 Les saponines	16
1-3-3 Les alcaloïdes.....	16
<u>Chapitre III: la plante médicinale sélectionnée (Salvia officinalis)</u>	
1-Introduction	17
2-Classification botanique	18
2-1- Classification classique.....	18
3-Propriétés et usage	18
4-Recommandations.....	19
5-Principe clinique	19
6- Principe actif	19
7-Principaux constituants	20
<u>Chapitre IV: Matériels Et Méthodes</u>	
1- Matériel végétal	21
1-1-Choix de la plante.....	21
1-1-2- Collecte du matériel végétal.....	21
2-2 Matériels utilisés.....	21
2- 2-1 Appareillages et logiciels utilisés.....	21
2- 2-2 Matériels.....	21
2-2-3 Réactifs.....	22
3 Préparation des échantillons.....	22
3-1 Séchage de la plante.....	22
3-2 LE BROYAGE	23
4 Préparation des extraits	23
4-1 Les extraits : éthanolique-méthanolique-éther de pétrole.....	23
4-2 L'huiles totale.....	24

4.3 Extraction aqueuse.....	25
5- Rendement d'extraction.....	27
6- Étude de l'activité antioxydant.....	27
6-1 L'activité antioxydant des extraits.....	27
6 -1-1 Principe.....	27
6 -1-2 Mode opératoire.....	28

Chapitre V: Résultats Et Discussion

I -Résultats

1- Calcules des Rendements.....	30
2- L'activité antioxydant des extraits	31
2-1 L'activité antioxydant de l'éthanol.....	31
2-2 L'activité antioxydant du méthanol	32
2-3 L'activité antioxydant de l'éther de pétrole.....	32
2-4 L'activité antioxydant de l 'huile totale.....	33
2-5 L'activité antioxydant de l'extrait aqueux	33
3- L'activité antioxydante des témoins	34
3-1 L'activité antioxydante de l'acide ascorbique.....	34
3-2 L'activité antioxydante du catéchol.....	34
3-3 L'activité antioxydante de l'acide tannique.....	35
4- La comparaison entre ic50 des différents extraits	35
5- La comparaison entre ic50 des différents témoins	36
6- La comparaison entre IC50 des différents extraits et témoins	36
II – Discussion	38

Conclusion41

Références Bibliographiques.....42

Introduction

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives. Elles représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations (**W. Bouzid et al., 2010**)

D'après les estimations, 80 pour cent de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle pour le traitement des maux (**Cunningham,1993**). La dépendance vis-à-vis de remèdes dérivés de plantes indigènes est particulièrement marquée dans les pays en développement, où la médecine occidentale souvent est absente ou simplement trop coûteuse. (**Jonathan Okafor et Rebecca Ham, 1999**)

La phytothérapie correspond à l'utilisation de plantes dites "médicinales" pour traiter les pathologies bénignes. Cette pratique est ancestrale et répandue dans le monde entier. Les patients opposent souvent cette thérapeutique à l'utilisation des médicaments allopathiques.

(**Chabosseau et Derbré, 2016**)

La phytothérapie demeure encore une pratique utilisée par de nombreuses populations en complément de leurs traitements conventionnel. Malheureusement, en Algérie il y'a une inexistance d'un cadre réglementaire régissant la médecine traditionnelle.(**Belghitri et Zemour, 2018**).

Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne. (**Salhi et al., 2010**)

Par ailleurs, beaucoup de plantes sont très connues pour leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...). Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique. (**Basli et al., 2012**)

Deux tendances se dégagent en phytothérapie : l'une de tradition, sensible à l'ethnobotanique et à la relation avec le malade, l'autre scientifique à l'excès, au raisonnement Mathématique et ses méthodologies : essais cliniques, méta-analyses, ratios et statistiques... (**Bureau, 2008**)

Cependant, différents extraits de plantes aromatiques tels que l'extrait de sauge, de thym, d'origan, de moutarde... sont des sources potentielles de composants chimiques naturels

responsables d'activité antioxydante. A cet effet, plusieurs essais ont été menés par certains auteurs pour tester l'activité antioxydante de ces différents extraits (**Fasseas et al.,2007** ,**Bouzouita et al .,2008 ., Misharina et al., 2008**).

Alors que notre étude se pose sur la *Salvia officinalis* d'où son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie «sauver», «guérir» ; C'est une des plantes sacrées des anciens. La sauge, appartient à la famille de la menthe (*labiatae*), elle c'est avéré être l'une des plus puissants antioxydants naturels.(**Loïc Fruleux,2009 , Yinrong Lu et Yeap Foo ,2001**).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives, donc l'objectif de notre travail consiste à l'étude de l'activité antioxydant par le test de radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) de cinq extraits (extrait éthanolique, extrait méthanolique, extrait éther de pétrole ,extraits aqueux et huile totale) a partir de la *Salvia officinalis* récoltées dans la région de Ain Témouchent d'Algérie .

Dans ce contexte nous avons essayée de réalisé un travail comprend trois parties, la première est une étude bibliographique comporte trois chapitres : le premier ou y'a des informations concernant le stress oxydatif ; les antioxydants et les radicaux libre .le second, des explications sur les plantes médicinales et le derniers c'est une description de la plantes étudier. La deuxième partie est expérimentale consacrée à la présentation des travaux personnels, comporte, extraction des extraits ; Détermination d'activité antioxydant par les méthodes de DPPH. Une troisième partie, résultats et discussion et enfin une conclusion.

1- Radicaux libre :

1-1 Définition

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante << libre >> en contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur une orbitale). (Goudable et Favier, 1997).

On appelle radical libre tout corps qui contient un ou plusieurs, électrons libres le rendant très réactif. (Leverve, 2009).

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. (Favier, 2003).

1-2 principaux radicaux libres :

Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxynitrite. (Goudable et Favier, 1997).

1-3 l'origine et mécanisme d'action d'un radical libre

La cytochrome oxydase est le site où intervient la quasi-totalité de l'oxygène que nous respirons. L'oxygène participe à la synthèse de l'ATP en captant très facilement les électrons accumulés le long de la chaîne de transport, de ce fait, la molécule d'oxygène passe par des formes intermédiaires très toxiques que l'on appelle **dérivés actifs de l'oxygène**, les premiers **radicaux libres** de l'organisme.

La cytochrome oxydase est censée retenir ces formes d'oxygène très toxiques, mais environ **5 à 10 %** de ces radicaux libres vont réussir à fuir à l'extérieur de la mitochondrie. (Figure :01). (Lanutrition.fr.2006)

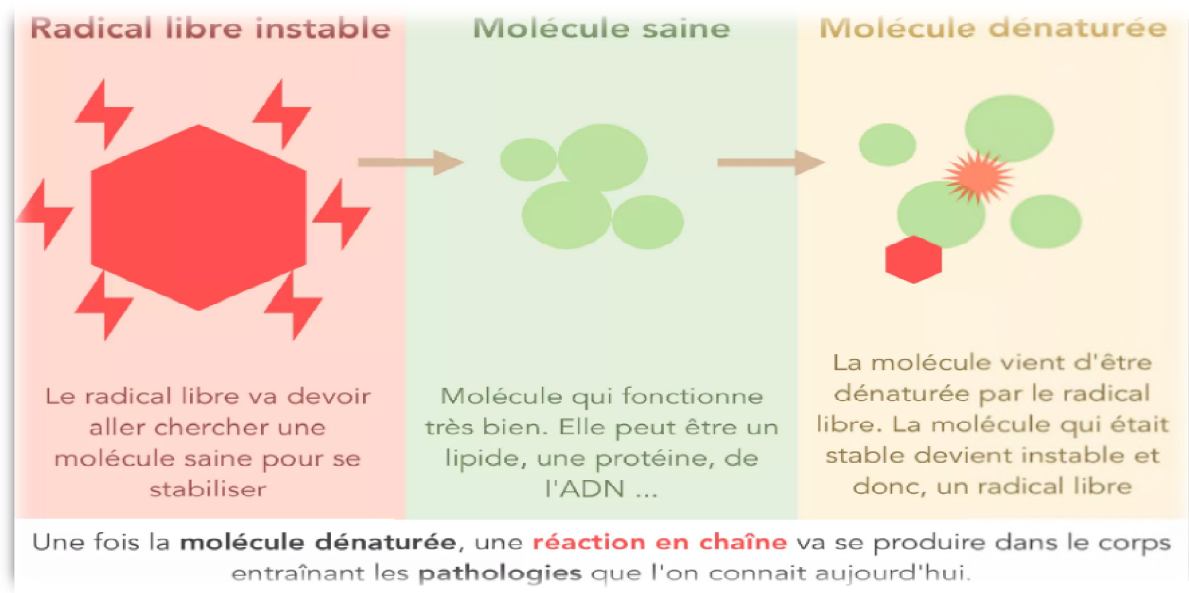


Figure 01 : l'action d'un radical libre instable.

1-4 Sources de radicaux libres et espèces réactives d'oxygènes

1-4-1 Il existe deux sources principales de radicaux libres:

Les radicaux libres de source endogène : produits naturellement de façon interne par le métabolisme de notre organisme.

Les radicaux libres de source exogène : sous l'action du rayonnement solaire, des rayons cosmiques, etc. ... (Paule DAUDIER, 1994.)

Voici une liste des principaux phénomènes qui génèrent des radicaux libres dans l'organisme :

- les produits chimiques en général
- le stress émotionnel
- les diverses infections
- les écarts marqués de température
- les radiations
- les boissons gazeuses à base de caféine (colas)
- la fumée du tabac
- l'air pollué

- l'eau polluée
 - l'alcool
 - le café et le thé
 - les gras rances
 - les brûlures de la peau par les rayons solaires ou les rayons ultraviolets en général
 - le fait de se tenir près d'un four à micro-ondes
 - même remarque dans le cas des téléviseurs et des moniteurs à écran cathodique
 - les rayons X
 - les radiations cosmiques
 - les radiations nucléaires
 - plusieurs additifs alimentaires, en particulier les agents de conservation et les colorants.
- (Naturiste 26 juin 2015)

1-4-2 Espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène, ERO, (en anglais : ReactiveOxygenSpecies : ROS) C'est la production d'étapes successives de réduction d'oxygène qui conduit à la formation d'ERO. Toute réaction impliquant de l'O₂ et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. (Robert Barouki, 2006)

Le terme ROS englobe les radicaux libres oxygène, tels que le radical anion superoxyde (O₂ ·⁻), hydroxyle radical (· OH) et les oxydants non radicaux, tels que l'hydrogène peroxyde (H₂O₂) et oxygène singulet (1 O₂) Les ROS peuvent être interconvertis de l'un à l'autre (selon les processus pertinents) par des mécanismes enzymatiques et non enzymatiques. (Zorov et al., 2014)

2-stress oxydatif

2-1 Définition

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défaillante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant. (Berger, 2006)

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (Favier, 1997).

Le stress oxydatif, défini comme un décalage de l'équilibre entre réactions prooxydantes et antioxydantes en faveur des premières. (Grzegorz Bartosz , 1997)

2-2 Origine du stress :

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes, entraînant l'anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus. (Favier, 2006)

Un déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, va nous provoqué un « stress oxydant ». (Favier, 2003).

2-3 Les conséquences du stress oxydant

1-Des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides)

2- lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. (Alain, 2003)

3-l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives.

4-une augmentation des marqueurs de stress oxydant accompagne la perte de poids et le degré d'atrophie musculaire. (Koechlin-Ramonatxo, 2006)

5-L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique. (Fulbert et Cals, 1992)

3-les antioxydants :

3-1 Définition :

Un antioxydant peut être considéré comme une substance capable d'inhiber une enzyme oxydante spécifique ou une substance qui réagit avec les agents oxydants. Non seulement il est difficile de définir spécifiquement le terme «antioxydant», mais il n'existe pas de définition internationale acceptée (Miguel, 2010).

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (Goudable et Favier, 1997).

3-2 Les systèmes antioxydants

Pour empêcher ces dommages cellulaires, ou les limiter, les organismes ont développé des systèmes de défense antioxydants très complexes faisant intervenir des espèces enzymatiques et non-enzymatiques.

3-2-1 Les systèmes non-enzymatiques

Les défenses antioxydantes non enzymatiques font référence à la neutralisation de l'espèce oxydante par une espèce dite antioxydante. Quand l'espèce oxydante est de nature radicalaire, l'agent antioxydant neutralise le radical en question, mais se transforme lui-même en une espèce radicalaire. (Vamecq et al., 2004)

Les principaux antioxydants non-enzymatiques sont le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique. Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire (Cadenas, 1989)

La vitamine E est une vitamine liposoluble antioxydante majeure, essentielle au fonctionnement des cellules. Elle est présente dans toutes les membranes. (Tessier et Marconnet, 1995)

La vitamine C, hydrosoluble, est le cofacteur de plusieurs enzymes et joue le rôle d'agent réducteur. Cette vitamine est capable de réagir directement avec les radicaux superoxydes, hydroxyles et l'oxygène singulet (Machlin et Bendich, 1987). Paradoxalement, elle peut jouer le rôle d'antioxydant, comme celui de pro-oxydant (McCay, 1985).

3-2-2 Les systèmes enzymatiques

Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde de dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST). (Leverve, 2009) Ce sont des enzymes dont les séquences sont très conservées au cours de l'évolution et qui agissent de manière coordonnée (Figure 02).

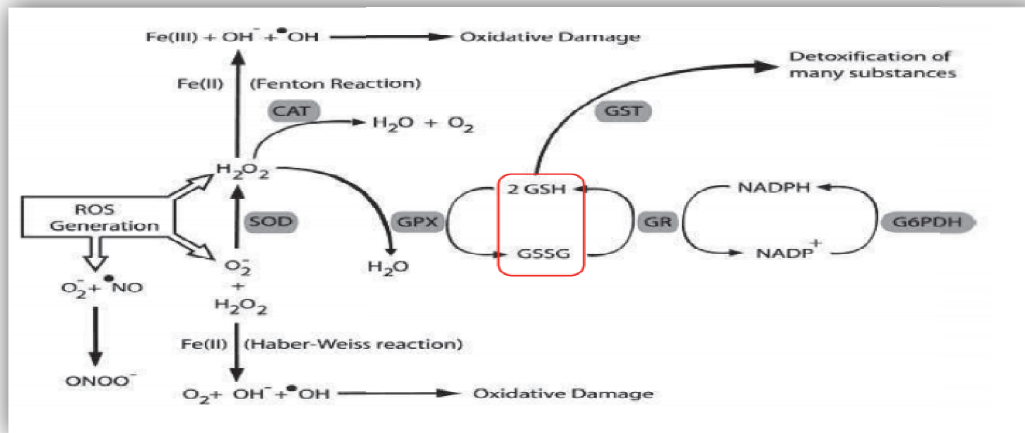


Figure 02 : Les principales enzymes antioxydantes

La superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST). En rouge est entouré le glutathion, sous sa forme réduite GSH et oxydée GSSG. D’après (Hermes-Lima, 2005).

3-2-2-1 La superoxyde dismutase ou SOD

Co-facteur métallique utilisé par l'enzyme, les SOD sont classées en trois groupes: SOD de fer (Fe SOD), SOD de manganèse (Mn SOD) et SOD de cuivre et de zinc (Cu-ZnSOD), situées dans différents compartiments de la cellule. (Ruth Grene et all , 2002)

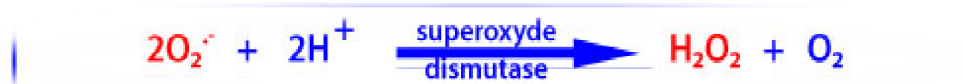


Figure 03 : Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase

3-2-2-2 Glutathion peroxydase et glutathion réductase

La glutathion peroxydase (GSH-peroxydase) et la glutathion réductase (GSH-reductase) constituent le second grand système enzymatique antioxydant des cellules.

✓ Glutathion peroxydase (GSH-peroxydase)

La GSH-peroxydase, enzyme à sélénium présente à la fois dans le cytosol et la mitochondrie, transforme le peroxyde d'hydrogène mais aussi les peroxydes lipidiques. Le peroxyde d'hydrogène et les lipoperoxydes sont réduits en présence de glutathion. Deux molécules de glutathion cèdent deux H au peroxyde d'hydrogène. Les deux glutathions forment une liaison dissulfure alors que le peroxyde d'hydrogène donne deux molécules d'eau H₂O. (Adjélé et al., 2003)

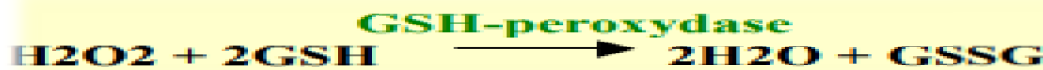


Figure 04 : Une molécule de peroxyde d'hydrogène est réduite par deux glutathions pour donner deux molécules d'eau et du glutathion sous sa forme

✓ La glutathion réductase ou GR

Le taux de glutathion réduit (GSH) intraérythrocytaire est maintenu en partie grâce à un système enzymatique faisant intervenir la glutathion réductase (GR) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), qui vont à leurs tours maintenir l'intégrité cellulaire du globule rouge en protégeant l'hémoglobine et la membrane érythrocytaire contre les effets oxydants. (Bhatia et Charet, 1984)

Chez l'homme la diminution du taux de la globule rouge avec le vieillissement, contribuent à augmenter le stress oxydatif. (Vander et al., 1997)



Figure 05 : La glutathion sous sa forme oxydée est régénéré en glutathion par la GSH réductase qui utilise du NADPH.

3-2-2-3 La catalase ou CAT

La catalase est une enzyme tétramérique contenant un groupe hème qui catalyse, d'où son nom, la décomposition du H₂O₂ en H₂O et O₂. Son action a été découverte au début du 19^{ème} siècle par un français . (Jean-Philippe Béguel 2012)



Figure 06 : Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase.

1- Historique des plantes médicinales

La médecine par les plantes est née en Inde près de 5000 ans avant JC et s'est propagée en même temps que le bouddhisme dans toute l'Asie. (UNESCO.2012)

La plus ancienne preuve écrite de l'usage de plantes médicinales a été trouvée sur une plaque d'argile sumérienne de Nagpur. (Kelly,2009)

Le livre chinois sur les racines et les herbes «Pen T'Sao», écrit par l'empereur Shen Nung, vers 2500 av. J.-C., traite 365 médicaments (parties séchées de plantes médicinales), dont beaucoup sont encore utilisés de nos jours Rhei rhizoma, camphre, Theae folium, Podophyllum, la grande gentiane jaune, le ginseng, l'herbe jimson, l'écorce de cannelle et de l'éphédra. (Bottcher et al., 1965 ; Wiart, 2006).

Les livres sacrés indiens Vedas mentionnent le traitement aux plantes, qui sont abondantes dans ce pays. De nombreuses plantes à épices utilisées encore aujourd'hui, proviennent d'Inde: noix de muscade, poivre, clou de girofle, etc. (Tucakov, 1971).

1-1 Définition des plantes médicinales

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Ils présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité (Selles, 2012)

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. (Biljana ,2012)

1-2 Origine des plantes médicinales

Les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'en croiser tous les jours. De plus, on distingue les plantes herboristes « traditionnelle », et les plantes qui constituent une matière première pour l'industrie pharmaceutique (Dr Jean-Michel Moral ,s.d.).

1-2-1 Plantes sauvages

Selon (Saint Romain, s.d.) , Affublées du nom peu flatteur de 'mauvaises herbes' ces plantes sont pourtant bio-indicatrices de la nature du sol et servent d'abri et de nourriture à de nombreux auxiliaires du jardinier.

1-2-2 Les plantes de culture

Les plantes de culture proviennent de plantes sauvages, c'est des espèces qui varient vite et s'hybrident aisément (c'est à cette puissante variation qu'est dû le développement de leurs propriétés caractéristiques) (Renaudet Georges ,1954).

1-3 Les principes actifs des plantes médicinales

Les effets bénéfiques des plantes sur la santé sont dus au fait qu'elles contiennent des substances appelées principes actifs, responsables de leurs effets thérapeutiques. (Dr Jesus Cardenas, 2014).

1-3-1 Composés phénolique

Les polyphénols sont une caractéristique des plantes depuis leur apparition précoce. Ces composés, également appelés métabolites secondaires (Patricia Garcia-Salas et al.,2010)

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (**Figure 07**) (Salunkhe, 1990).

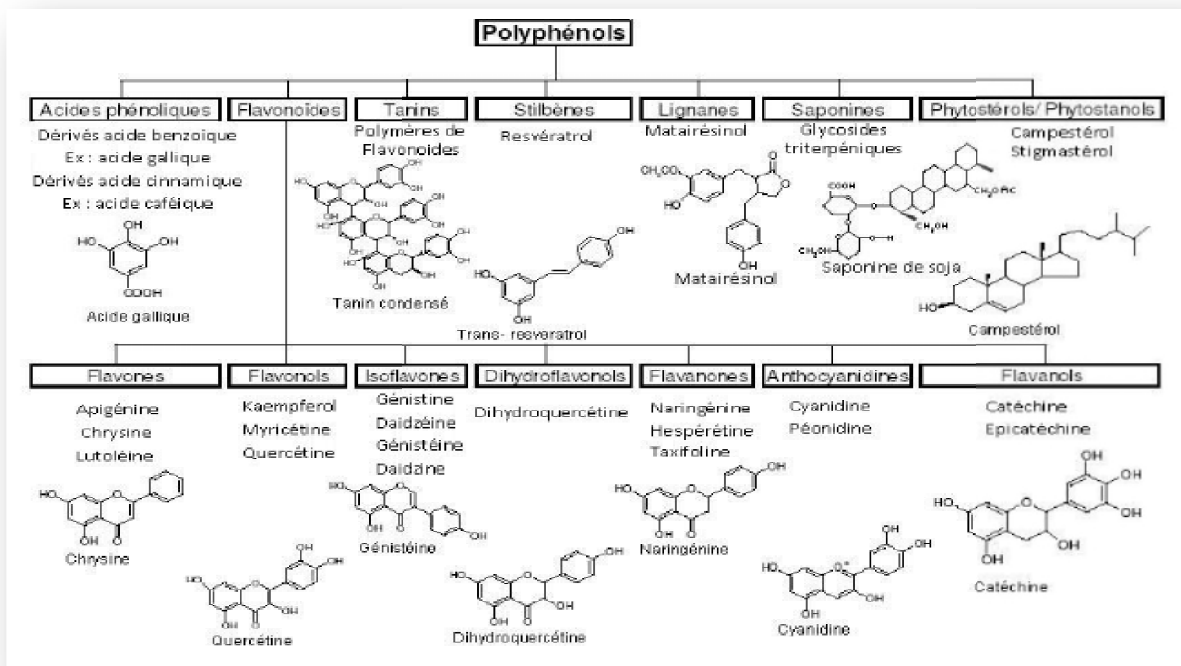


Figure 7 : Les différentes classes des composés phénoliques

1-3-1-1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement. (Ghedira, 2005)

Constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires (Erlund, 2004).

L'activité antioxydante des flavonoïdes a surtout attiré l'attention, en raison de leur capacité à réduire la formation de radicaux libres et à les éliminer. (Pietta, 2000).

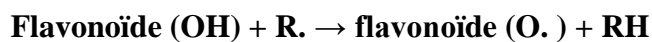


Figure 08 : La propriété des flavonoïdes et leurs capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (OH·), anions superoxydes (O₂·-) et radicaux peroxylipidiques .

1-3-1-2 Les tanins

Molécules très complexes, sont divisés en deux types: les tanins éllagiques et les tanins condensés. (Alain, 2010), Leurs poids moléculaires vont de 500 à 3000, et on les trouve dans presque toutes les parties de la plante: écorce, bois, feuilles, fruits et racines (Cowan ,1999).

Aujourd'hui, on distingue : - Les tanins hydrolysables, esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique ou de l'acide ellagique (Figure 09).

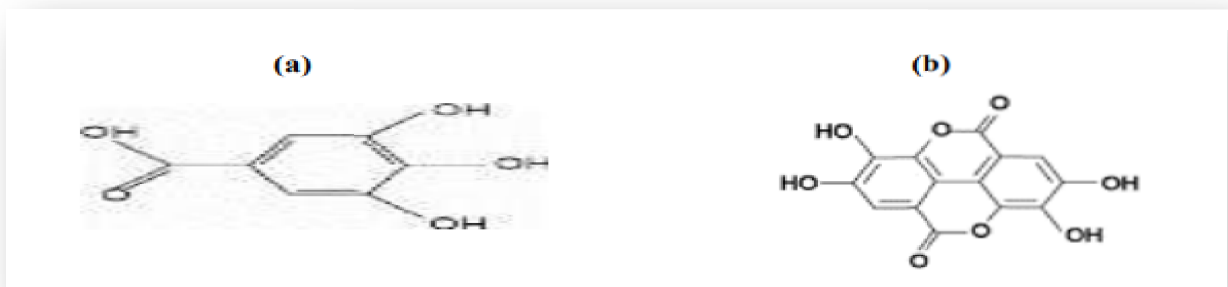


Figure 09 : Structure de l'acide gallique (a) et structure de l'acide ellagique (b)

Les tanins condensés ou proanthocyanidols, (Figure 10) non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. (Gavot, 2009)

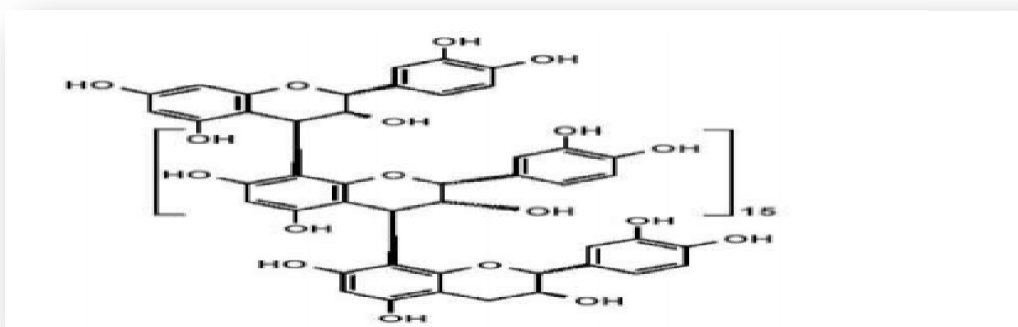


Figure 10 : Structure des tanins condensés

1-3-1-3 Les anthocyanes

Ils appartiennent à la famille des molécules appelées poly phénols ,ce sont des pigments hydrosolubles qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (Malien , 2004).

Classées parmi les flavonoïdes, les anthocyanes sont caractérisés par le squelette C6-C3-C6 (**Figure 11**). Ce sont des glucosides formés de l'association d'un aglycone appelé anthocyanidine et d'un sucre substitué en position 3. (Cheikh Beye , 2015)

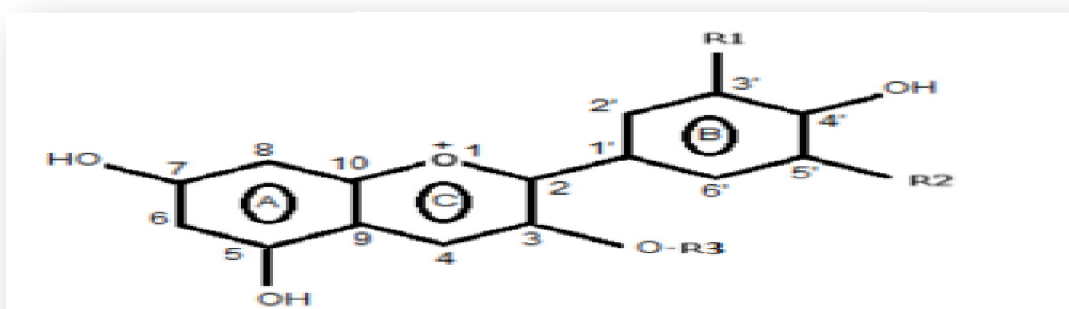


Figure 11 : structure des anthocyanes

1-3-1-4 Les coumarines

Sont des substances naturelles dérivant de la benz- α -pyrone; ils résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique.(Dr Sahraoui W,s.d.)

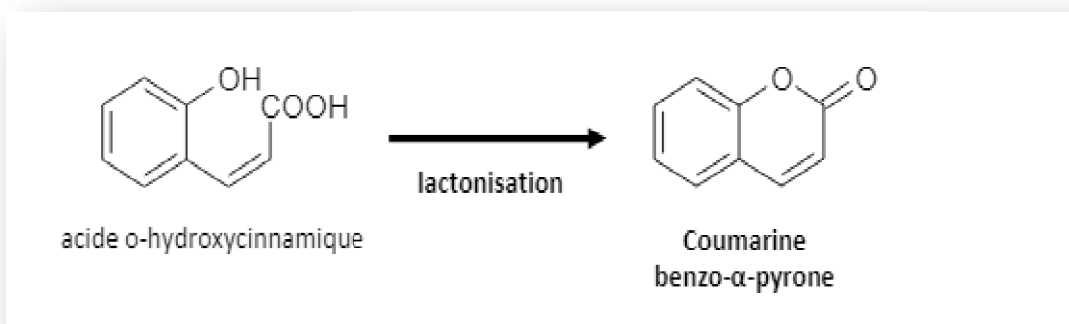


Figure 12 : lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique en coumarine benzi- α -pyrone.

Le nom coumarine vient de « cumaru », qui représente, en langue amazonienne,. En effet, aujourd'hui, près d'un millier de coumarines ont été décrites dans plus de 800 espèces de plantes et dans des micro-organismes (Lacy A et O'Kennedy R , 2004).

1-3-2 Les composés terpéniques (isoprénoïdes)

Les termes terpénoïdes, terpènes et isoprénoïdes sont souvent utilisés de façon interchangeable et proviennent de térébenthine (lat. balsamum terebinthinae), une huile essentielle dont les composés majeurs sont des terpénoïdes et qui est obtenue par distillation de la résine de conifères (Phillips & Croteau, 1999).

Les terpénoïdes constituent la famille de produits naturels la plus diverse structurellement, stéréochimiquement et fonctionnellement avec plus de 55 000 molécules identifiées à ce jour dans toutes les formes de vie (Christianson, 2008).

1-3-2-1 Les saponines

Sont généralement connues sous le nom de composés non volatiles, tensioactifs, largement répandus dans la nature. se produisant principalement dans le règne végétal (Vincken et al., 2007)

1-3-3 Les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. (Koné, 2009)

Sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs ,et douées à faible dose, de propriétés physiologiques marquées.(Bruneton, 1999)

1-Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. Les extraits des plantes étaient, déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales. (FELLAH et al. ,2006)

Salvia officinalis est une plante méditerranéenne, localisée sur calcaire et sur gypse dans les régions basses d'Europe méridionale. Elle a été introduite dans toute l'Europe où elle est fréquemment cultivée. (Afzal-Rafii,1976).

La sauge est une plante très ramifiée, aux tiges de section carrée, à la base lignifiée mesure de 20 à 30 centimètres. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Les feuilles opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, veloutées, oblongues, rugueuses, à bord dentelé réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège. Les fleurs, bleu-rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis. Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, elle est cependant rare à l'état sauvage. Sa hauteur est de 50 à 60 cm (Maatoug, 1990).



Figure 13 : *Salvia officinalis*, photo prise à l'intérieur de l'Université d'Ain Témouchent, en mai 2019.

2- Description botanique

Les sauges se présentent comme des sous-arbrisseaux touffus, buissonnants, émettant dès la base des rameaux droits de 30 à 60 cm, parfois plus, suivant l'espèce. Les fleurs, de couleur violette, tirant parfois sur le bleu. Les feuilles, de couleur gris blanchâtre, sont épaisses et très aromatiques. (Michel Wylock , 1970)

Les sauges sont d'origine strictement méditerranéenne et il n'y a pas d'autre centre. (N. Vavilov s.d.).

La *Salvia officinalis* affectionne les régions ensoleillées et sèches. Pour cette raison, on la trouve en grande quantité tout autour du bassin méditerranéen. Elle est semée au printemps et ses feuilles ovales et laineuses, d'une couleur gris-vert, sont généralement récoltées en été. La sauge produit de petites fleurs disposées en épis, d'une couleur violette ou bleue. (Dr Jesus Cardenas , 2017)

2-1 Classification classique

Selon Cronquist 1968 :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>officinalis</i>

3-Propriétés et usages

Depuis l'ancien fois il a été utilisé comme agent aromatisant dans une variété de préparations alimentaires aussi comme un efficace conservateur d'aliments naturel

particulièrement mis en évidence depuis sa déclaration à l'Autorité de sécurité des aliments en 2008. (DRAGANA et al., 2010).

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie: *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie «guérir». Sa saveur est chaude, amère et astringente, elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi à divers degrés des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfique sur les menstruations) (Duke et al., 2002).

4- Recommandation

Les sauges sont devenues très « tendance » dans nos jardins. N'y a-t-il pas lieu de s'en réjouir, sachant que ce genre *Salvia*, riche de plus de 900 espèces, met à notre disposition une extraordinaire palette de formes, de couleurs, de parfums et de textures. (Christian Froissart, 2008)

Antiseptique, antispasmodique, antisudorale, apéritive, bactéricide, calmante, céphalique, coronarienne, digestive, énergétique, enraye la montée de lait, diurétique léger, emménagogue, fébrifuge, laxative, fluidifiant sanguin, stimule la mémoire, tonique (Bernard et Annie, 2002)

5-Principe clinique

Sauge est une herbe populaire qui a été utilisée dans les préparations alimentaires depuis l'Antiquité, elle traite toutes sortes de maux, couramment utilisé comme remède à la maison principalement pour aider à sécher le lait de la mère, pour réduire la sécrétion de la salive, inhibiteur de la peroxydation lipidique et cette activité est attribuée principalement à la présence de composés phénoliques. (Lu Y. et Foo LY, 1999)

Autres études expérimentales sur des extraits de sauge ou l'huile essentielle ont montré des propriétés hypotensives, centrale système dépresseur du système nerveux et antispasmodique activité, tandis que le traitement antimutagène. (D. Baricevic et al., 2000)

6- Principe actif

Huile essentielle (dont 50% de thuyone), diterpènes, tanins, composés phénoliques, mucilage, oestrogènes, antioxydants, vitamine K (doctissimo.fr, s.d).

7-Principaux constituants

- ✚ Huile essentielle.
- ✚ Composés phénoliques dont l'acide rosmarinique.
- ✚ Tanins.
- ✚ flavonoïdes .
- ✚ Riche en oestrogènes (hormones féminines) .
- ✚ Salvène (Teuscher *et al.*, 2005).

1- Matériel végétal

1.1 Choix de la plante

L'objectif de ce travail est la valorisation d'une plante médicinale (*Salvia officinalis*) poussant à l'état spontané dans la région d'**AIN TEMOUCHENT** et cela par l'étude de son activité antioxydant.

1.2 Collecte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est *Salvia officinalis* (feuilles et tiges) récoltée dans l'une des communes d'**AIN TEMOUCHENT** plus exactement **AGHLAL** en février 2019.

2-Matériels utilisés

2.1 Appareillages et logiciels utilisés

- Spectrophotomètre «Jenway».
- Des agitateurs «**wisestir**».
- Etuve « Memmert »
- Un réfrigérateur.
- Rota vapeur«Stuart»
- Excel 2007 pour les calculs et le traitement des résultats.
- Spectr Vortex (VELP Scientifica).
- Balance de précision.
- Balance.
- Broyeur
- Hotte chimique. « Schneider »
- l'ampoule à décanter « Pettberg»

2.2 Matériels

- Une balance électronique.
- Fiole jaugées de 25ml, 100ml, 200 ml et 250 ml.
- Becher de 25 ml, 50 ml, 100 ml et 1000 ml.
- Filtre à café.
- Papier aluminium.

- Para film.
- Pissette d'eau distillée.
- Erlenmeyers.
- Spatule.
- Micro-spatule.
- Papier absorbant.
- Entonnoir.
- Tube en verre.
- Cuves
- Pipette.
- Micropipettes.
- Portoir.
- Marqueur.
- Cuve.

2.3 Réactifs

- Ether de pétrole.
- Ethanol.
- Eau distillé.
- Méthanol.
- Hexane
- DPPH.

3. Préparation des échantillons

3.1 Séchage de la plante

Salvia officinalis fraîchement collecté a été séché à l'ombre, à température ambiante et dans un endroit sec à l'abri de l'humidité pendant quelques jours jusqu'au moment de la préparation des extraits.



Figure 14 : *Salvia officinalis* avant et après séchage a l'ombre.

3.2 LE BROYAGE

Le broyage des échantillons on été réalisé à l'aide d'un broyeur électrique, et ce afin d'obtenir des poudres granulométrique plus au moins fine.



Figure 15 : Broyage de la plante « *SALVIA OFFICINALIS* » sèche.

4. Préparation des extraits

4.1 Les extrais : éthanolique-méthanolique-éther de pétrole

Une quantité de 50g de poudre de matériel végétal a été mise à macérer dans 200 ml de solvant absolu sous agitation magnétique durant 24h à une température ambiante, à l'obscurité en utilisant du para film pour fermer et éviter toute évaporation et recouvrant avec de l'aluminium. Les solvants à polarité croissante utilisés dans l'extraction sont : éther de pétrole (EPP), éthanol (EtOH), méthanol (MeOH). Les macéras ont ensuite été filtré sous vide,

évaporé à sec sous pression au Rotavapeur, séché à poids constant dans la hôte, enfin la conservation au réfrigérateur. (W. Bouzid et al.,2011 ; Biallo et al., 2004 ;Falleh et al., 2008)

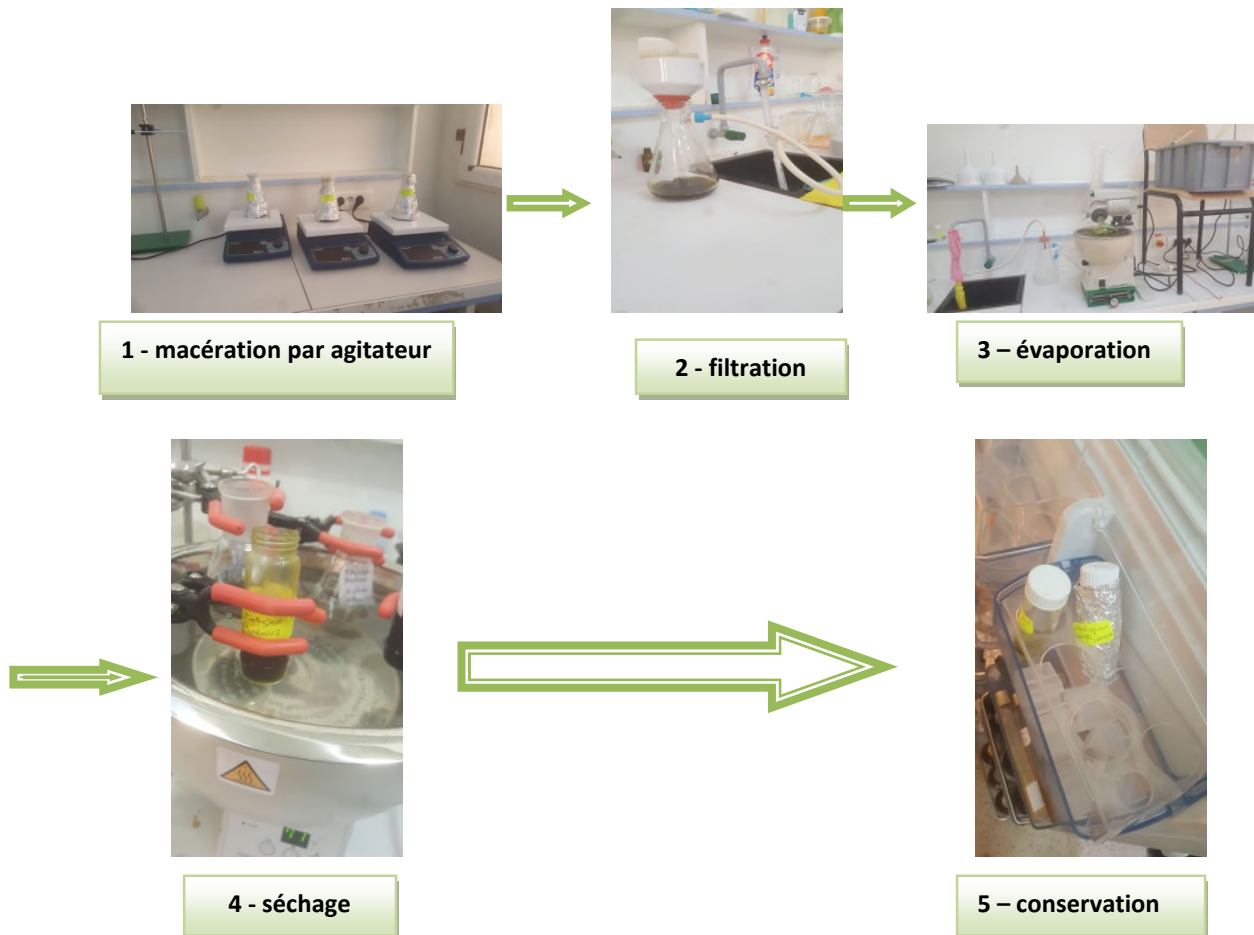


Figure 16 : les cinq étapes d'extraction

NB : la préparation des témoins était similaire à celle des extraits.

4.2 Huile totale

On a d'abord préparé un extrait méthanolique, avec 50 g de poudre de *Salvia officinalis* et 200ml de méthanol- filtré - une macération pendant 24h sous agitation.

Dans l'ampoule à décanter, 200 ml de l'extrait méthanolique est ajouté à 50 ml de l'hexane .Après agitation deux phases ont été obtenues, une phase aqueuse plus dense qui apparaît au-

dessous et une phase organique, contenant les lipides. L'ampoule a été reposée sur un support fixe, le bouchon enlevé et laisser décanter de manière à récupérer la phase aqueuse.

Cette étape a été répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'hexane a été par la suite évaporé. L'extrait résultant est considéré comme huile totale (HT) de *S.officinalis*



Figure 17 : Extraction de l'huile totale

4- 3 Extraction aqueuse

L'extrait aqueux de *Salvia officinalis* est obtenu à partir de 50 g de sa poudre que nous faisons mélanger avec 500 ml d'eau distillée. Ce mélange est agité pendant 24 heures par un agitateur magnétique. Ensuite la solution est filtrée sur du coton hydrophile et sur papier filtre (filtration sous vide). Ce filtrat a ensuite été séché à 50 °C dans l'étuve jusqu'à l'obtention du poids constant. (Soro et al., 2009 ; Moroh et al., 2008)

NB :

- Nos extractions ont permis d'obtenir cinq extraits: un extrait aqueux (AQ), l'huile totale (HT). Trois extraits organique : extrait éthanoïlique (EtOH), extrait éther de pétrole (EPP), extrait méthanolique (MeOH).
- Les extraits secs sont conservés à l'obscurité jusqu'à utilisation au réfrigérateur.

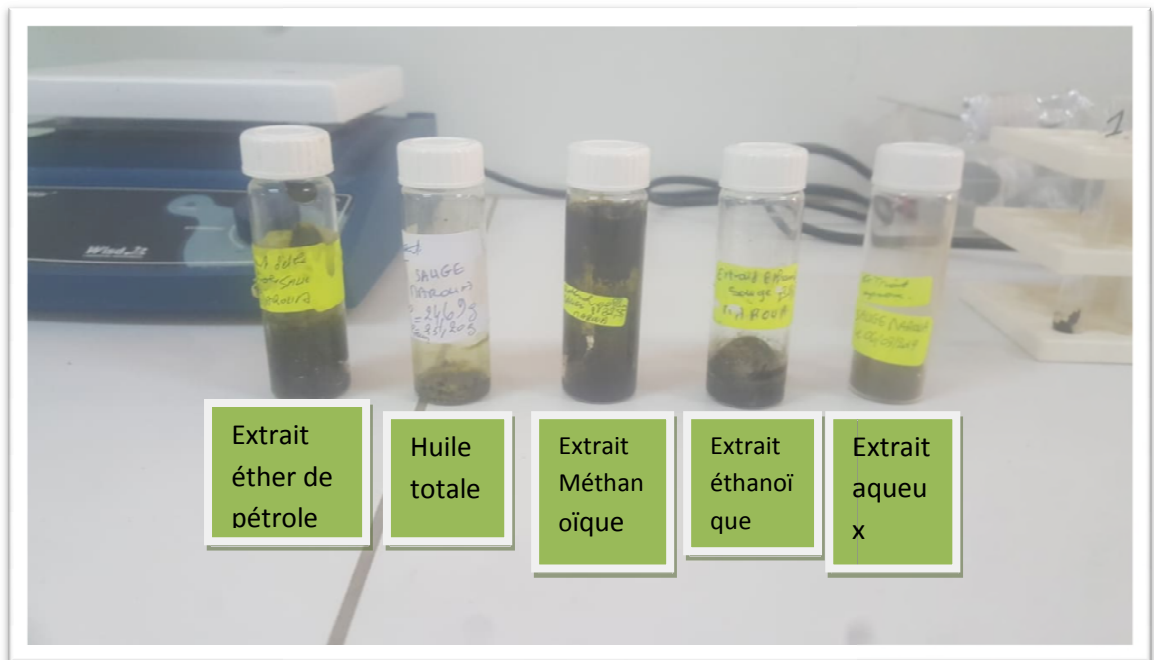


Figure 18: Les cinq extraits de *Salvia officinalis*

Extraits	Constituants probables	Références
EP	Cires, chlorophylle, lipides, acides gras, stérols, triterpènes, caroténoïdes, huiles essentielles, flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, coumarines.	Ciulei, 1981
ET	Stérol+triterpènes, Alcaloïdes, Tannins galliques, Anthraquinones lib, Sucres réducteurs, Polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux, Flavanones, Coumarines, Gitoxine	Yala et al., 2016
DCM	Terpénoïdes, polyphénols aglycones (flavonoïdes, coumarines, tanins, anthracenosides), chlorophylle.	Ciulei, 1981
hexane	Alcaloïdes, flavonoïdes, stérol et polyphénols.	Touré, 2011
AQ	Flavonoïdes, aminoacides, terpènes, cires, tanins.	Ciulei, 1981

Tableau 03 : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés.

5- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par: (MAHMOUDI et al., 2012).

$$R (\%) = 100 \text{ Mext/Méch.}$$

Où :

R : est le rendement en %

Mext : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

Méch : est la masse sèche de l'échantillon végétal en g.

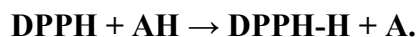
6. Étude de l'activité antioxydant

6-1 L'activité antioxydant des extraits

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl).

6 -1-1 Principe

L'activité antiradicalaire est mesurée par la dégradation du DPPH, qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydants, ce qui explique la disparition de sa coloration. Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical, qu'on peut détecter par un spectrophotomètre-UV. (Ksouri Riadh , 2011)



(violette)

(Incolore)

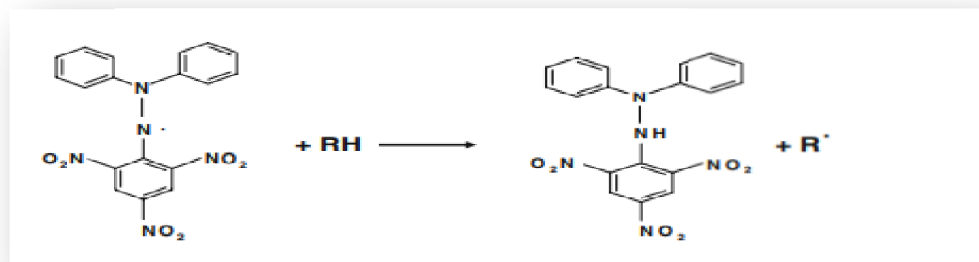


Figure 18 : La structure de DPPH • (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et Sa réduction par un antioxydant (Ramadan, 2010)

6-1-2 Mode opératoire

- Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Seung-cheol et al., 2004). Un volume de 2 ml de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,078 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 2 ml du méthanol avec 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible. Des standards de référence (acide ascorbique, catéchol et acide tannique) ont également été analysés en respectant la même technique.

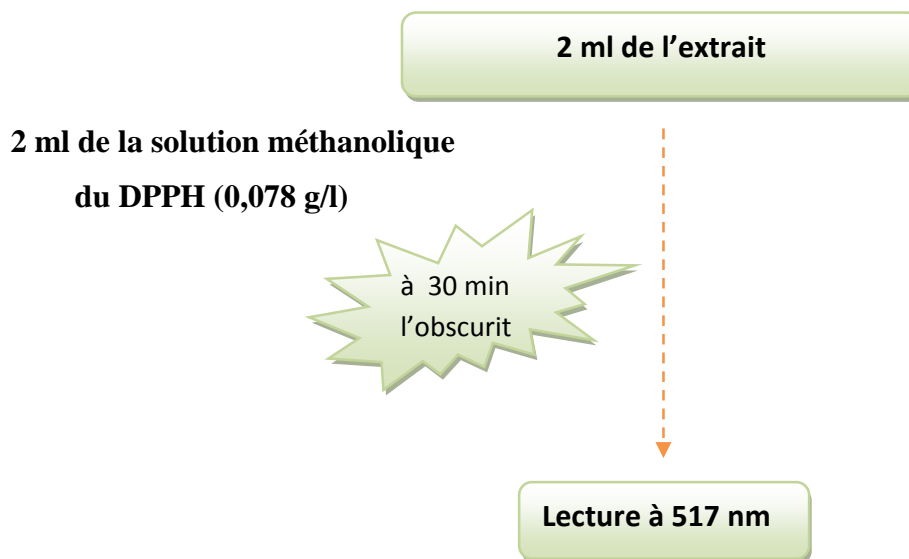



Figure 19 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH selon Seung-cheol et al.,2004

- Par des dilutions en cascade des différents composés à tester ainsi que des substances de référence (acide ascorbique, catéchol et acide tannique), nous obtenons une gamme de concentrations. Pour chacune d'elles nous mesurons les densités optiques à 517 nm

et, les valeurs obtenues permettent de tracer des courbes à partir desquelles nous pouvons déterminer le % de DPPH restant et la valeur de l'IC₅₀.

 La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC₅₀) ; la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur d'IC₅₀ est exprimée en mg.ml⁻¹

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante:

|témoin| - |échantillon|

Pourcentage d'inhibition du radical DPPH = _____

|témoin| × 100

I -Résultats

1-calculs des Rendements

- Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure suivante

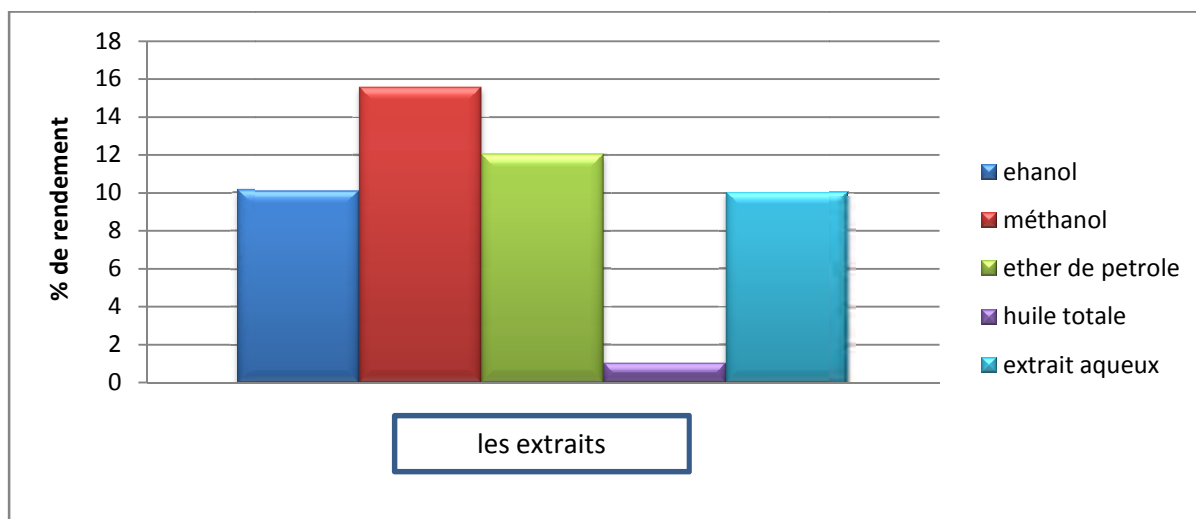


Figure 21 : Histogramme des valeurs du rendement de chaque extrait

- La figure N°20 montre qu'il existe une différence légère entre les rendements des quatre extraits (EMeOH-EEtOH-EAQ-EPP), par exception l'EHT en fonction de solvants utilisés.
- Le meilleur résultat de rendement on a le **MeOH** avec le pourcentage le plus élevé 15,6 %, suivie par celui de EEP 12,04 %, puis l'extrait EtOH à donné un rendement de 10,5 %, ensuite l'extraits AQ avec 10,14 % et enfin HT avec le rendement le plus faible 1,02 %.
- On remarque que les extraits « EMeOH et EEP » ont donné les proportions les plus élevées en comparaison avec les autres extraits (EtOH, AQ et HT).

2-L'activité antioxydant des extraits

- ✓ Les figures suivantes rapportent les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des différentes concentrations utilisées en extrait, en acide ascorbique, catéchol et acide tannique. Elles montrent leurs importances à différentes concentrations ; ce qui assure la présence des composés qui peuvent réduire le radical DPPH.
- ✓ Pour une meilleure comparaison, trois antioxydants standards sont utilisés : l'acide ascorbique, catéchol et acide tannique.

Et

- ✓ La capacité antioxydante de nos différents extraits est déterminée à partir des IC_{50} , paramètres couramment utilisés pour mesurer l'activité antioxydante.
- ✓ Les IC_{50} sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé .

2-1 l'activité antioxydant de l'éthanol

Au vu de la figure ci-dessous, on a pu calculer l' iC_{50} de notre extrait qui est l'EtOH et cela était de $3,861 \cdot 10^{-2}$ mg /ml.

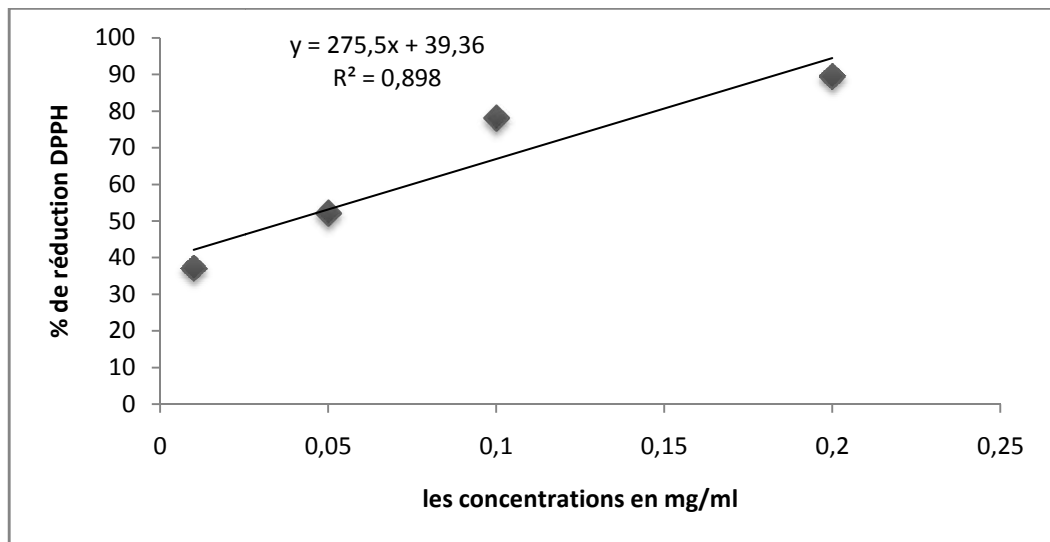


Figure 21 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'éthanol

2-2 l'activité antioxydant du méthanol

Au vu de la figure ci-dessous, on a pu calculer l'iC50 de notre extrait qui est le MeOH et cela était de $3,597 \cdot 10^{-2}$ mg/ml.

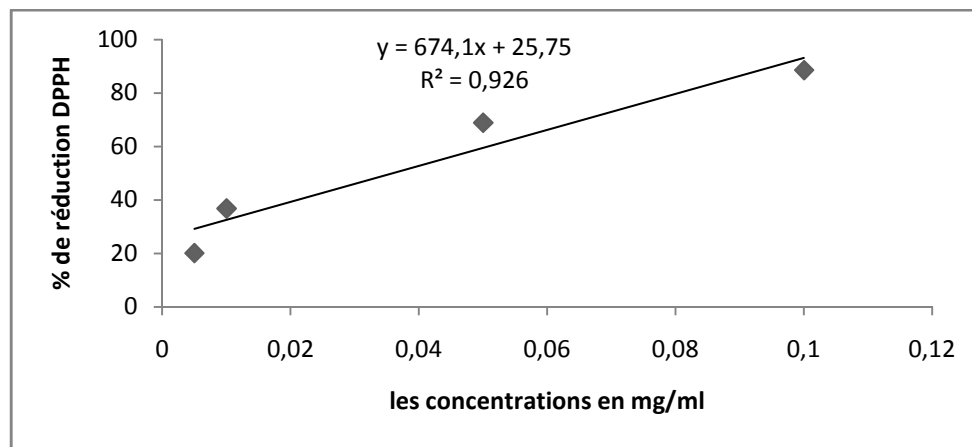


Figure 22 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH du méthanol

2-3 l'activité antioxydant de l'éther de pétrole

Au vu de la figure ci-dessous, on a pu calculer l'iC50 de notre extrait qui est EEP et cela était de $5,686 \cdot 10^{-2}$ mg/ml.

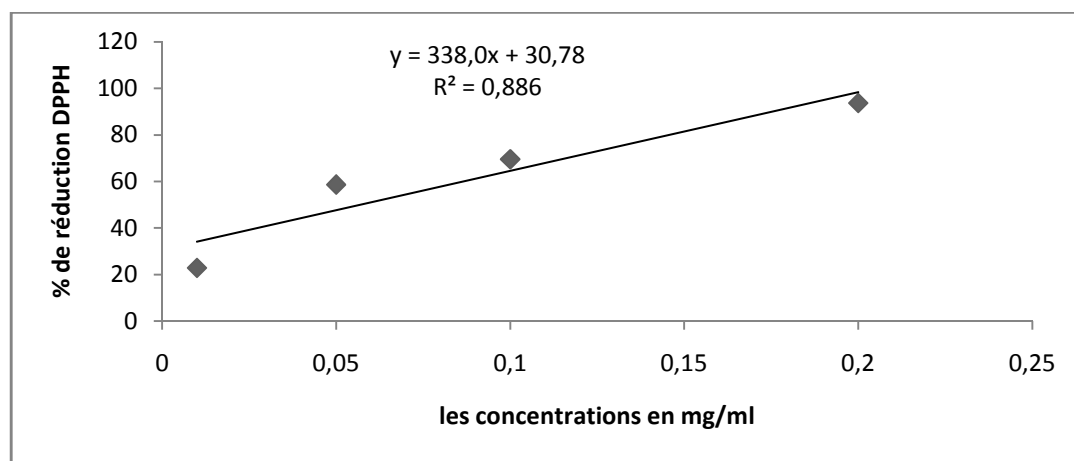


Figure 23 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'éther de pétrole

2-4 l'activité antioxydant de l 'huile totale

Au vu de la figure ci-dessous, on a pu calculer l'ic50 de notre extrait qui est l'HT et cela était de $5,254 \cdot 10^{-2}$ mg /ml.

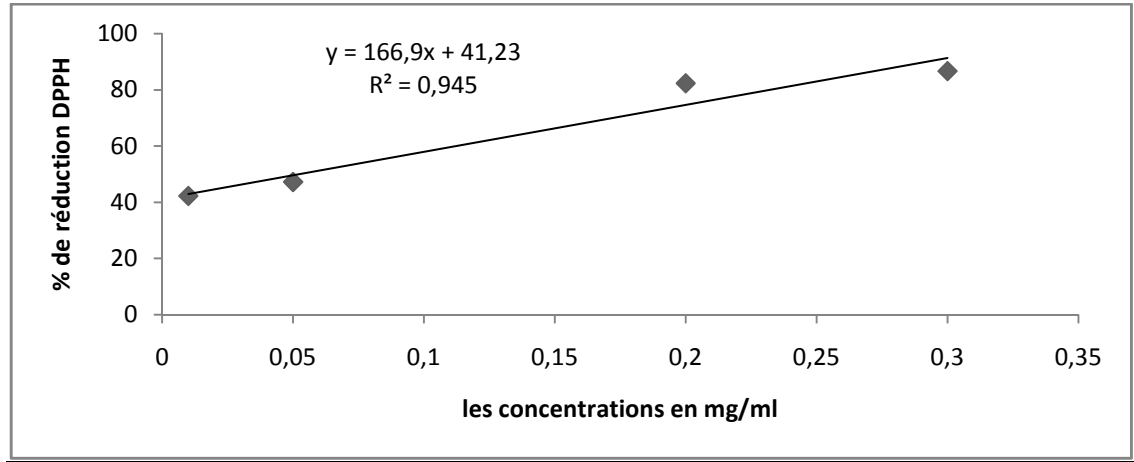


Figure 24 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l 'huile totale.

2-5 l'activité antioxydant de l'extrait aqueux

Au vu de la figure ci-dessous, on a pu calculer l'ic50 de notre extrait qui est l'AQ et cela était de $1,158 \cdot 10^{-2}$ mg /ml.

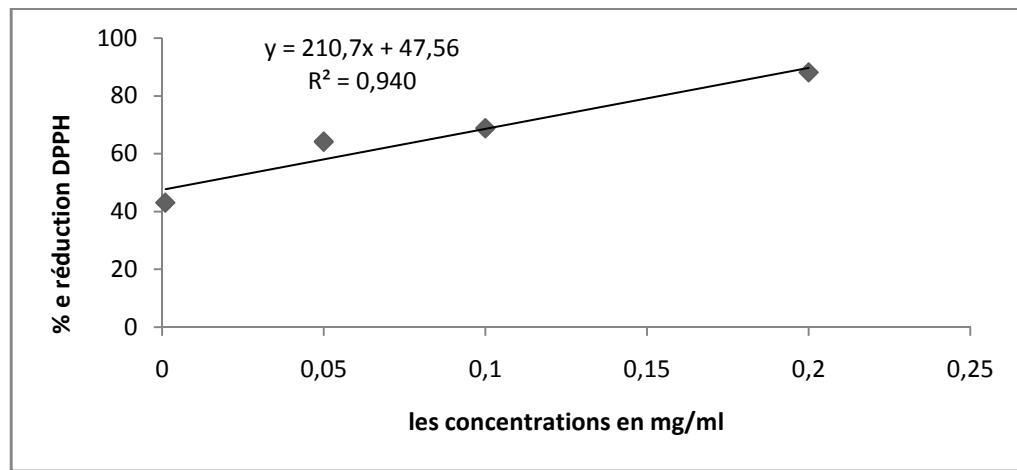


Figure 25 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'extrait aqueux

3- Activité antioxydante des témoins

3-1 Activité antioxydante de l'acide ascorbique

A l'aide du graphe, on a pu calculer l'IC50 de l'acide ascorbique est cela était de $0,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml

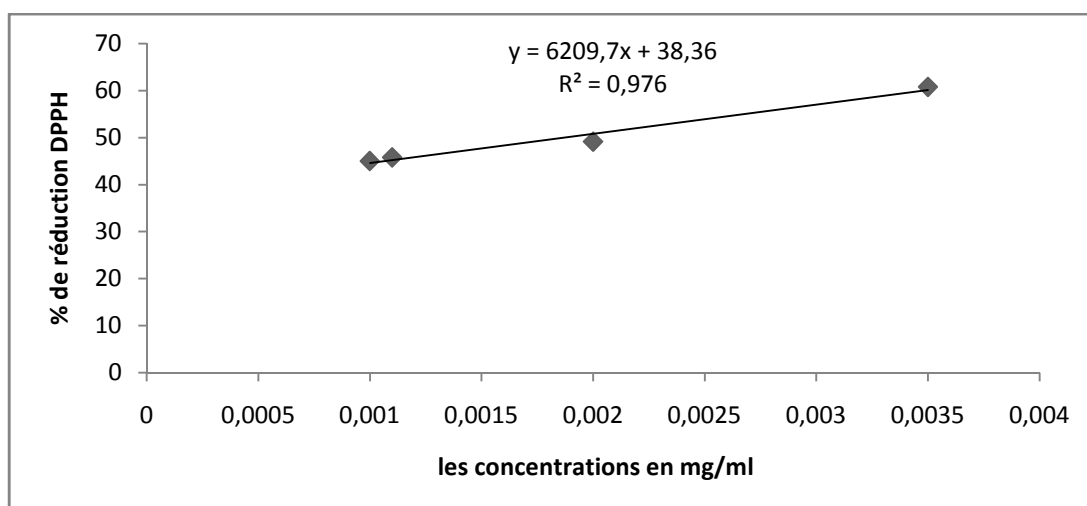


Figure 26 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'acide ascorbique

3-2 Activité antioxydante du catéchol

A l'aide du graphe, on a pu calculer IC50 du catéchol est cela était de $2,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml

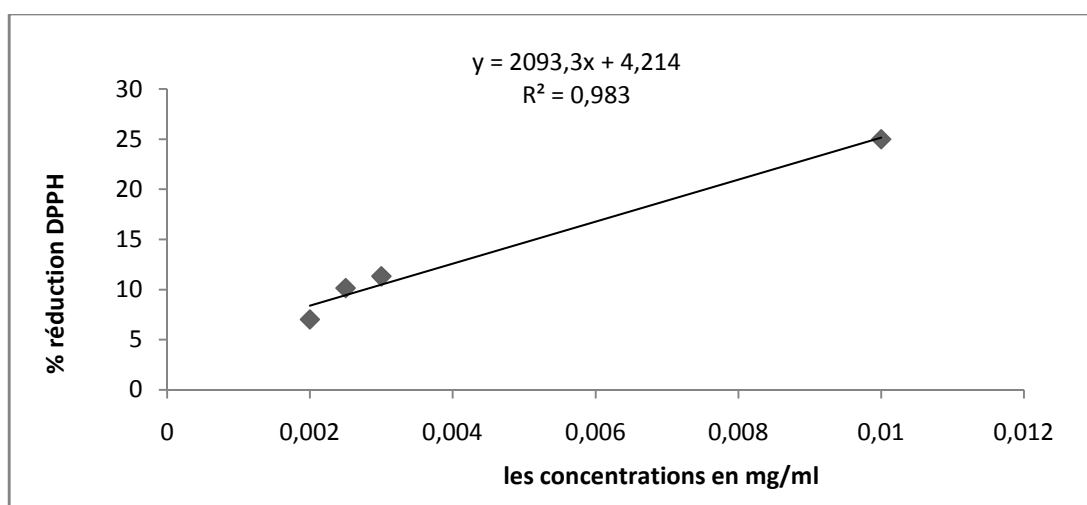


Figure 27 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH du catéchol

3-3 Activité antioxydante de l'acide tannique

A l'aide du graphe, on a pu calculer IC₅₀ de l'acide tannique est cela était de 0,61 10⁻² mg/ml.

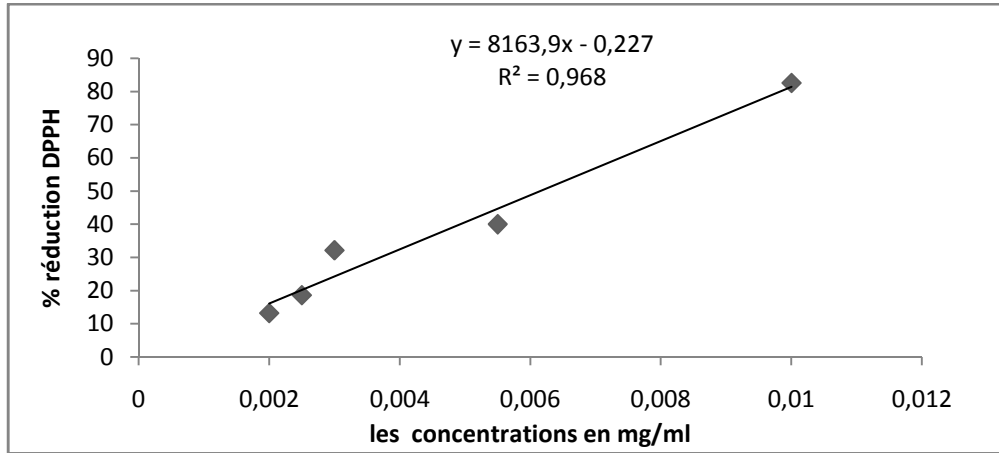


Figure 28 : Courbes d'étalonnage antiradicalaire DPPH de l'acide tannique

4- la comparaison entre IC₅₀ des différents extraits

En comparant les IC₅₀ des différents extraits testés nous remarquons une activité antioxydante élevée pour EAQ en première position tout comme EMeOH qui vient en seconde position.

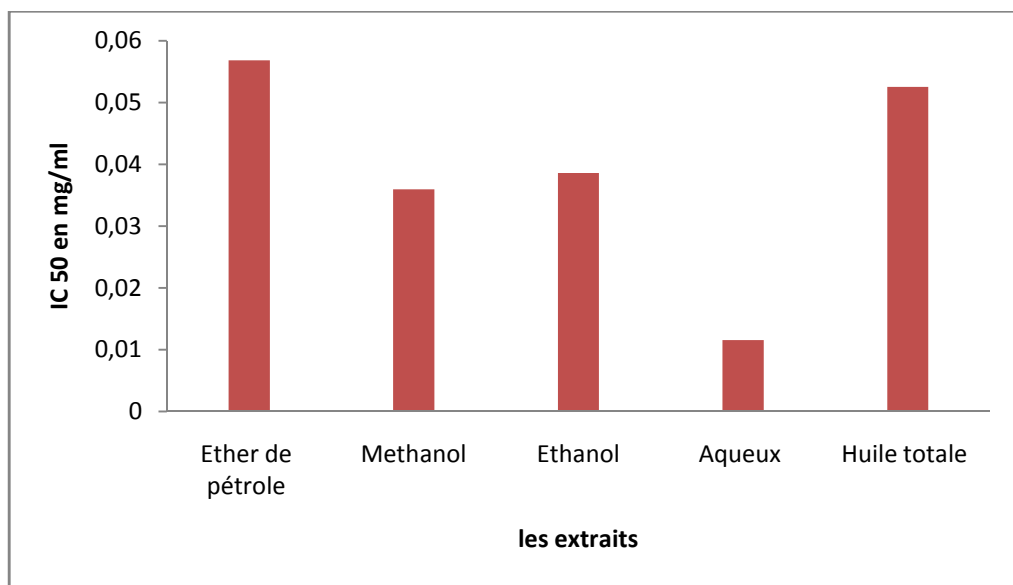


Figure 29 : Histogramme des valeurs de concentration inhibitrices 50 des différents extraits en mg/ml.

5- la comparaison entre IC50 des différents témoins

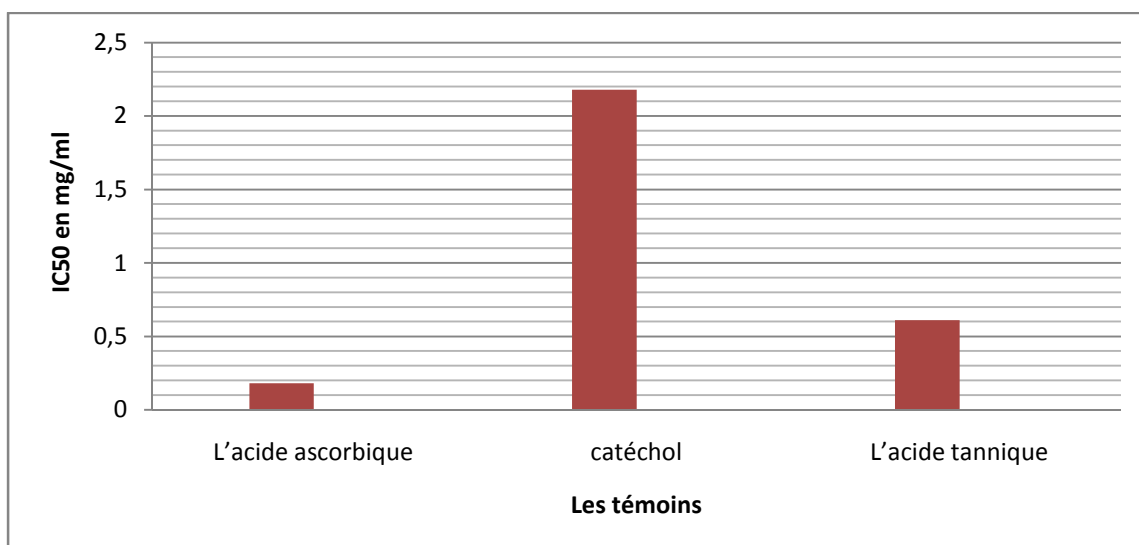


Figure 30 : histogramme représentant les différentes valeurs d'IC50 des témoins

D'après la figure N° 30 on constate que le meilleur témoin c'est l'acide ascorbique avec l'IC50 la plus faible ($0,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), suivis par celle de l'acide tannique ($0,61 \cdot 10^{-2}$ mg/ml) et enfin catéchol avec ($2,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml).

6- la comparaison entre IC50 des différents extraits et témoins

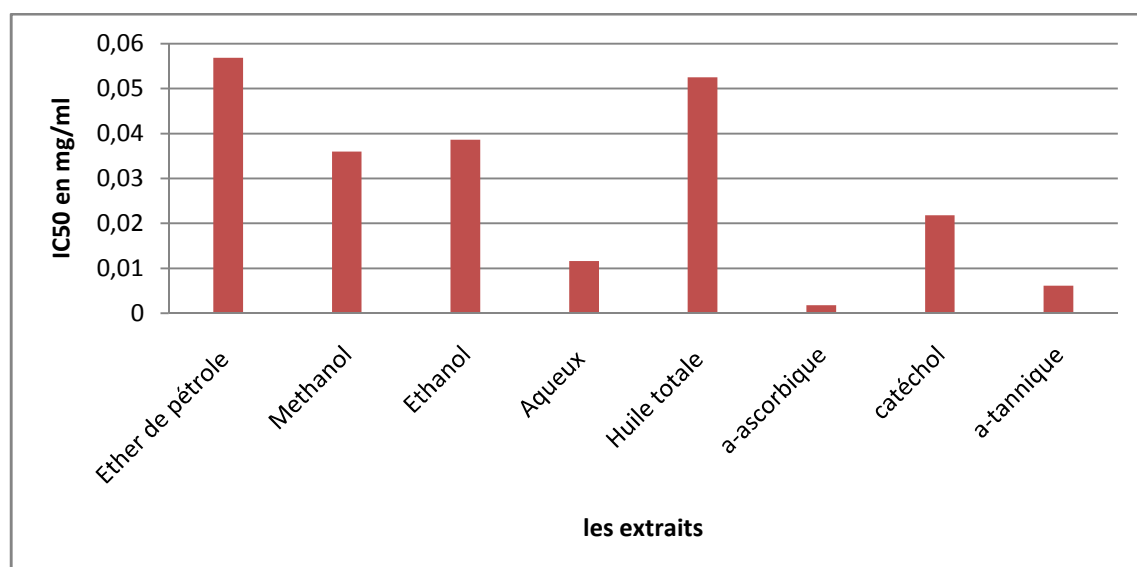


Figure 31 : histogramme représentant les différentes valeurs d'IC50 des cinq extraits ainsi que celle des témoins

D'après l'histogramme on peut voir que l'acide ascorbique est toujours en première position avec le meilleur potentiel antioxydant suivi par acide tannique et directement après on trouve l'EAQ de notre *S.Officinalis* qui a été meilleur que le catéchol étant l'un des témoins dans notre travail, après le catéchol on a respectivement EMeOH ,EEtOH,EHT et enfin EPP.

II - Discussion

Les antioxydants naturels présents dans les herbes et les épices sont responsables d'inhiber ou d'empêcher les conséquences néfastes du stress oxydatif. Épices et les herbes contiennent des piègeurs de radicaux libres comme les polyphénols, flavonoïdes et composés phénoliques. Dans le présent travail, nous avons évalué le piègeur de radicaux libres par la méthode de DPPH sur *S.officinalis* de la région de Ain Témouchent, qui a pu montrer une très remarquable activité antioxydante à différentes concentrations, notamment par dosage DPPH dans l'extrait aqueux, aussi on a pu voir le rendement des cinq extraits de notre matériel végétal.

Selon nos résultats dans la (figure 20), on constate que Cette variation dans le rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la période de la cueillette de la matière végétale. En effet, dans cette étude, la sauge a été cueillie au mois de février. Dans d'autres études menées par nos voisin tunisien Fellah et al., 2006 il a été montré, d'une part, l'influence de la technique d'extraction et d'autre part, l'influence du cycle végétatif sur le rendement.

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

Le classement des extraits selon leur pouvoir antioxydant est le suivant : l'AQ avec l'IC₅₀ la plus faible ($1,158 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), l'EMeOH ($3,597 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), l'EEtOH ($3,862 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), l'HT ($5,254 \cdot 10^{-2}$ mg/ml) et enfin l'EEP avec la valeur d'IC₅ la plus élevée ($5,686 \cdot 10^{-2}$ mg/ml). (Voir figure N° 29).

D'après la comparaison de nos trois témoins (figure N°30) on peut voir que l'acide ascorbique et le plus efficace (IC₅₀ = $0,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml), puis l'acide tannique avec (IC₅₀ = $0,61 \cdot 10^{-2}$ mg/ml) et à la fin le catéchol (EC₅₀ = $2,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml).

La molécule d'acide ascorbique (employé comme témoin) et sa forme déprotonée, l'ascorbate, sont des agents réducteurs. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$, mais aussi avec les radicaux superoxydes $\text{O}_2 \cdot^-$ (et leur forme protonée $\text{HO}_2 \cdot$) (Gardès-Albert et al.,2003)

A noter qu'une concentration élevée en ascorbate favoriserait l'élimination des radicaux libres et donc le rôle antioxydant de l'ascorbate alors qu'une faible concentration en ascorbate favoriserait la génération de radicaux libres.(Chepda et al., 1999)

Comparé à nos extraits, on a constaté que l'EAQ de la sauge a exercé une forte efficacité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH, qui s'est traduite par une IC50 la plus faible qui a même pu dépassé celle du catéchol qui est utilisé comme un témoin dans notre travail. On justifie cela par l'existence de différence qualitative dans la nature des métabolites (qui entrent dans la composition des extraits) influençant le pouvoir antioxydant des extraits. Cependant, on a les résultats, obtenu par A. Belmimoun et al., 2016, la meilleure activité est retrouvée dans l'EAQ de *Myrtus communis* avec une $IC_{50} = 0.029 \pm 0.01$ mg/ml, résultat presque similaire au notre.

Aussi, des études menées par Adida et al., 2016 concernant une plante de la famille des Apiacées: *Pituranthos scoparius* montre que dans le test DPPH, son EAQ, a présenté une forte activité antioxydante lui aussi avec l'IC50 la plus faible qui est de 0,03µg/ml.

Selon un groupe de chercheurs Lima et al., 2007 ils ont trouvé que Les extraits alcooliques et EAQ de *S. officinalis* sont riches en flavonoïdes, en particulier en acide rosmarinique et en lutéoline-7- β -glucoside. On a également trouvé des acides phénoliques tels que l'acide caféique et l'acide 3-caféoylquinique dans l'extrait méthanolique de *S. officinalis*. D'où on peut conclure le grand potentiel antioxydant de notre plante par sa composition en métabolite secondaire.

Alors qu'on ne peut pas aussi négliger la bonne AAO de l'EMeOH et EEtOH avec une différence vraiment légère.

En étudiant les extraits méthanolique des différents organes de la sauge, **Grzegorzcyk et al., 2007** montrent aussi une efficacité à piéger le radical DPPH (avec des IC50 compris entre 18,4 et 81,7 µg/mL), et pour l'extrait hydro-éthanolique de la sauge du Portugal, Albano et Miguel, 2011 ont enregistré une importante AAO avec une IC50 de 2,8 µg/ml.

Selon les résultats enregistrés, l'EAQ et MeOH sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré, leur IC50 respective est de $1,158 \cdot 10^{-2}$ mg/ml et $3,597 \cdot 10^{-2}$ mg/ml mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de $0,18 \cdot 10^{-2}$ mg/ml qui reste toujours l'excellent antioxydant par rapport ou extraits et témoins précédâmes vu dans notre étude.

Ces résultats sont similaires à ceux enregistrés par Bougandoura et Bendimerad, 2012 que les EAQ et MeOH sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré mais relativement faible que celle d'acide ascorbique.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Razika et al., 2017).

On remarque aussi la faible activité antioxydante de nos deux extraits respectivement HT et EPP, on peut expliquer sa par leur faible composition en métabolite secondaire tel que les flavonoïdes doté d'un pouvoir antiradicalaire puissant.

On suppose que les extraits présentant moins d'activité antioxydante sont moins riches en composé flavoniques doués d'une activité de piégeage des radicaux libre dont cette activité est strictement liée à la structure du composé flavonique lui-même dont de nombreuses études ont établi la relation entre la structure et l'activité antiradicalaire des flavonoïde (**Amié et al., 2003**)

Le screening phytochimique réalisé par de Allagui et al, 2007 permet de mettre en évidence les métabolites secondaires de cinq espèces appartenant à la famille des Orobanchacée. L'extraction et la révélation de ces composés font appel à un ensemble de solvants et de révélateurs. l'hexane permet l'extraction des terpènes, le méthanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes,des alcaloïdes et des tanins.L'eau peut extraire certains composés en commun avec le méthanol en plus des molécules les plus polaires et les saponines. Tous ces métabolites exercent des effets antioxydants variables.

A la lumière de ces résultats, on a déduit que l'extrait on peut constater que le meilleur extrait c'est l'AQ que ce soit en AAO ou en rendement.

On peut conclure que notre *S.Officinalis* possède un grand pouvoir antioxydant qui méritant d'être étudié à tout ses niveaux.

Conclusion

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique, éthanolique, éther de pétrole, huile totale et extrait aqueux d'une plante Algérienne appartenant au genre *Salvia* (**Lamiacées**).

Dans la littérature y'a pas de travaux qui ont étudiés l'activité de *Salvia officinalis* dans la région de Ain Témouchent.

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Il ressort que deux extraits (EAQ et EMeOH) parmi ceux étudiés ont un potentiel antioxydant élevés et qu'il est proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits.

D'après nos résultats le meilleur piègeur des radicaux libres c'est bien l'acide ascorbique suivie par l'acide tannique. Par contre le catéchol n'est pas vraiment recommandés dans notre cas par rapport aux deux autres témoins.

En perspectives plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- ✓ d'approfondir une étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes.
- ✓ Déterminer les molécules responsables des activités biologiques.
- ✓ Vérifier d'autres propriétés biologiques telles que les autres activités antioxydantes non testés avec d'autres solvants, les activités insecticides, anti-inflammatoire, antidiabétiques in vitro et in vivo.

Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

Références Bibliographiques

1. Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., & Djaziri, R. (2016). Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14(4), 207-212.
2. Afzal-Rafii, Z. (1976). Etude cytotaxonomique et phylogénétique de quelques *Salvia* de la région méditerranéenne: Groupe du *Salvia officinalis* L. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 123(9), 515-527.
3. Albano S. M., & Miguel M. G. (2011): Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial crops and Products*, 33 :338–343.
4. Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (sods) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1331-1341.
5. Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D. Et Trinajstić N. (2003). Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica ACTA CCACAA.*, 76 (1) : 55-61.
6. *Au pays des sauges*. Bernard Bertrand, Annie-Jeanne Bertrand, 01/01/2002 Terran (Editions de) – ISBN 2-913288-24-3.
7. Baricevic, D., S. Sosa, R. Della Loggia, A. Tubaro, B. Simonovska, A. Krasna et A. Zupancic (2001). Activité anti-inflammatoire topique des feuilles de *Salvia officinalis* L.: intérêt de l'acide ursolique. *Journal of ethnopharmacology* , 75 (2-3), 125-132.
8. Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
9. Bartosz, G. (1997). Stress oxydatif chez les plantes. *Acta Physiologiae Plantarum* , 19 (1), 47-64.
10. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
11. Belghitri, A., & Zemour, L. (2018). La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'asthme bronchique. *Revue des Maladies Respiratoires*, 35, A92.
12. Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, A. T., & Sonnet, P. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic

- extracts of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2), 510-524.
13. Benjlali, B. (2005). Le matériel végétal et l'extraction. In : Huiles essentielles, de la
 14. Berger, M. M. (2006). Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48.
 15. Beye, C., Tounkara, L. S., Seck, M. A., Thonart, P., & Fickers, P. (2015). Opportunités pour la valorisation des végétaux riches en anthocyanes comme sources de colorants alimentaires (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 19(4), 392-401.
 16. Bhatia, A., & Charet, P. (1984). Action de la chloroquine sur le métabolisme du glutathion chez l'hématie parasitée par *Plasmodium berghei*. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 59(3), 317-320.
 17. Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. Et autre (2004) Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae).
 18. Bottcher H. Miracle drugs. Zagreb: Zora; 1965. P. 23-139.
 19. Bougandoura N, Bendimerad N., 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 09, 14-19.
 20. Bouzid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), 59-69.
 21. Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 10, 119-125.
 22. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. *Phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Ed. Tec-Doc*.
 23. Bureau, L. (2008). Phytothérapie: l'heure du changement. *Phytothérapie*, 6(4), 213-214.
 24. Cadenas, E. (1989). Biochimie de la toxicité de l'oxygène. *Revue annuelle de biochimie*, 58 (1), 79-110.

25. Chabosseau, S., & Derbré, S. (2016). Cancer du sein: recommandations sur l'usage de la phytothérapie. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(552), 45-49.
26. Chepda, T., Perier, C., Chamson, A., & Frey, J. (1999). Effets pro-et antioxydants de l'ascorbate. *Nutrition clinique et métabolisme*, 13(2), 115-120.
27. Christianson, D. W. (2008). Unearthing the roots of the terpenome. *Current opinion in chemical biology*, 12(2), 141-150.
28. Cronquist, A. (1968). The evolution and classification of flowering plants. *The evolution and classification of flowering plants*.
29. De Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de pharmacie. 214p.
30. Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K., (2002). Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.P:201.
31. El Allagui N., Tahrouch S., Bourijate M., Hatimi A. (2007). "Action de différents extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre *Meloidogyne* ssp." *Acta Botanica Gallica* 154:4, 503-509.
32. Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874. extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, 104: 536–541.
33. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities.
34. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
35. Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
36. Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal-Société Algérienne De Chimie*, 16(2), 193.
37. Froissart, C. (2008). *La connaissance des sauges* (p. 17). Aix-en-Provence: Édisud.

38. Fulbert, JC et Cals, MJ (1992). Les radicaux libres en biologie clinique. Origine, effet pathogène et mécanismes de défense. *Pathologie-biologie*, 40 (1), 66-77.
39. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
40. Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
41. Gavot A, (2009). Support des cours sur les métabolites secondaires. Université de Rennes 1- L2. U2 PHR
42. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
43. Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
44. Grzegorzczuk, I., Matkowski, A & Wysokin' ska H. (2007) :Antioxidant activity of
45. Hermes-Lima, M., 2005. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K. B. Storey (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, NJ: Wiley-Liss, 319-368.
46. Kelly K. History of medicine. New York: Facts on file; 2009. P. 29-50.
47. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
48. Koné, D. (2009). *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d' Alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante* (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).
49. Lacy A, O'Kennedy R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *pubmed*.2004;10(30):3797-3811
50. Leverage, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants?. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44(5), 219-224.
51. Lima CF, Valentao PCR, Andrade PB, Seabra RM, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect

- hepg2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chem Biol Interact.* 2007;167:107e115.
52. Lu, Y., & Foo, L. Y. (2000). Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 55(3), 263-267.
53. Maatoug, H. (1990). Nos plantes médicinales. *Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie*, pp116.
54. Machlin, LJ et Bendich, A. (1987). Dommage tissulaire aux radicaux libres: rôle protecteur des nutriments antioxydants. *The FASEB Journal* , 1 (6), 441-445.
55. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.
56. Mccay, PB (1985). Vitamine E: interactions avec les radicaux libres et l'ascorbate. *Revue annuelle de la nutrition* , 5 (1), 323-340.
57. Miguel, MG (2010). Activité antioxydante des plantes médicinales et aromatiques. Une critique. *Journal des arômes et des parfums* , 25 (5), 291-312.
58. Misharina, T. A., & Samusenko, A. L. (2008). Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(4), 438-442.
59. Moroh, J.L.A., Bahi,C., Dje, K., Loukou, Y. G. Et Guede-Guina, F. (2008). «Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*», Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [En ligne], (77): 44 - 61.
60. N.1. VAVILOV, *The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants*, trad. Du russe par K. S. CHESTER (coll. *Chronica Botanica XIII*), Waltham, Massachusetts,1949-1950, p. 37 .
61. Okafor, J., & Ham, R. (1999). Identification, utilisation et conservation des plantes médicinales dans le sud-est du Nigeria. *Thèmes de la biodiversité africaine*, 3(8).
62. Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1.

63. Phillips, MA et Croteau, RB (1999). Défenses à base de résine chez les conifères. *Trends in plant science* , 4 (5), 184-190.
64. Pietta, PG (2000). Les flavonoïdes comme antioxydants. *Journal of natural products* , 63 (7), 1035-1042. plante à l'extraction. Manuel pratique. Edition université de Québec à Chicoutimi, p 61-
65. Ramadan, M. F. (2010). Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5(1), 47-50.
66. Razika, L., Thanina, A. C., Nadjiba, C. M., Narimen, B., Mahdi, D. M., & Karim, A. (2017). Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 30.
67. Renaudet, G. (1954). L'origine et la naissance des plantes de culture. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, 23(9), 244-245.
68. Riadh, K. (2011). Halophytes et Biomolécules.
69. Selles Chaouki., 2012. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région
70. Soro, T. Y., Traore, F., Datte, J. Y., & Nene-Bi, A. S. (2009). Activité antipyrétique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*. *Phytothérapie*, 7(6), 297-303.
71. Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.
72. Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.
73. Tucakov J. Healing with plants – phytotherapy. Beograd: Culture; 1971. P. 180-90.
74. Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue*, 18, 16-23.
75. Vander Jagt, D. L., Hunsaker, L. A., Vander Jagt, T. J., Gomez, M. S., Gonzales, D. M., Deck, L. M., & Royer, R. E. (1997). Inactivation of glutathione reductase by 4-hydroxynonenal and other endogenous aldehydes. *Biochemical pharmacology*, 53(8), 1133-1140.
76. Vandi, D., Nga, E. N., Betti, J. L., Loe, G. M. E., Ottou, P. B. M., Priso, R. J., ... & Mpondo, E. M. (2016). Contribution des populations des villes de

- Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 30(3), 4797-4814.
77. Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297.
78. Wiart C. *Etnopharmacology of medicinal plants*. New Jersey: Humana Press; 2006. P. 1-50.
79. Wilson, A., & Salamantian, L. (2003). Les radicaux libres: Une question d'équilibre. *DESS IST. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines*, 1-35.
80. Wylock, M. (1970). La fabrication des parfums à l'époque mycénienne d'après les tablettes Fr de Pylos. *Studi micenei ed egeo-anatolici*, 11, 116-133.
81. Zorov, D. B., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*, 94(3), 909-950.

Références site web

<https://www.lanutrition.fr/forme/vieillesse/la-famille-des-radicaux-libres>

<https://naturiste.ca/fr/blog/radicaux-libres.html>

http://users.skynet.be/relais.vegetarien/Articles/radicaux_libres.htm

<file:///C:/Users/USER/Desktop/master%202019/chp%202/historique/HISTOIRE%20DES%20PLANTES%20M%C3%89DICINALES%20-%20Tout%20Aide.html>

<https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=plantes-medicinales>

<https://www.aujardin.info/plantes/sauvages.php>

<http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/phytotherapie/articles/16260-plante-medicinale.htm>

https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m_dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie15.html

<https://l-express.ca/les-tanins/>

https://www.memoireonline.com/11/13/8094/m_Activite-anti-drepanocytaire-et-stabilite-physico-chimique-des-anthocyanes-extraits-des-bulbes-d6.html

<https://docplayer.fr/52690430-Les-coumarines-les-coumarines.html>

<http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/sauge.htm>

http://galerie.pierre.free.fr/Labo_Ouvert/pdf/salvia_officinalis.pdf