

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

Université *Mohammed Seddik Benyahia- Jijel.*

Faculté des Sciences Exactes et Informatique

Département de Chimie



Mémoire Présenté par :

**Ghasmoune Wissame**

Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

**Thème :**

**Evaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles Et d'extrait d'une plante : étude théorique et expérimentale.**

Soutenu devant le jury:

- **Président : *Dr. Akika Fatma Zohra***
- **Examineur : *Mr. Boudjarda Abdelhamid***
- **Encadreur : *Dr. Messaadia Lyamine***

**Année Universitaire : 2020 /2021**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions «**ALLAH**» le tous puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à remercier Mr. Messaadia.L d'avoir accepté d'encadrer ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mr.**Abdelhamid boudjerda** et Mme **Akika Fatma Zohra**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Un grand merci à **Bendaas Ridha**, doctorant à l'Université de **Mohammed Seddik Benyahia Jijel**, pour son soutien à la réalisation de ce modeste travail et qui m'a fait l'honneur de me conseiller.*

*Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont également à tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de Chimie de l'Université de Mohammed Seddik Benyahia, Jijel.*



## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail aux deux bougies qui ont éclairé ma vie.*

*À la plus tendre et la plus gentille mère dans le monde, à **Maman**.*

*À celui qui m'a toujours encouragé à **mon Père**.*

*Je dédie aussi ce travail à :*

*Mes chères sœurs : **Aïda et son mari aziz ; Naima et son mari fakhredin et ma petite sœur Sima.***

*Mes chers frères : **Nadhir et sa femme Ratiba ; Hichem et sa femme Souad ; Nadjib et Amine.***

*Mon cher fiancé : **Rida.***

*À toute ma famille : **Ghasmoune et boudebaba.***

*À ma deuxième famille : **Bouchenek.***

*À toutes mes amies : **Mouna ; Gamra ; Lamia ; Ghada ; Hassiba ; Ibtissem ; Chams ; Fatima ; Souhila...***

*À toutes mes amis de la promotion **CHIMIE PHARMACEUTIQUE***

**G. Wissame**

# *Sommaire*

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

## **Chapitre I : Etude bibliographique**

I.1. Généralité sur la famille lamiacées.....	4
I.2. Intérêt économique de la famille lamiacées.....	4
I.3. Le Genre <i>Salvia</i> .....	4
I.3.1. L'espèce <i>Salvia officinalis</i> L.....	5
I.3.2.-Description botanique.....	5
I.3.4. Nomenclature.....	6
I.3.5. Classification taxonomique.....	7
I.3.7. Utilisation traditionnelle de la sauge.....	7
I.4. La toxicologie.....	8
I.5. Propriétés thérapeutiques de la sauge.....	8
I.6. Principaux constituants de la sauge.....	9
I.7. Les huiles essentielles.....	9
I.8. Composition chimique de l'huile essentielle de la sauge.....	9
I.9. Composés phénoliques.....	9
I.10. Les flavonoïdes.....	10

## **Chapitre II. Etude chimique des métabolites secondaires**

II.1.1. Huiles Essentielles.....	16
II.1.1.2. Classification des huiles essentielles.....	16
II.1.1.3. Composition chimique.....	16
II.1.1.4. Propriétés physico-chimiques des HE.....	17
II.1.1.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	17
II.1.1.8. Conservation des huiles essentielles.....	17
II.1.1.9. Les principales méthodes d'extraction.....	17
II.1.1.11. Rôle physiologique des huiles essentielles.....	18

II.1.1.12. La toxicité des huiles essentielles.....	19
II.2. Les polyphénols :.....	19
II.2.1. Généralités sur les polyphénols.....	19
II.2.2. Biosynthèse des polyphénols.....	19
II.2.2.4. Effets biologiques des polyphénols.....	20
II.2.2.5. Le rôle de polyphénols chez les plantes.....	21
II.2.2.7. Propriétés physico-chimiques des polyphénols et des flavonoïdes.....	21
II.2.2.6. Les propriétés pharmacologie des polyphénols.....	21
II.2.2.8. Les principales méthodes d'extraction des polyphénols, flavonoïdes et autres composés bioactifs .....	22
II.2.2.8.1. méthode classique.....	23
II.2.2.8.2. méthode alternative.....	24
II.2.2.9. Modes d'action des polyphénols.....	25
II.3. Les Flavonoïdes.....	25
II.3.1. Généralité sur les flavonoïdes.....	25
II.3.2. Structure chimique et classification.....	26
II.3.3. le rôle des flavonoïdes chez les plantes.....	27
II.3.4. Propriétés physico-chimique .....	28
II.3.5. Activités biologiques des flavonoïdes.....	28

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

III.1. Matière végétale.....	33
III.1.1. Récolte de la plante.....	33
III.2. Mode opératoire.....	33
III.3. Extraction des métabolites secondaires.....	34
III.3.2. Séparation et purification.....	37
III.5.1. Dosage des polyphénols.....	39
III.7. les totaux des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu.....	39
III.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	40
III.5.2.1. les totaux des flavonoïdes par la méthode chlorométrique (AlCl <sub>3</sub> /10%).....	40
III.6. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	41
III.6.1.1. Principe de DPPH.....	41

III.6.1.2. Préparation de la solution de DPPH.....	42
III.6.1.3. Pourcentages d'inhibition (PI%).....	42
III.6.1.4. Concentration inhibitrice ‘IC50’.....	43

## **Chapitre IV: Rappels théoriques**

IV.1. Equation de Schrödinger.....	45
IV.2. L'approximation de Born-Oppenheimer.....	46
IV.3 Problème électronique et l'approximation de Hartree-Fock.....	46
IV.4. Méthode de Hartree-Fock-Roothan : <i>Approximation LCAO</i> .....	48
IV.5. Méthodes Post Hartree-Fock : Concept de corrélation .....	48
IV.6. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).....	48
IV.6.1 Théorie de Hohenberg et Kohn.....	49
IV.7. Les fonctionnelles énergies d'échange et corrélation.....	50
IV.7.1 Les fonctionnels hybrides .....	50
IV.8. Bases d'orbitales atomiques.....	51

## **Chapitre V: résultats et discussion**

### **Partie I : résultats d'étude expérimental**

V -1- Introduction.....	54
V-1-1- Chromatographie sur colonne CC.....	54
V-1-2- Chromatographie sur couche mince CCM.....	54
V-2- Etude phytochimique de l'espèce <i>salviaofficinalis</i> L.....	54
V.3.1.1. Dosage des polyphénols.....	58
V.3.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	59
V.3.2. L'activité antioxydant la méthode de DPPH .....	61

### **Partie 02 : résultats d'études théoriques**

V.2.1. Calculs chimiques quantiques.....	66
V.2.2. détails de calculs.....	66
V-2-2- Analyse des orbitales moléculaires frontières (HOMO - LUMO).....	67
V-2-3- Surface de potentiel électrostatique moléculaire (MEP).....	68
Conclusion.....	72
Résumé	

## Liste des abréviations

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

HE : Huile essentielle

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %.

Méch: Masse sèche

Mext: Masse d'extrait

mg/ml : Milligramme par millilitre.

nm : nanomètre.

PI : Pourcentage d'inhibition

R (%) : Rendement

Rf: Rapport frontal

UV : Ultraviolet

µl : Microlitre

CCM : Chromatographie sur couche mince

MeOH : méthanol

p/p : Poids sur poids.

µg/ml : microgramme par millilitre

CC : chromatographie sur colonne

Ext CHCL3 : extrait chloroformique.

ExtMeOH : extrait méthanol/eau.

Ext AcOEt : extrait acétate d'éthyle.

Ext BuOH : extrait butanolique.

Ext AlCl3 : Chlorure d'aluminium.

EXtS : Extraits sec

IC50 : La concentration d'inhibition de 50%DPPH.

V/V : Volume à Volume.

EAG/ mg ExtS : Equivalents de l'acide gallique par milligramme d'extraits sec

EQ/ mg EXtS : Equivalents de la quercétine par milligramme d'extraits sec

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I. 1</b>	Composition des huiles essentielles de la sauge.....	<b>9</b>
<b>Tableau I. 2</b>	Principaux constituants chimiques des polyphénols de la sauge.....	<b>10</b>
<b>Tableau I.3</b>	Principaux constituants chimiques des flavonoïdes de la sauge.....	<b>11</b>
<b>Tableau II.01</b>	Quelques propriétés pharmacologiques des composés phénoliques.....	<b>22</b>
<b>Tableau V.01.</b>	Rassemblement des différentes fractions de la colonne de l'extrait (AcOEt).....	<b>54</b>
<b>Tableau V.02.</b>	Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols.....	<b>58</b>
<b>Tableau V.03.</b>	Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes.....	<b>59</b>
<b>Tableau V.04.</b>	activité anti-oxydante exprimée en IC50 de l'espèce.....	<b>62</b>
<b>Tableau V.2.01.</b>	Paramètres de chimiques quantiques des composés étudiés par la DFT en utilisant l'ensemble de base B3LYP/6-311G++ (d, p).....	<b>69</b>
<b>Tableau V.2.02.</b>	Calculs du moment dipolaire total $\mu$ (Debye) et polarisabilité (u.a), pour les composés étudiés en utilisant la DFT/ B3LYP/6-311++G (p, d).....	<b>69</b>



## Liste des figures

N de figure	Titre	Page
<b>Figure I-1</b>	Photos de l'espèce <i>salviaofficinalis</i> L. de la région de Jijel.....	5
<b>Figure I-2</b>	Les différentes parties de l'espèce <i>salviaofficinalis</i> L.....	6
<b>Figure I-3</b>	Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numération classique.....	10
<b>Figure II-1</b>	Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ; a) Dispositif de distillation à vapeur d'eau ; b) Dispositif de L'hydrodistillation ; c) Extraction par micro-onde.....	18
<b>Figure II-2</b>	Structure du noyau phénol.....	19
<b>Figure II-3</b>	biosynthèse de polyphénol (voie de Shikimique).....	20
<b>Figure II-4</b>	Effets biologiques des polyphénols.....	21
<b>Figure II-5</b>	Extracteur de Soxhlet.....	24
<b>Figure II-6</b>	structure de base des flavonoïdes.....	26
<b>Figure II-7</b>	biosynthèse des Flavonoïdes.....	27
<b>Figure III-1</b>	Extraction d'Huile essentielle de la sauge par hydro-distillation...	34
<b>Figure III-2</b>	Feuilles et tiges sèches de la sauge après le broyage.....	35
<b>Figure III-3</b>	la macération.....	35
<b>Figure III-4</b>	Appareil du rotavapeur de type BUCHIR2.....	35
<b>Figure III-5</b>	Protocole d'extraction des métabolites secondaires de la <i>Salvia officinalis</i> L.....	36
<b>Figure III-6</b>	chromatographie sur colonne.....	38
<b>Figure III-7</b>	Les dix fractions recueillies de la colonne.....	38
<b>Figure III-8</b>	Plaque CCM de deux extraits avec le système 1(acét/chlo).....	39
<b>Figure III-9</b>	Plaque CCM de dix fractions après révélation.....	39

<b>Figure III-10</b>	Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant(AH).....	<b>42</b>
<b>Figure V-1</b>	CCM récapitulative des fractions F <sub>1</sub> a F <sub>10</sub> .....	<b>55</b>
<b>Figure V-2</b>	Rendement en extrait sec.....	<b>55</b>
<b>Figure V-3</b>	Rendement en huiles essentielles de l'espèce <i>Salviaofficinalis</i> .....	<b>56</b>
<b>Figure V-4</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	<b>57</b>
<b>Figure V-5</b>	Teneurs en polyphénols totaux dans les trois extraits de <i>salviaofficinalis l</i> .....	<b>58</b>
<b>Figure V-6</b>	Courbe d'étalonnage de quercetine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	<b>59</b>
<b>Figure V-7</b>	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les trois extraits de <i>salvia officinalis l</i> .....	<b>59</b>
<b>Figure V-8</b>	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait chloroformique.....	<b>60</b>
<b>Figure V-9</b>	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle.....	<b>61</b>
<b>Figure V-10</b>	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait butanolique.....	<b>61</b>
<b>Figure V-11</b>	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	<b>62</b>
<b>Figure V-12</b>	L'activité anti radicalaire des différents extraits et l'acide ascorbique.	<b>63</b>
<b>FigureV-1</b>	L'optimisation de la géométrie des trois composés par la méthode DFT au niveau B3LYP/6-311G++ (d, p).....	<b>68</b>
<b>FigureV-2</b>	Distribution de la densité d'orbitales moléculaires frontières HOMO et LUMO en phase.....	<b>68</b>

### Introduction générale

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux et les êtres humains [1]. En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales [2].

Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grec, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane.

Au niveau national et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale [3].

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives [4].

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines industrie alimentaire, pharmaceutique et phytothérapie [5].

Le genre *Salvia*, de la famille des labiées ou lamiacées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Le genre en question compte, à lui seul, plus de 900 espèces [6]. Les espèces décrites en Algérie sont au nombre de (23) vingt- trois [7].

La popularité dont jouissent depuis longtemps les huiles essentielles et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc... [8,9].

La sélection de la plante ci-dessous est motivée par le fait qu'elle est parmi les plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde entier grâce à leurs richesse en

métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, huile essentielle...) tout en sachant que ces derniers sont produits exclusivement par les plantes et d'autre part sur leur usage traditionnel connu et fréquent chez nos populations.

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité anti oxydantes des huiles essentielles et d'extraits de la plante *salvia officinalis* (sauge).

La *Salvia officinalis* est une plante aromatique, qui appartient à la famille des *Lamiacées* qui est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. Ce manuscrit comporte quatre parties :

- ✚ La première partie consiste à une étude bibliographique sur la plante, les composés phénoliques et les huiles essentielles et l'activité biologique anti-oxydante.
  - ✚ La deuxième partie, comporte le matériel et la méthodologie de travail. Celles –ci comprend :
    - ❖ Les méthodes d'extraction (macération à froid) pour les polyphénols et Flavonoïdes et hydro-distillation pour les huiles essentielles.
    - ❖ Le screening phytochimique de la plante.
    - ❖ L'analyse quantitative : dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits de la plante *salvia officinalis*.
    - ❖ L'analyse qualitative : en utilisant la chromatographie sur couche mince.
    - ❖ L'évaluation de leurs activités biologiques : activité anti-oxydante par le test de DPPH.
  - ✚ La troisième partie présente quelques concepts fondamentaux (Méthodes quantiques) de la chimie théorique.
  - ✚ Dans la quatrième partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude.
- Et en fin notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

**Références**

- [1] **Madi, A. (2010).**Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister .Université Mentouri Constantine.
- [2] **Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., Douira1, A. (2011).**Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Bot. Barc., Vol. 53, pp.191-216.
- [3]**Wicht M & Anton R. (2003) :** Plantes thérapeutique. EMI / Tec et Doc, Paris, p 216-9.
- [4] **Ferrari, J., 2002.**Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de : *Gnidiain volucrata* Steud. exA. *Rich.* Thèse de doctorat. Lausanne.
- [5] **Duraffourd C., Lapraz JC., Chemli R. (1997).** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed.Granche. Paris. P. 222
- [6] **Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., &Moschos, P. (2005).**Antimicrobial and antioxidantactivites of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. Food Chemistr , 90, pp. 333-340.
- [7] **Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. p603, 781-793.
- [8] **Nicolas V. (1991).** Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10<sup>ième</sup> journée internationale des huiles essentielles. Actes, Ravista italiana Eppos ; numéro spécial 02/1992 : 534-539.
- [9] **MisharaA.K., Dubey N.K. (1994).** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. Appl. Environ. Microbiol. 60 (4):1101-1105.

### I. Généralité sur la famille lamiacées

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays.

Cette étude se concentre sur la famille des Lamiacée, qui est l'espèce la plus répandue dans le règne végétal [1].

Les *Lamiaceae* (*Labiatae*) font partie des familles de plantes les plus diverses et les plus répandues parmi les dicotylédones. Cette famille végétale comprend environ 230 genres et 7100 espèces dans le monde entier. *Salvia* est l'un des principaux genres des *Lamiacées*, plus tard connu sous le nom de sauge [2].

La sauge (*saliva*) est une plante aromatique et médicinale bien connue pour ses propriétés pharmacologiques. Elle est largement cultivée dans plusieurs pays, essentiellement pour obtenir des feuilles sèches pour les utiliser comme matière première en pharmacie et en industrie alimentaire [3].

#### I.1. Intérêt économique de la famille lamiacées

Cette famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leur huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha*, *rosmarinus*, *Salvia*, et *Thymus*. Les tubercules de quelques espèces de *Stachys* sont comestibles *Tectona* fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales : on peut citer parmi eux *Ajuga*, *Callicarpa*, *Salvia*....etc. [4].

#### I.2. Le Genre *Salvia*

*Salvia* comporte environ 900 espèces dans le monde, c'est l'un des genres les plus répandus de la famille des *Lamiacées* (anciennement appelée *Labiées*). Certaines espèces de *Salvia* ont été cultivées dans le monde entier pour les utiliser dans la médecine traditionnelle et à des fins culinaires. Les espèces de *Salvia*, communément appelés sauges sont une source riche en flavonoïdes poly-phénoliques et des acides phénoliques [5].

### I.2.1. L'espèce *Salvia officinalis* L.

*Salvia officinalis* L. est économiquement une des espèces les plus importantes du genre du *Salvia* et comprend près de 1000 espèces à travers le monde, et représente l'un des plus grands genres dans la famille des Lamiacées [6].

La sauge est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne (**Figure I.1**) [7].

L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* [8]. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment « essalma » qui ajoute qu'elle est appelée « salbia » par les botanistes en Espagne. L'algérien indique l'expression « souekennebi » comme synonyme de saleme [9].



Figure I-1 : Photos de l'espèce *salvia officinalis* L. de la région de Jijel

### I.2.2. Description botanique

C'est une belle plante constituée de :

- ❖ **Feuilles** pétiolées opposées, lancéolés et aigués, rugueuses et pubescentes-grisâtres.
- ❖ **Fleurs** d'un bleu-violacé, assez grandes, pédicellées, 3 à 6 cm, verticilles un peu lâches formant une grappe simple, bractées ovales-acuminées, calice pubescent, bilabié et la lèvre supérieure tridentée à dents lancéolées en alène.
- ❖ **Corolle** de 2 à 3 cm de long, calice à tube muni en dedans d'un anneau de poils à lèvre supérieure presque droite.
- ❖ **Les fruits** sont des tétrakènes [11].



**Fleures de *Salvia officinalis***



**Feuille de *salvia officinalis***



**Les graines de *Salvia officinalis***

**Figures I-2 : Les différentes parties de l'espèce *salvia officinalis* L.**

### **I.2.3. Nomenclature**

- ✓ **Noms Communs** : Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage [12].
- ✓ **Nom scientifique** : *Salvia Officinalis*
- ✓ **Nom vernaculaire** : Sâlmīya, Miramia
- ✓ **Nom français** : Sauge
- ✓ **Nom anglais** : Garden sage [13].



### I.2.4. Classification taxonomique

Selon (Madi, 2010), La sauge suit la classification suivante [14].

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

### I.2.5. Utilisation traditionnelle de la sauge

L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopéetraditionnelle. En effet *Salvia* en latin signifie guérir et "salvare" qui veut dire sauver. *Salvia* atoujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines [15].

#### I.2.5.1. Usages pharmaceutiques

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums [16].

La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux [17].

L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques : *antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente* [18].

#### I.2.5.2. Usages cosmétologiques

Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandula efolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches [19].

### I.2.5.3. Usages alimentaires

La sauge est couramment utilisée comme herbe culinaire. Elle est largement utilisée comme arôme alimentaire salé sous forme de feuilles séchées ou d'huile essentielle. Les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures [20].

Au Mexique et en Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydant élevée.

La Sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation, vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées [21].

### I.3. Propriétés thérapeutiques de la sauge

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) [22].

L'huile essentielle de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. Le thujone et le camphre en sont responsables. Elle est par ailleurs bactéricide et elle est à éviter lors de la grossesse (risque de fausse couche) ou de l'allaitement [23].

### I.4. La toxicologie

Généralement, il n'y a pas de rapports sur les effets secondaires négatifs associés à *Salvia officinalis* L. malgré leur utilisation pendant de nombreux siècles. L'utilisation normale de la sauge est très sûre ; cependant, il pourrait y avoir un effet négatif sur l'utilisation de *S. officinalis* en quantité excessive, ce qui peut être causé par le contenu élevé de la thuyone [24].

### I.5. Principaux constituants de la sauge

- ❖ Huile essentielle (1 à 2%)
- ❖ Diterpènes et Flavonoïdes
- ❖ Composés phénoliques dont l'acide rosmancinique
- ❖ Tanins [25].

### I.6. Les huiles essentielles

L'analyse des extraits de *Salvia officinalis* a montré que cette espèce contient environ 1.0 à 2.8 % d'huile essentielle [26].

### I.7. Composition chimique de l'huile essentielle de la sauge

Les compositions chimiques des huiles essentielles de la sauge (tableau I-1) a été déterminée par la méthode chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG / SM).

**Tableau I-1** : Quelques Compositions des huiles essentielles de la sauge.

Composés	Références
$\alpha$ -Pinène	[28-27]
Camphene	
Sabinene	[27]
$\beta$ -pinène	[28-27]
Myrcene	
p-Cymene	[27]
Limonene	
$\beta$ -Phellandrene	
1,8-Cineole	[28-27]

### I.8. Composés phénoliques

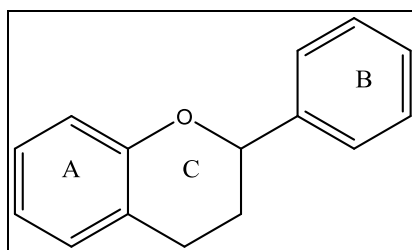
Les feuilles de la sauge sont connues pour leurs propriétés médicinales et ceci revient à leur richesse en polyphénols. *Salvia officinalis* contient l'acide rosmarinique et ses dérivés, et des flavonoïdes (apiginin, luteolin, et leurs dérivés), le tableau suivant présente les différents composés phénoliques qui contenus dans la sauge (*Salvia officinalis*) [29].

**Tableau I. 2** : Principaux constituants chimiques des polyphénols de la sauge

Les composés	Les références
Acide caféique	<b>[30]</b>
Acide 3-caféoylquinique	
Acide rosmarinique	
Acide salvianolique	
Acide gallique	
Acide vanillique	

### I.9. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. Ce sont des composés polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structures décrites [31]. C'est la coloration chatoyante des pétales de fleurs, des fruits des bractées ou éventuellement des feuilles qui attirent surtout l'homme et une foule d'animaux vers les plantes [32]. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (**figure I.3**). On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes [33].



**Figure I.3** : Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numération classique

**Tableau I. 3** : Principaux constituants chimiques des flavonoïdes de la sauge

<b>Les composés</b>	<b>Les références</b>
Hispiduline	[34]
Apigénine	
Lutéoline	
Luteoline7- glucoside	
Genkwanine	
Cirsimaritine	
Cirsiliol	

## Références

- [1] Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M.S., Ghorbani, A. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceutical research. Vol. 2; pp 63-79.
- [2] El-Feky A et Aboulthana W. (2016). Phytochemical and Biochemical Studies of Sage (*Salvia officinalis* L.). *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*. 4(5): 56-62.
- [3] George Z., George S., George K et Konstantopoulou E. (2012). Influence of Light Intensity on Growth and Physiological Characteristics of Common Sage (*Salvia officinalis* L.).55, (1):89-95
- [4] Judd, WS., Campbell, C., Kellogg, EA., Steven, PF. (2002). Botanique systématique une perspective phylogénétique. Traduction et révision scientifique de la 1ère édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. De Boeck Université.p84.88.467.
- [5] Lu Y. & Foo L. Y., 2002. Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*. 59: 117–140.
- [6] Kelen M. & Bektas T., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*. 99: 4096–4104.
- [7] Djerroumi A & Nacef M. (2004) :100 plantes médicinales d'Algérie. Edition Palais du livre P135-131.
- [8] Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. p603, 781-793.
- [09] Khirdidine, H. (2013). Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. these magister. Université M<sup>me</sup> Hamed Bougara.p : 11-13
- [10] Madi A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine
- [11] Beloued A. (2006). Plantes Médicinales D'Algérie, office des publications universitaires, 5ème Edition ben Aknoun, Alger. P.196.
- [12] Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques & Moget Elisabeth.(1992) :*Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Resoudre Les Problemes Simples*,p93.

- [13] **Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen&Douira Allal.2013** : usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocaine (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17 :1, 2388-2411.
- [13] **AZZI Rachid. (2013)** : *Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrulluscolocynthis) chez le rat Wistar*, Thèse de Doctorat en biologie, Option : Biochimie, université de Tlemcen.
- [14] **Madi A. (2010)**. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Research Master, Mentouri Université de Constantine
- [15] **Kabouche, A. (2005)**.Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées. Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine.389p.
- [16] **Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004)**. Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A. Vol.1027, pp.121-126.
- [17] **Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F., & Nigel B.P. (2007)**.Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol- water mixture. Food chemistry. Vol.101, app. 1417- 1424.
- [18] **Djerroumi A., Nacef, M. (2013)**. 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma.
- [19] **Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004)**. Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A. Vol.1027, pp.121-126.
- [20] **Abu-Darwish MS., Cabral S., Ferreira IV., Gonçalves MJ., Cavaleiro C., Cruz MT., Al-bdour TH et Salgueiro L. (2013)**. Essential Oil of Common Sage (*Salviaofficinalis* L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *Biomed Recherche International*. P. 1-9.
- [21] **Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004)**. Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A. Vol.1027, pp.121-126.
- [22] **Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K., (2002)**.Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.P:201.
- [23] **Jean-Michel, (2012)**. plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.

- [24] **Hamidpour, M. R. S., Shahlari, M. (2014).** Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. Vol.4, N°, pp.82– 88.
- [25] **Chevallier A. (1997).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. Paris.
- [26] **Miladinović D et Miladinovic LJ. (2000).** Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. *Physics, chemistry and Technology*. 2(2): 97 - 100.
- [27] **Esturk, O. (2012).** Intermittent and continuous microwave-convective air-drying characteristics of sage (*Salvia officinalis*) leaves. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1664-1673.
- [28] **Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., & Echeverrigaray, S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, 100(2), 603-608.
- [29] **Lu Y et Yeap E. (2001).** Antioxidant activities of polyphenols from sage (*salvia officinalis*). *Journal food chemistry*. 75: 197-202.
- [30] **Ghorbani A et Esmailizadeh M. (2017).** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 7(4): 433–440
- [31] **Marouf, A., Reynaud, J. (2007).** La botanique de A à Z. DUNOD, Paris, p :9-114-151-167-176-177-295-298.
- [32] **Hopkins, W. (2003).** Physiologie végétale, 3<sup>ème</sup> édition, Boeck, Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.
- [33] **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition, TEC et DOC. Paris, p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784- 790.1292.
- [34] **Ghorbani A et Esmailizadeh M. (2017).** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 7(4): 433–440



### II.1. Huiles Essentielles (HE)

#### II.1.1. Définition

Les huiles essentielles (Essences = Huiles volatiles) sont des "produits complexes contenant généralement les principes volatils contenus dans les plantes[1]. Elles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles isolés par l'eau agricole ou l'expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons et de branches, de bois, de racines, de jantes ou de fruits mais aussi des gencives coulant des arbres.

Les huiles essentielles sont définies par :

- Leur nom latin établit des espèces de plantes et évite la confusion.
- Partie ou appareil qui produit de l'huile de base : racines, feuilles, fleurs et graines.
- Procède d'obtention : vapeur d'eau de distillation ou expression.
- Chémotype ou spécialement actif qui donne des effets physiologiques majeurs.

Contrairement à ce qui est généralement acceptable, l'huile de base ne contient pas de corps gras tels que des huiles végétales obtenues avec des presses telles que l'huile de tournesol, l'huile de maïs, l'huile d'amande douce, etc.[2]

#### II.1.2. Classification des huiles essentielles

Les HE sont généralement classés en fonction de la nature chimique des principaux composants actifs, rarement en mode d'extraction ou des effets biologiques. Il conserve huit classes principales : les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers, les peroxydes et sulfurés [3].

La plupart des huiles essentielles sont une collection de composés organiques mentionnés précédemment, il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée consiste à être associée à plus de 99,5% de salicylate de méthyle (ester aromatique) [3].

#### II.1.3. Composition chimique

Contrairement à ce qu'il suggère son nom, l'huile essentielle et le naturel ne contiennent pas de corps gras. Il se compose d'une chaîne carbonique.

### II.1.4. Propriétés physico-chimiques des HE

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide en température normale, toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur intensité est souvent inférieure à 1 ( $d < 1$ ), seuls trois HE officinale ont une densité supérieure à 1 ( $d > 1$ ) : ce sont les HE de *cannelle*, de *girofle* et de *sassafras*. Elles sont légèrement solubles dans l'eau, soluble dans l'alcool et dans la plupart des solvants organiques, Elles sont sujettes à changement et très sensibles à l'oxydation [4].

### II.1.5. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

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

- ✚ En pharmacie
- ✚ Parfumerie et cosmétologie
- ✚ Alimentation

### II.1.6. Conservation des huiles essentielles

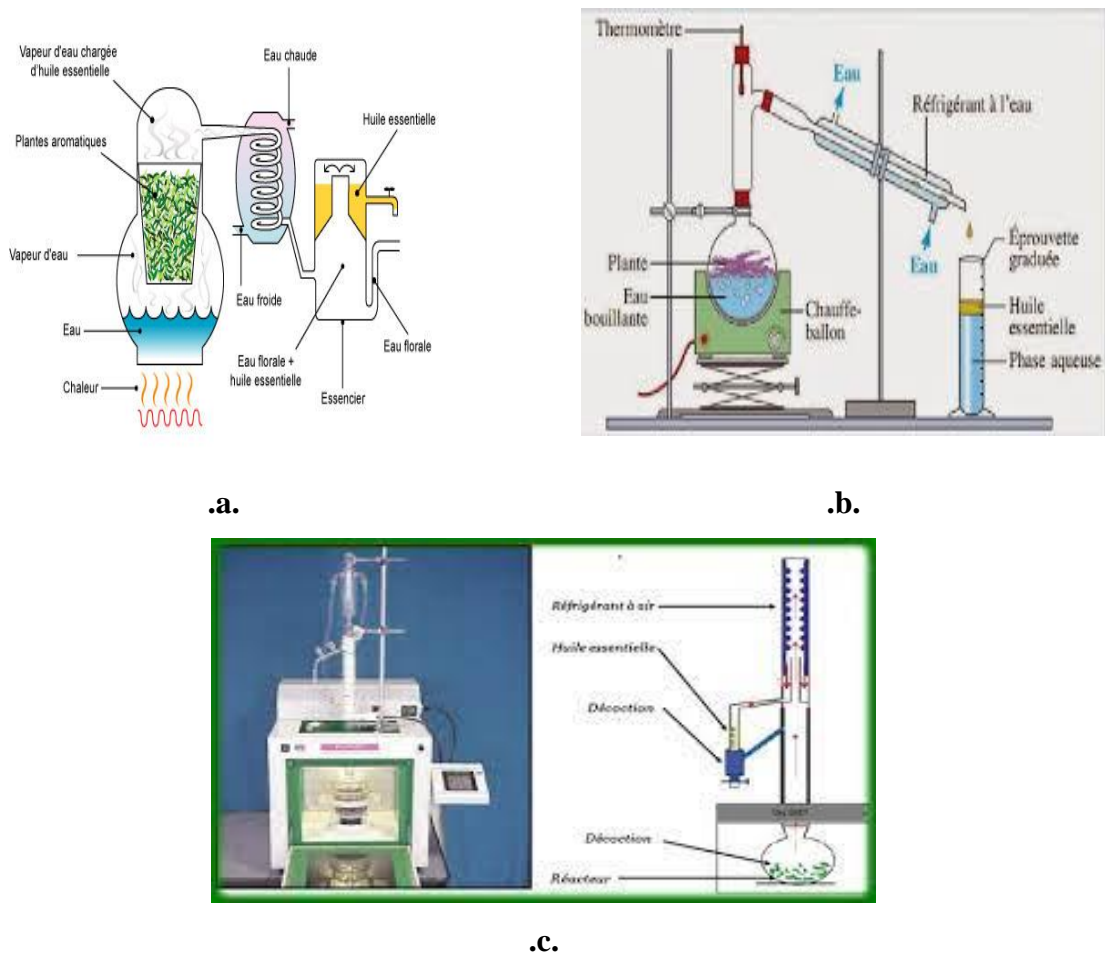
Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (pas d'ouverture prolongée des flacons). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années.

Les flacons doivent être stockés en position verticale (en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile essentielle) [5].

### II.1.7. Les principales méthodes d'extraction

- Extraction par hydro distillation.
- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.
- Hydro diffusion.
- Expression à froid.
- Extraction par solvants.
- Extraction par les corps gras.
- Extraction par micro-ondes.

On a utilisé la méthode de hydro distillation dont le montage est représenté sur la figure II.1.



**Figure II.1.** Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ; a) Dispositif de distillation à vapeur d'eau ; b) Dispositif de l'hydrodistillation ; c) Extraction par micro-onde.

### II.1.8. Rôle physiologique des huiles essentielles

De nombreuses plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolisme secondaire. Leur rôle exact dans le processus de vie de la plante reste encore mal connu. Les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets "utiles" pour les plantes [16].

- Repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation.
- Comme source énergétique.
- Facilitant certaines réactions chimiques.
- Permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques.
- Réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines.
- Par protection contre la flore microbienne infectieuse.
- Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

### II.1.9. La toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde [6]).

D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme la thuyone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux [7].

### II.2. Les polyphénols

#### II.2.1. Généralités sur les polyphénols

Le terme "polyphénols" est souvent utilisé dans la langue actuelle et même dans des articles scientifiques ou d'extension pour définir toute culture de polyphénol [8].

Les composés polyphénoliques (figure II.2) sont des métabolites secondaires des produits végétaux exploitant une ligne de défense vitale pour la plante. Développements pour différents types de cancers, maladies cutanées, sanglantes, diabète, os, maladies nerveuses et têt vieillesse.

De ces données biologiques importantes nous permettent d'étudier ces composés naturels dans le contexte de la santé d'humaine [9].

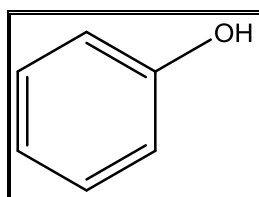


Figure II.2 : Structure du noyau phénol

#### II.2.2. Biosynthèse des polyphénols

Les composés de phénol forment un grand ensemble de métabolites secondaires.

La plupart des molécules phénoliques sont formées de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de manière variable selon les plantes, à partir de la voie de l'acide shikimique [10].

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales à savoir celle de l'acide shikimique et de l'acide malonique.

### II.2.2.1. Voie de l'acide Shikimique

Dans cette direction, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont respectivement produits par glucides pendant la détérioration par la piste de la taille Phosphate et mobilité (Figure II.3). La formation les tanins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tanins condensés [11]. Il est aussi, intéressant de noter que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. Ce sont des courtiers Métabolisme entre l'acide Shikimique et l'acide cinnamique.

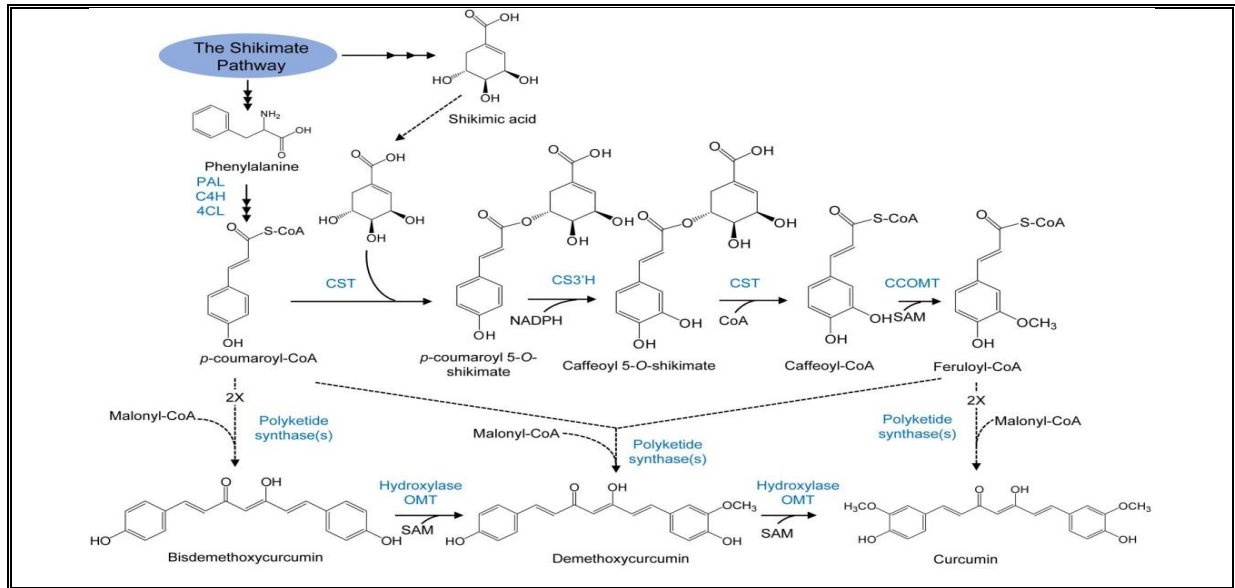


Figure II.3 : biosynthèse de polyphénol (voie de Shikimique)

### II.2.2.2. Voie de l'acide malonique

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie qui conduit des chaînes en polyphénols sont implémentées. Il a été obtenu par condensation répétée d'unités "acétate", carboxyle acétyl-CoA. Cette réaction est stimulée à partir de l'enzyme acétyl-CoA carboxylase [12].

### II.2.3. Effets biologiques des polyphénols

Ils sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapie [13]. Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants (figure II-4) [14].

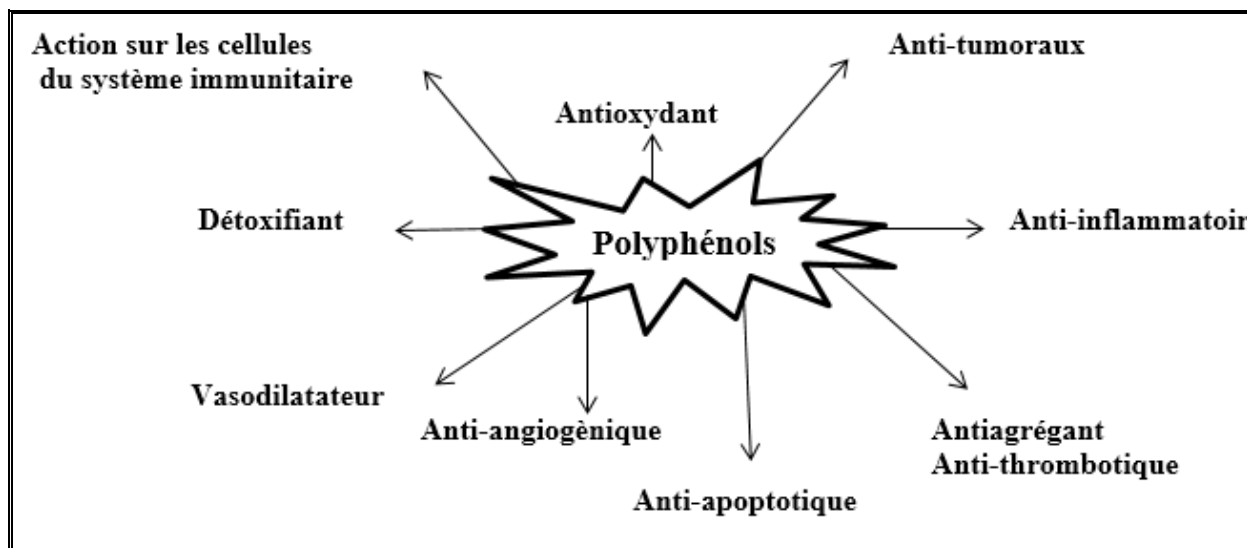


Figure II.4 : Effets biologiques des polyphénols

### II.2.4. Le rôle de polyphénols chez les plantes

Les polyphénols protègent les plantes contre les rayons UV, les agents pathogènes (champignons ou les bactéries), contre le stress oxydatif et les conditions climatiques difficiles [15].

### II.2.5. Propriétés physico-chimiques des polyphénols et des flavonoïdes

Les polyphénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc [16]. Les polyphénols moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans d'autres solvants tels que l'éther et le chloroforme.

### II.2.6. Les propriétés pharmacologie des polyphénols

Dans le corps humain, les polyphénols sont des antioxydants et a des différents Propriétés biologiques telles que :anti diabète, anti-cancer, anti-inflammatoire, cœur cardiaque, ostéo-protecteur, protecteur nerveux, protecteur, anti-sang, Symptômes, vaisseaux sanguins, cholestérol inférieur, caractéristiques Foie, antifongique, antibactérien et anti-virus[17].

**Tableau II.1:** Quelques propriétés pharmacologiques des composés phénoliques

Polyphénols	Activité biologique
<b>Acides phénoliques</b>	Anti-oxydantes, antibactériennes, antipyrétiques, antiinflammatoires, anti radicalaires, antivirales et anticancéreux.
<b>Coumarines</b>	antioxydants, vasculoprotectrices, neurosédatives et diurétiques.
<b>Flavonoïdes</b>	-antibactériennes, anti-atherogéniques, diurétiques, antioxydants, anti-carcinogènes, hypotenseurs, anti allergique, antivirales, anti-inflammatoires, anti-thrombotique, antispasmodiques, anti-oestrogènes, antidiabétique, neurosédatives -traitement des hépatites, des thromboses, contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion.
<b>Anthocyanes</b>	antioxydant, traitement les troubles de la fragilité capillaire, diurétiques, antiseptiques urinaires.
<b>Tannins</b>	Anti-oxydantes, vasculo protectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques.
<b>Quinones</b>	laxatifs stimulants, antidépressives, anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, et antiallergiques.

**II.2.7. Les principales méthodes d'extraction des polyphénols, flavonoïdes et autres composés bioactifs.**

L'extraction est la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement. Impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales [18].

Les différentes méthodes d'extractions sont, les méthodes classiques et les méthodes alternatives.

### II.2.7.1. Les méthodes classiques

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation. : Soxhlet, l'hydro-distillation et la macération avec un mélange alcool-eau ou une graisse chaude [19].

#### **Macération**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée.

Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction.

Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint [20].

#### **L'extraction par Soxhlet**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt. (**Figure II.5**) [21].



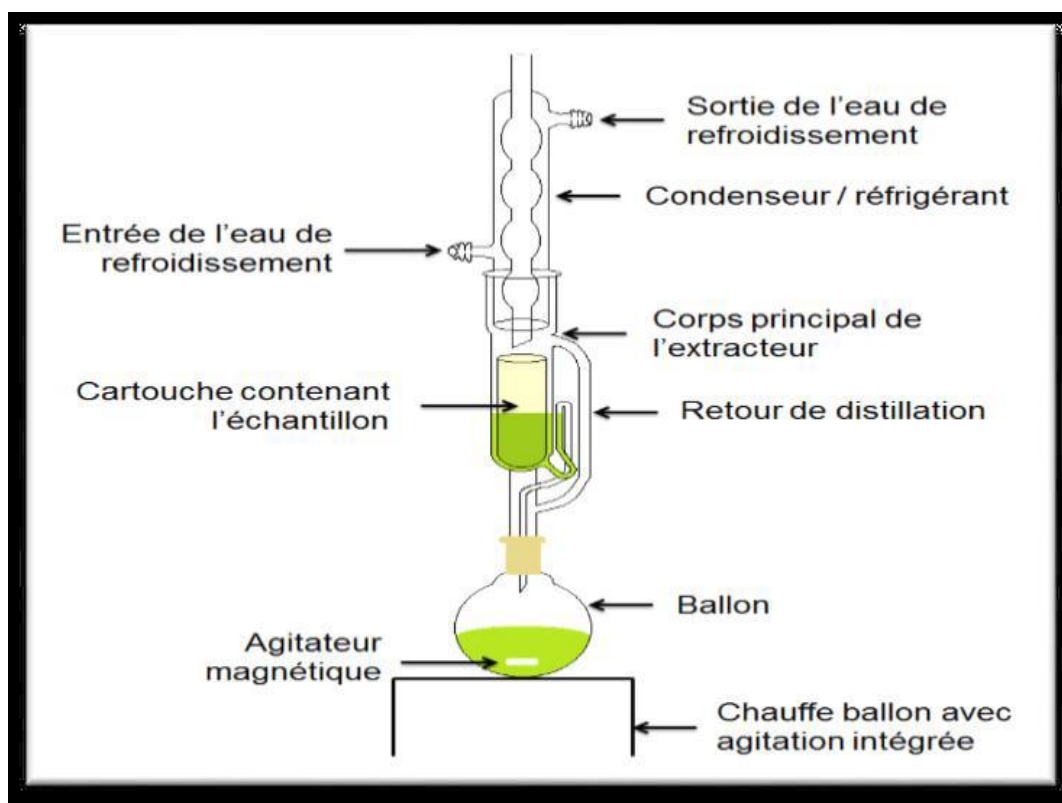


Figure II.5 : Extracteur de Soxhlet [22].

### II.2.7.2. Méthodes alternatives

L'extraction de molécules issues du matériel végétal ou ligneux par les techniques conventionnelles se révèle être une étape souvent délicate et très longue qui nécessite une consommation importante de solvant.

Cela a pour conséquence d'engendrer des dégradations des matières traitées (à chaud par exemple) et de diminuer le rendement d'extraction. une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois, le temps d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents.

Les techniques modernes telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons, l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par solvant accélérée sont des techniques rapides et efficaces pour extraire des composés chimiques des matrices solides de plantes. Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou haute pression améliorant nettement la but de palier la cinétique d'extraction [23].

### ✚ Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale [24].

### ✚ L'extraction assistée par microondes

L'extraction assistée par microondes est un processus par lequel l'énergie microonde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales [25-26].

## II.2.8. Modes d'action des polyphénols

Les composés phénoliques exercent une activité anti oxydante via plusieurs mécanismes:

- ✓ Le piégeage direct des ERO
- ✓ L'inhibition des enzymes génératrices d'EOR
- ✓ La chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des ERO
- ✓ L'induction de la biosynthèse d'enzymes anti oxydantes [27].

## II.3. Flavonoïdes

### II.3.1. Généralité sur les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) est les principaux métabolites secondaires végétaux [28]. Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques qui ont la structure benzo- $\gamma$ -pyrone et sont omniprésents dans les plantes.

Ils sont synthétisés par voie des phénylpropanoïdes [29]. Ils sont simultanément sous une forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou peuvent être présentes dans différents appareils tels que (des racines, des tiges, Feuilles, fleurs et fruits) [30].

Plus de 4000 types de flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits et des feuilles [31].

### II.3.2. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone (**C-15**), constitué de deux noyaux aromatiques (**noyaux A et B**) et d'un hétérocycle central "**C**" (**Figure II.6**) [32].

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle "**C**" c'est-à-dire la présence de double liaison **C2-C3**, du groupe **3-O** et la fonction **4-oxo** [33].

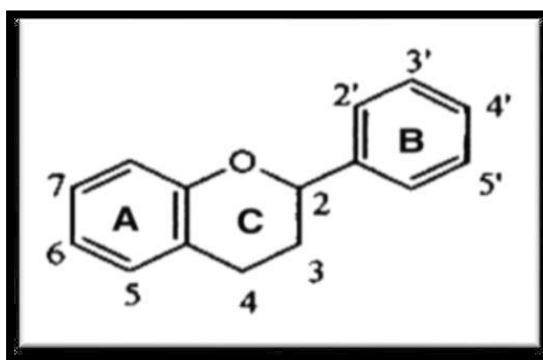


Figure II.6 : structure de base des flavonoïdes [34].

II.3.3. biosynthèse des flavonoïdes

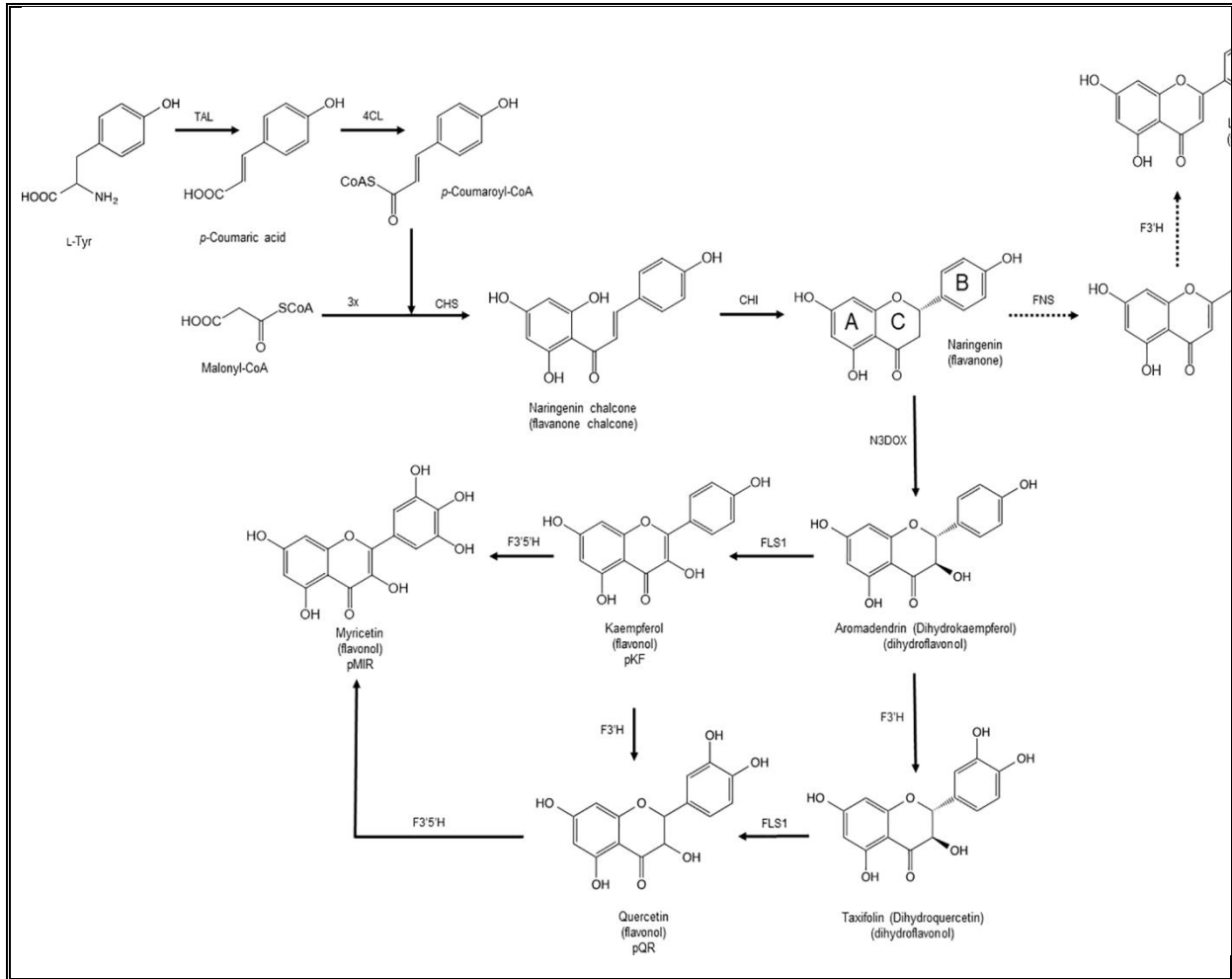


Figure II.7 : biosynthèse des Flavonoïdes.

II.3.4. le rôle des flavonoïdes chez les plantes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre la radiation ultraviolette (UV). Elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des Co-pigments. Peuvent moduler la distribution d'auxine, elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote Moléculaire.

Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores [35].

### II.3.5. Propriétés physico-chimique

#### ✚ Solubilité et l'extraction

- Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires
- Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau [36].

#### • Dosage

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L'HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes [37].

### II.3.6. Activités biologiques des flavonoïdes

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes.

On leur reconnaît des activités : antivirales, anti-tumorales, antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson [38].

### Références

- [1] **Bruneton, J. (1993)** : *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris7.
- [2] **Besombes, C.(2008)**.Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées, Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, p.289.
- [3] **Anonyme (2014)** fr.wikipedia.org/wiki/Huile\_essentielle .Com. Le19 octobre 2014 <sup>2</sup>. [http : //www](http://www).
- [4] **Jacques G. Paltz.a.(1997)**. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire —JacquePaltz].
- [7] **Richard H. et Peyron F.(1992)**. Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris,p. 339.
- [5] **Anonyme (2013)** [http://www.mathilde-lediuzet.fr/TPE/les\\_procedesd'extraction.php](http://www.mathilde-lediuzet.fr/TPE/les_procedesd'extraction.php).Com. Le 12 Juin 2013 <sup>11</sup>.
- [6] **Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., Hotchkiss S.A., (2000)**. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, *cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol*. *Toxico S. Ed.*, Paris, 168-189.
- [7] **Franchomme P., Penoël D., (1990)**. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur.Limoges, 445 p.
- [8] **Fleuriet A., Jay-Allemand C et Macheix JJ. (2005)**. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Pressespolytechniques et universitaires romandes*. P. 121-216.
- [9] **Bruneton J. (1999)**.*Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (éd. 3e éd).Lavoisier, Tech & Doc, France.
- [10] **Macheix J. J., Fleuriet A. & Jay- Allemand C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Edpresses polytechnologiques et universitaires Romande*. P67.
- [11] **Dewick P.M. (1995)**.The biosynthesis of shikimate metabolites.12(6):579-607.
- [12] **Richter G. (1993)**. Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. *Edition Presses Polytechniques et Universitaire Romandes*, p.322-323.
- [13] **Boizot N et Charpentier J-P. (2006)**.Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. p79-82.

- [14] Babar Ali M, Hahn EJ, Paek KY.(2007).Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12 : 607-621
- [15] Kumar KA., Renuka N., Pavithra G et Kumar GV. (2015). Comprehensive review on coumarins: Molecules of potential chemical and pharmacological interest. *J Chem Pharm Res*. 7(9): 67-81.
- [16] Benkrief R. (1990). Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " *Hammada Articulata*"(Moquin) Iljinssp. scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes. (Doctoral dissertation, Paris 5).France.
- [17] Ganesan K., et Xu B. (2017). A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. *Nutrients*. 9(5): 455.
- [18-20] Handa, S.S. (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. Ed. International Centre for Science and High Technology (ICS-UNIDO), Trieste. Italy. Pp 21-54.
- [19] Luque, de Castro, M.D. & Garcia-Ayuso, L.E. (1998). "Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future." *Analytica Chimica Acta*. 369(1-2): 1-10.
- [21-22] Grigonis, P.R., Venskutonis, B., Sivik, M., Sandahl, D. & Eskilsson, C.S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3): 223-233.
- [23] Wang, L. & Weller, C.L., (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17:300-312.
- [24] Kiriamiti, K.H. (2003). Extraction de pyréthrinés par CO<sub>2</sub> liquide et supercritique. Thèse de doctorat : Génie des procédés : Toulouse. INPT.169p.
- [25] Jawad, A. & Langrish, T.A.G. (2012). Optimization of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Millar direction. *Journal of Food Engineering*, 109: 162-174.
- [26] Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, B., Onishi, K. & Azuma, J.I. (2010). Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*.123: 542-547.
- [27] Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*. 52: 253-265.

- [28] **Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M. & Yu O. (2005).** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type II Chalcone Isomerases and I. *Plant Physiology*, 137(4), 1375-1388.
- [29] **Winkel-Shirley, B. (2000).** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 218-223.
- [30] **Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.
- [31] **Nijveldt, R. J., Nood, E. V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K. & Leeuwen, P., (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition*, 74, 418-425.
- [31] **Harrar, A.E.N., (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus*L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.73 p.
- [32] **Erdman, J.R. J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J. Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. &Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. *The Journal of Nutritionjn.nutrition.org*, 137, 718-737.
- [33] **Yaol, H., Jiangy, M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R. & Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, Vol (59): 113-122.
- [36-37] **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales ,3 eme édition ,TEC et DOC .Paris ,p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784-0790.1292.
- [38] **Saffidine, K. (2015).** Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Extraits De *CarthamusCaeruleus* L. Et De *Plantago Major* L. Thèse De Doctorat, Université Ferhat Abbes, Sétif. 64p.



### Introduction

Notre travail a été réalisé au laboratoire de chimie analytique de l'université de Mohammed Seddik Benyahia, Jijel. Il a porté sur l'étude de l'évaluation de l'extrait des huiles essentielles et les métabolites secondaires et l'activité antioxydante de la sauge (*Salvia officinalis* L.), suivi d'une étude théoriques.

### III.1. Matière végétale

#### III.1.1. Récolte de la plante

Cette étude a été réalisée sur les parties aériennes de la *Salvia officinalis*L (feuilles et tiges) de la wilaya de Jijel. Elle a été récoltée en mois de mars 2021, puis séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière (du soleil). Après séchage, les deux parties de la plante *Salvia officinalis*L. ont été broyées et stockées soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

### III.2. Mode opératoire

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro-distillation (**figure III.1**) en utilisant l'appareil de clévenger. Il est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. Celui-ci est en général en verre pyrex dans lequel on place le matériel végétal séché et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur qui reçoit les produits de la distillation.

Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé par l'acétone puis l'eau distillée pour éviter toute contamination. Dans un ballon, on ajoute 65 g des parties aériennes de la plante sont mises en contact avec 500 ml d'eau distillée dans le ballon sans le remplir complètement (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les deux tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4h.

Lors du processus. Les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est évaporée sous l'action de la chaleur pour former un mélange eau/huile essentielle. La vapeur chargée de l'huile essentielle passe à travers le tube vertical, puis à travers le réfrigérant (condensateur) où aura lieu de la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur.

En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide.

L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon opaque bien scellé à l'abri de la lumière à une température de 4 à 6 °C.



**Figure III-1 : Extrait Huile essentielle de la sauge par hydro-distillation**

### III.3. Calcul du rendement

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

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

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

### III.4. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction se fait par la macération hydro alcoolique ; cest un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide froid pour en extraire les composés solubles, ce procédé comporte deux étapes : extraction liquide-liquide et extraction solide-liquide. Pour cela dans la première étape, la partie aérienne (feuilles et tiges) de la plante *salvia officinalis* L. On sèche et broyé jusqu'à ce qu'elle devienne une poudre (**figure III.2**), Peser **200 g** de la plante et on macérées dans **1L** d'une solution hydro-méthanolique **70%** pendant **48h (2 fois)**

(figure III.3). Après filtration et évaporation, le filtrat est concentré au Rota vapeur de type *BUCHI R-210* à la température **40 °C** avec une vitesse de la rotation est moyenne (Figure III.4). On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut de la tige et feuille.

Dans la deuxième étape on fait l'extraction *liquide-liquide* en utilisant successivement les solvants suivants : chloroforme puis acétate d'éthyle et à la fin le *n*-butanol, ce qui mène à l'obtention de **3.63g** d'extrait chloroformique, **0.82g** d'extrait acétate d'éthyle et **5.55g** d'extrait *n*-butanolique.



**Figure III.2** : Feuilles et tiges sèches de la sauge après le broyage



**Figure III.3** : la macération



**Figure III.4** : Appareil du rotavapeur de type BUCHIR2

Le Protocole d'extraction des métabolites secondaires de la *Salvia officinalis*L est représenté sur la figure III.5.

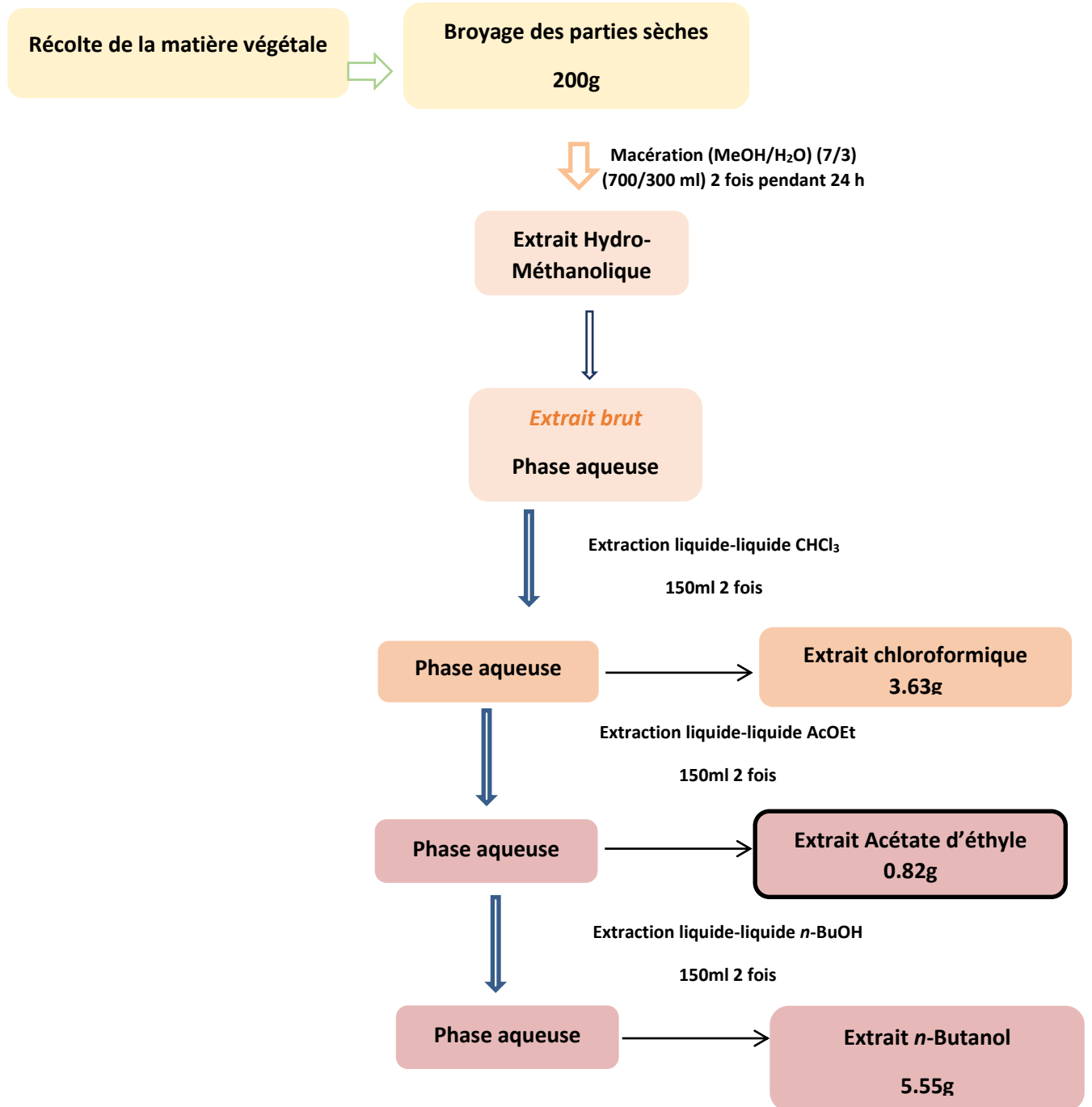


Figure III.5 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires de la *Salvia officinalis*L

### ➤ Calcul du rendement

Le rendement des extraits désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante. IL est calculé toujours via l'équation :  $R (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$

### III.5. Séparation et purification

On effectuée la séparation des métabolites secondaire par la méthode chromatographie sur colonne (CCL) pour l'extrait *Acétate d'éthyle*.

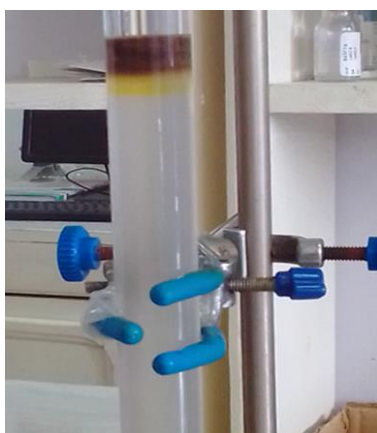
#### III.5.1. Préparation de relargage (échantillon)

On dissout 0.83g de l'extrait *Acétate d'éthyle* avec 1g de gel de silice dans l'acétone et on bien mélange jusqu'à nous obtenons une poudre homogène à sec qui s'appelle le relargage.

#### III.5.2. Préparation de la colonne de séparation

On dissout 30g gel de silice au minimum de cyclohexane, on met un morceau de coton dans la colonne et garde la surface du coton verticalement, après on ajoute le solvant sur la colonne pour éviter la formation des bulles d'aires, puis mettre le gel, en suite on ajoute l'échantillon de relargage (**figure III.6**).

Les erlenmeyers de 25ml sous recueillies en 10 fractions en bas de la colonne dans des erlenmeyers, puis concentrées par évaporation à sec. Le suivi de ses fractions a été réalisé par chromatographie sur couche mince(CCM), les plaques sont visualisées sous la lumière UV (250 nm).



Début de la mégration



Au mégration

**Figure III.6 : chromatographie sur colonne**

### III.5.3. Fractionnement primaire de l'extrait *Acétate d'éthyle* (0.83g)

Le fractionnement a été soumis à une Chromatographie sur colonne (CCL) du gel de silice en phase normale et l'élution est réalisée par le *cyclohexane/Acétate d'éthyle* (100/0 à 0/100) après ; Les fractions recueillies sont rassemblées selon leur profil sur chromatographie sur couche mince (CCM) en phase normale, donnant ainsi dix fractions (**figure III.7**).



**Figure III-7 :** Les dix fractions recueillies de la colonne

### III.5.4. Identification et contrôler les fractions

On utilise la chromatographie sur couche mince (CCM) pour identifier les composés trouvés.



**Figure III.8 :** Plaque CCM de trois extraits avec le système 1



**Figure III.9 :** Plaque CCM de dix fractions après révélation

Dans notre étude, nous avons réalisé la séparation des extraits, en utilisant quelques systèmes solvants moyennement polaires. Sous lumière UV les différentes taches des produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs

$R_f$  observés sous UV à 254 nm et après la révélation par la vapeur d'iode sont représentés dans les figures (III.8 et III.9).

### III.6. Caractérisation quantitative

Notre travail est basé sur les polyphénols et les flavonoïdes et leurs activités.

#### III.6.1. Dosage des polyphénols

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu [2]. (Singleton *et al.*, 1999).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène.

Cette méthode basé sur la quantification de la concentration totale de groupes benzo-hydroxyles présente dans l'extrait. Le réactif de **Folin-Ciocalteu** est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ).

Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ).

La coloration produite sous absorption maximale de 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [3].

### III.7. les totaux des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu

L'extrait sec a dissous dans le méthanol pour obtenir un extrait méthanolique. Pour réaliser le dosage, on dissout 4 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dans 36 ml d'eau puis fermer le flacon, ensuite on ajoute 10 $\mu$ l d'extrait avec 9990  $\mu$ l du solvant méthanol pour les dilutions. Après 4 min, on dissout 3g du  $NaHCO_3$  dans 40ml d'eau et fermer le flacon.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénol est réalisé [4]. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre U-V à 760 nm. Des mesures multipliées ont été prises et des valeurs moyennes calculées.

### III.7.1. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "l'acide gallique" à différentes concentrations (0.01-0.5  $\mu\text{g/ml}$ ) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait brute (75.45 mg EQ/mg).

### III.8. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de la plante, est réalisée par la méthode chlorométrique[5], dont le principe, repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes de couleur jaune avec le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV à 430 nm. Des mesures multipliées ont été prises et des valeurs moyennes calculées.

#### III.8.1. les totaux des flavonoïdes par la méthode chlorométrique ( $\text{AlCl}_3/10\%$ )

La première étape commence par la préparation des réactifs, on dissout 0.25g de réactif  $\text{NaNO}_2$  dans 5 ml d'eau, 0.5g de  $\text{AlCl}_3$  dans 5ml de MeOH, ensuite on dissout 2g de NaOH dans 50ml d'eau.

La deuxième étape on prépare l'extrait : L'extrait sec a dissous dans le méthanol pour obtenir un extrait méthanolique, on ajoute 10 $\mu\text{l}$  d'extrait avec 9990 $\mu\text{l}$  du solvant méthanol, on trouve une solution de 500 $\mu\text{l}$  de l'extrait plus 2ml d'eau.

On ajoute 150 $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  (5%) et laisser reposer, après 6 minutes on ajoute 150 $\mu\text{l}$  de  $\text{AlCl}_3$  (10%) dans MeOH et aussi laisser reposer 6min, puis ajouter 2ml de NaOH (4%) avec 200 $\mu\text{l}$  d'eau et laisser reposer 15min.

Pour le blanc on fait les mêmes étapes que la solution avec quelque différent au volume d'extrait (500 $\mu\text{l}$  d'extrait avec 500 $\mu\text{l}$  de solvant de la réaction).

Le mélange est vigoureusement agité, après incubation à la température ambiante pendant 30 min, l'absorbance de la solution est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre contre le blanc.



### III.8.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "**la Quercétine**" à différentes concentrations (0.01-0.5 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait brute (92.7 mg EQ/mg).

### III.9. Evaluation du pouvoir antioxydant

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

Dans notre étude nous avons utilisé Le test DPPH.

#### III.9.1. Test par le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazine)

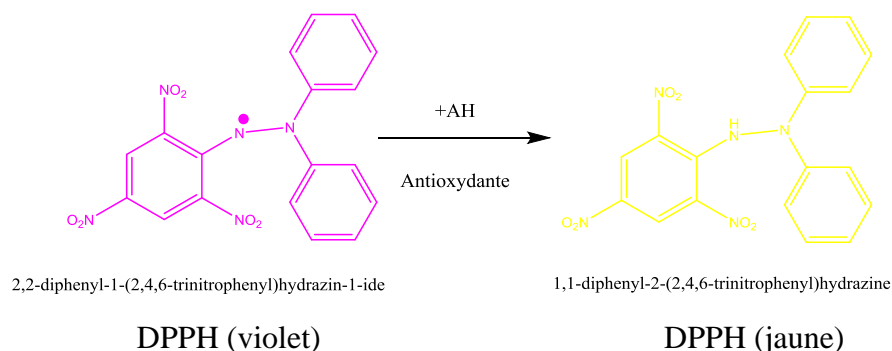
##### III.9.1.1. Principe de DPPH

Le DPPH est un radical libre stable qui peut accepter qu'un radical électronique ou hydrogène devienne une molécule diamagnétique stable. En raison de son électron impair, la solution méthanolique de DPPH présente une bande d'absorption puissante à 517 nm.

Le radical DPPH réagit avec un agent réducteur approprié, produisant une nouvelle liaison, modifiant la couleur violette de la solution à couleur jaune (**le DPPH se réduit en 2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazine**). La solution perd sa couleur avec l'augmentation de la concentration d'antioxydant à mesure que les électrons absorbés par le radical DPPH de l'antioxydant (**Figure III.10**).

Cette réactivité a été utilisée pour tester l'aptitude de composés / extraits de plantes à agir en tant que piègeurs de radicaux libres.

La réduction des radicaux DPPH peut être surveillée spectrophotométrique par diminution de l'absorbance à 517 nm [6].



**Figure III.10** : Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant(AH)

### III.9.1.2. Préparation de la solution de DPPH

90  $\mu\text{M}$  ( $\mu\text{mol/l}$ ) à l'avance (1 heure) car la solubilisation est difficile. On dissout 0.0085g du DPPH dans 240 ml de MeOH, puis on fait l'agitation pendant 1h à 4°C à l'obscurité.

$n$   $\mu\text{l}$  de la solution methanolique de l'extraits brute, sont ajoutés dans la solution methanolique de DPPH jusqu'à 2000  $\mu\text{l}$ , pour chaque concentration préparé un blanc en parallèle, en mélangeant  $n$   $\mu\text{l}$  de l'méthanol avec le contenu jusqu'à 2000 $\mu\text{l}$  d'une solution methanolique de DPPH à la même concentration utilisée, en ce qui concerne le contrôle négatif.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes dans le bain à ultrasons, l'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radicale DPPH a été évaluée par spectrophotométrie UV visible en suivant la réduction de ce radicale qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm.

### III.9.1.3. Pourcentages d'inhibition (PI%)

En calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI%), qui est donné selon la formule suivant

$$\text{PI \%} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{extrait}} / A_{\text{control}}) * 100].$$

$P_I\%$ : correspond à le pourcentage d'inhibition

$A_{\text{control}}$  : correspond à l'absorbance du (DPPH) sans antioxydant après le temps de réaction.

$A_{\text{extrait}}$  : correspond à l'absorbance de l'échantillon avec DPPH après le temps de réaction.

Puis on peut tracer la courbe d'étalonnage qui représente la variation du pourcentage en fonction des concentrations de l'extrait. Cela permet de déterminer l' $IC_{50}$ , la concentration de l'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de forme réduite du radical DPPH. Il faut rappeler que plus la valeur d' $IC_{50}$  est petite, l'activité antioxydant des extraits est grande.

#### III.9.1.4. Concentration inhibitrice "IC50"

La concentration inhibitrice à 50 % aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH• [7]. Il a calculé par des logiciels ou graphiquement à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ).

Calcul des  $IC_{50}$ , paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH•, Plus la valeur de l' $IC_{50}$  est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Étude de l'activité anti-oxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH Le radical DPPH• est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse [8].

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• et comparés antioxydant de référence (acide ascorbique).

Les courbes ont une allure logarithmique, à partir de cela nous avons déterminé les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi la valeur de l' $IC_{50}$  de l'acide ascorbique et l'extraits brut.

**Références**

- [1] Akrou, A. (2004). Étude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). *Cahiers Options Méditerranéennes*, 62, 289-292.
- [3] Boizot N et Charpentier JP. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Laboratoire d'Analyses Biochimiques*. P.79-82.
- [4] Li HB., Cheng KW., Wong CC., Fan KW., Chen F et Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. P. 771–776.
- [5] Quettier-Deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin JC., Bailleul F et Trotin F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* 72: 35–42.
- [6] Balasaheb SN et Palb D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *The Royal Society of Chemistry*. 5: 27986-28006.
- [7] Fabri R. L., Nogueira M. S., Braga F. G., Coimbra E. S. and Scio E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects, *Bioresource Technology* ; 100 : 428-433.
- [8] Bozin B., Mimica-Duric N., Samojlik I., Goran A. and Igetic R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae).

## I. Introduction

Dans cette partie, nous allons décrire quelques concepts fondamentaux (Méthodes quantiques) de la chimie théorique dans lequel ces travaux de mémoire ont été effectués.

Ces concepts sont basés sur l'équation de *Schrödinger* indépendante du temps et sur l'approximation de Born-Oppenheimer (la séparation entre électrons et mouvements de noyau). Nous avons utilisé ces méthodes pour étudier la réactivité et les propriétés chimiques de certaines molécules d'extrait de la *salvia officinalis*.

### IV.1. Equation de Schrödinger

Les propriétés chimiques d'un système quantique sont déterminées par la fonction d'onde  $\Psi$ . Cette dernière dépend des variables d'espace de chaque particule et elle est la solution de l'équation de Schrödinger qui s'écrit pour les états stationnaires :

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (1)$$

Où :

- $\hat{H}$  est l'opérateur hamiltonien du système.
- $\Psi$  est la fonction d'onde du système.
- $E$  est l'énergie totale du système.

$\hat{H}$  est l'opérateur hamiltonien moléculaire associé à l'énergie totale  $E$  du système étudié.

Il s'écrit pour un système polyélectronique constitué de  $n$  électrons et de  $N$  noyaux en unités atomiques (u.a) :

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{eN} + \hat{T}_N + \hat{V}_{NN} \quad (2)$$

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \Delta_i + \sum_{i>j}^n \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{A=1}^N \sum_{i=1}^n \frac{Z_A}{r_{Ai}} - \frac{1}{2} \sum_{A=1}^N \frac{1}{M_A} \Delta_A + \sum_{B>A}^N \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3)$$

Où les noyaux sont désignés par A et B et les électrons par i et j, est défini par la somme de cinq termes (terme cinétique des électrons, terme de répulsions électrons-électrons, terme d'attractions électrons-noyaux, terme cinétique des noyaux et terme de répulsions noyaux-noyaux).

$\Delta_i$  et  $\Delta_j$  sont les *laplaciens* de l'électron  $i$  et du noyau  $j$ .  $\Delta_i$  est donné par la relation :

$$\Delta_i = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (4)$$

### IV.2. L'approximation de Born-Oppenheimer

En 1927, Born et Oppenheimer ont proposé de simplifier la résolution de l'équation (I.1) en séparant l'hamiltonien électronique  $\hat{H}_e$  de l'hamiltonien nucléaire  $\hat{H}_N$  dans la fonction d'onde. Cette approximation est basée sur le fait que les électrons se déplacent beaucoup plus rapidement que les noyaux, ceci étant dû à la masse beaucoup plus faible des électrons (environ 1836 fois moindre de celle du proton). Cela permet de considérablement simplifier l'équation (2) : en effet, l'opérateur de l'énergie cinétique des noyaux devient nul :  $\hat{T}_N = 0$  et l'opérateur  $\hat{V}_{NN}$  devient une constante.

L'hamiltonien sera décomposé en deux termes : un hamiltonien purement électronique et un hamiltonien nucléaire l'hamiltonien électronique s'écrit alors comme suit :

$$\hat{H}_e = \hat{T}_e(r) + \hat{V}_{ee}(r) + \hat{V}_{eN}(r, R) \quad (5)$$

$$\hat{H}_e = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \frac{\hbar^2}{m_e} \Delta_i + \sum_{i>j}^n \frac{e^2}{r_{ij}} - \sum_{A=1}^N \sum_{i=1}^n \frac{Z_A e^2}{r_{Ai}} \quad (6)$$

L'équation de Schrödinger purement électronique devient alors :

$$\hat{H}_e \Psi_e(r, R) = \varepsilon_e(R) \Psi_e(r, R) \quad (7)$$

### IV.3 Problème électronique et l'approximation de Hartree-Fock

L'approximation de Born-Oppenheimer admet de découpler les mouvements des noyaux de ceux des électrons, donc le problème devient purement électronique et la position des noyaux est un paramètre. Par conséquence, la fonction d'onde recherchée est une fonction d'onde polyélectronique  $\Psi$ .

La méthode HF propose de résoudre l'équation de Schrödinger électronique en décrivant la fonction d'onde  $\Psi_e$  électronique sous la forme d'un seul déterminant de Slater composé de spin-orbitales  $\phi$  mono-électroniques supposées normalisées.

$$\Psi_e(1,2,3 \dots n) = \varphi_1(1) \cdot \varphi_2(2) \cdot \varphi_3(3) \dots \varphi_n(n)$$

Cependant, pour décrire complètement la distribution des électrons, les coordonnées de spin doivent être introduites. Le produit d'une fonction d'onde spatiale (OM) et d'une fonction de spin  $\eta(i)$  est appelé *spin-orbitale*:

$$\chi(i) = \psi(i)\eta(i)$$

On associe à la fonction de spin  $\eta_s$  deux formes :  $\alpha$  pour le spin  $(\frac{1}{2})$  et  $\beta$  pour le spin  $(-\frac{1}{2})$

Où :  $\eta(i) = \alpha(i)$  ou  $\beta(i)$  est l'une des deux fonctions de spin accessible à un électron.

Par conséquent, pour un système ayant  $n$  électrons, la fonction d'onde la plus simple sera sous la forme d'un produit des spin-orbitales:

$$\Psi_e(1,2,3 \dots n) = \chi_1(\mathbf{1})\chi_2(\mathbf{2})\chi_3(\mathbf{3}) \dots \dots \chi_n(\mathbf{n})$$

Cette fonction d'onde ne prend pas en compte l'indiscernabilité des électrons. Elle doit satisfaire *le principe de Pauli* [1] qui impose que si les coordonnées des électrons  $i$  et  $j$  sont inter-changées, la fonction d'onde doit changer de signe.

Pour prendre en compte cette indiscernabilité et assurer l'antisymétrie, la fonction d'onde est écrite sous la forme d'un *déterminant de Slater* [2] :

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \chi_1(\mathbf{1})\chi_2(\mathbf{1}) & \dots & \chi_n(\mathbf{1}) \\ \chi_1(\mathbf{2})\chi_2(\mathbf{2}) & \dots & \chi_n(\mathbf{2}) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(\mathbf{n})\chi_2(\mathbf{n}) & \dots & \chi_n(\mathbf{n}) \end{vmatrix}$$

Où

$\frac{1}{\sqrt{n!}}$  est le facteur de normalisation.

### IV.4. Méthode de Hartree-Fock-Roothan : *Approximation LCAO*

L'approximation LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals) est basée sur le fait que la liaison chimique se forme suite au recouvrement de fonctions d'onde appartenant à 2 atomes suffisamment rapprochés. Ainsi, la fonction d'onde mono électronique d'une molécule peut être considérée comme une combinaison linéaire des fonctions d'onde atomiques. Ces dernières constituent les fonctions de base choisies pour la description du système [3].

$$\Phi_i = \sum_{r=1}^n C_{ir} \varphi_r$$

$\varphi_r$  est une orbitale atomique et les coefficients  $C_{ir}$  sont inconnus. La recherche de la fonction d'onde revient à déterminer les coefficients  $C_{ir}$ .

### IV.5. Méthodes Post Hartree-Fock : Concept de corrélation

Le modèle HF est très utile pour prédire des propriétés atomiques ou moléculaires, mais des méthodes post HF sont nécessaires pour trouver l'énergie de liaison. En fait, il est nécessaire de poursuivre les relations électroniques pour obtenir des propriétés chimiques et physiques pour les atomes, les molécules et leurs réactivités [4].

L'énergie de corrélation d'un système correspond à la différence entre l'énergie HF et l'énergie non relative du système :

$$E_{cor} = E_{exact} - E_{RHF}$$

### IV.6. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

Les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) ont été élaborées en 1927 par Thomas et Fermi qui calculèrent l'énergie d'un atome en représentant son énergie cinétique en fonction de la densité électronique [5]. En 1928, Dirac introduit le terme d'échange prédit par Hartree mais il n'y a toujours aucune prise en compte de la corrélation électronique qui fût finalement ajoutée par Wigner.

L'intérêt d'utiliser la densité électronique provient du fait qu'elle ne dépend que des trois coordonnées spatiales au lieu de 3n dimension de la fonction d'onde [6].



La DFT est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination [7]. De plus, les surfaces d'énergie potentielle des réactions chimiques prédites par les fonctionnelles corrigées par le gradient et/ou les fonctionnelles hybrides sont aussi précises que celles prédites par les niveaux de théories *ab initio* les plus sophistiqués [8].

La densité électronique  $\rho(r)$  est une fonction positive dépendant uniquement des trois coordonnées de l'espace (x, y, z). Cette quantité s'annule à l'infini et vaut N moins le nombre total d'électrons lorsqu'elle est intégrée sur tout l'espace [9].

$$\rho(\mathbf{r} \rightarrow \infty) = 0$$

$$\int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N$$

$\rho(r)$  représente donc, par définition, la probabilité de trouver un électron dans un volume élémentaire ( $dr$ ) défini par  $r$

$$\rho(r) = \int |\Psi(r)|^2 dr = N$$

#### IV.6.1 Théorie de Hohenberg et Kohn

La théorie de la DFT est basée sur le théorème Hohenberg-Kohn, qui établit que l'énergie fondamentale d'un système poly-électronique ainsi que toutes les autres propriétés sont déterminées à partir de la densité électronique  $\rho_0(r)$  de ce système, et que toute densité  $\tilde{\rho}(r)$  autre que la densité réelle conduit nécessairement à une énergie supérieure [10].

$$E_v[\tilde{\rho}] \geq E_0[\rho_0] \tag{I.24}$$

L'énergie totale peut s'écrire comme la somme de trois fonctionnelles :

$$E_0[\rho_0] = E_{ne}[\rho_0] + T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] \tag{I.25}$$

Avec

$$E_{ne}[\rho_0] = \int \rho_0(r) v_{ext}(r) dr \tag{I.26}$$

$T[\rho_0]$  est l'énergie cinétique du système électronique.

$E_{ne}[\rho_0]$  est l'énergie d'interaction électron-noyau.

$E_{ee}[\rho_0]$  est l'énergie d'interaction répulsive électron-électron.

### IV.7. Les fonctionnelles énergies d'échange et corrélation

Selon l'approximation utilisée, Il existe différentes classes de fonctionnelles énergies d'échange et corrélation :

#### IV.7.1 Les fonctionnels hybrides

Dans ces fonctionnelles, on introduit un certain pourcentage de l'échange exact calculable tel qu'en théorie HF. Becke a proposé l'expression suivante de l'énergie d'échange et de corrélation, qualifiée d'hybride car elle prend en compte l'énergie d'échange exact HF ainsi que l'énergie d'échange et de corrélation DFT [11]

$$E_{hybride}^{xc} = c_{HF}E_{HF}^X + c_{DFT}E_{DFT}^{XC}$$

Les paramètres  $c_{HF}$  et  $c_{DFT}$  étant des constantes à déterminer. Le fonctionnel hybride le plus populaire est connu sous le nom de B3LYP (Becke 3-paramètres Lee-Yang-Parr) consiste à une hybridation (mélange) de plusieurs fonctionnelles de différentes méthodes. Elle est proposée par Becke sous forme d'une expression de trois paramètres désigné par **B3** [12] et fait appel à l'approximation B88 pour l'échange et celle de Lee, Yang et Parr (**LYP**) pour la corrélation. Elle permet de décrire correctement les propriétés magnétiques de composés moléculaires organiques et aussi de métaux de transition et de ligands [13-14].

A leur tour, ces fonctionnelles traitent la partie échange de la fonctionnelle comme un mélange d'échange Hartree-Fock et d'échange *DFT*. La partie corrélation reste purement *DFT*. Elles permettent d'avoir une meilleure représentation énergétique de l'énergie d'échange-corrélation. Les meilleures fonctionnelles, à l'heure actuelle sont des fonctionnels hybrides [15].

L'approche DFT possède l'avantage d'introduire les effets de la corrélation électronique à un coût moindre par rapport aux méthodes *ab initio* traditionnelles. Cependant, les résultats obtenus en DFT sont très dépendants des systèmes étudiés et de la qualité de la fonctionnelle d'échange-corrélation utilisée. Il est souvent nécessaire d'appuyer des calculs DFT par des calculs de type MP2 ou autre, quand cela est possible, afin de valider les résultats [15].

La DFT étant plus récente que les méthodes *ab-initio*, il est impératif de faire des calculs préliminaires sur des systèmes tests avant de l'appliquer à un système inconnu car une meilleure base n'entraîne pas nécessairement un meilleur résultat [15].

### IV.8. Bases d'orbitales atomiques

Une orbitale moléculaire est représentée par une combinaison linéaire des orbitales atomiques (OA). Le choix de la base des orbitales atomiques est très important pour le calcul électronique. Il existe deux types de fonctions exprimant les orbitales atomiques : les fonctions de base de Slater (STO) et les fonctions gaussiennes (GTO). La fonction Slater est représentée par l'expression suivante :

$$\phi_{n,l,m,\alpha}(\mathbf{r}, \theta, \varphi) = N Y_l^m(\theta, \varphi) r^{n-l} e^{-\alpha r} \quad (\text{I. 30})$$

Les fonctions de Slater ont un bon comportement à courte et longue distance. Mais elles posent de grandes difficultés dans le calcul des intégrales bioélectroniques et sont très coûteuses en temps de calcul. Elles sont donc souvent utilisées pour les petits systèmes linéaires en se limitant aux domaines des distances internucléaires de courte portée. Pour résoudre ce problème, les OA type de Slater sont remplacées chacune par une combinaison linéaire de fonctions Gaussiennes de type :

$$g(\alpha, \vec{r}) = N \cdot x^n \cdot y^l \cdot z^m \cdot e^{-\alpha r^2} \quad (\text{I. 31})$$

Avec  $N$  est le facteur de normalisation,  $\alpha$  est une constante déterminant la taille de la fonction et  $n, l, m$  sont les nombres quantiques [16].

La base 6-31G est une Split Valence-Double Zeta (SV-DZ) dans laquelle les orbitales de cœur (couches internes) sont exprimées par une contraction de 6 gaussiennes primitives. Les orbitales de la couche de valence sont réparties en deux groupes :

- les orbitales proches du noyau sont décrites par une contraction de 3 primitives.
- les orbitales éloignées par une seule gaussienne primitive.

La base 6-31G\*\* ou 6-31G (p, d) signifie qu'un jeu de fonctions  $p$  a été ajouté aux hydrogènes et que des fonctions  $d$  ont été ajoutés aux autres atomes.

### Références

- [1] E. Goll, H. J. Werner, and H. Stoll. (2005). Phys. Chem. Chem. Phys. 7, 3917.
- [2] I. Gerber, J. G. Ángyán, M. Marsman, and G. Kresse, J. (2007). Chem. Phys. 127, 054101.
- [3] Pople JA, Beveridge DL. (1970). approximate molecular orbital theory. McGraw-Hill, New York. 330.
- [4] Roothaan, C. C. J. (1951). New developments in molecular orbital theory. *Reviews of modern physics*, 23(2), 69
- [5] P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. London A117 (1928). 610-624. (b) P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. London A118.351-361.
- [6] Al Alam, A. F. (2009). *Modélisation au sein de la DFT des propriétés des structures électronique et magnétique et de liaison chimique des Hydrures d'Intermétalliques* (Doctoral dissertation, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I).
- [7] CHERMETTE, H. (1998). Density functional theory: a powerful tool for theoretical studies in coordination chemistry. *Coordination chemistry reviews*, vol. 178, p. 699-721.
- [8] VON RAGUÉ SCHLEYER, Paul. *Encyclopedia of computational chemistry*. Chichester, UK : Wiley.
- [9] Orio, M. (2007). *Etude par la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité des propriétés électroniques et magnétiques de complexes de fer. Application aux systèmes de types Catalase et Fer-Soufre* (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- [10] Slater, J. C. (1974). *Quantum Theory of Molecules and Solides*,. volume 4 McGraw-Hill: New York, 185
- [11] Boucekkine, G. (2007). *méthodes de la chimie quantique*, Edition TI, AF6050 .
- [12] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. (1988). Physical review B, 37, 785.
- [13] Lee, c.; Yang, W.; Parr, R G. (1988). Phys. Rev. B, 37, 785.
- [14] Becke, A. D. 1. (1993). Chem. Phys.98,5648-5652.
- [15] Cristallographie (Calcul computationnel des modes vibrationnels d'un dérivé de l'adénine : Adéninium hémisulfate hydrate).2015.
- [16] ARDJANI, T. E. A. (2017). *Etudes Théorique Structurale et Spectroscopique de Système d'Intérêt Thérapeutique* (Doctoral dissertation, 07-01-2018)

## V-A- : Résultats d'étude expérimentale

### V-1-Introduction

La chromatographie est une méthode chimie-physique de séparation basée sur les différentes affinités d'un ou plusieurs composés à l'égard de deux phases (stationnaire et mobile). Parmi les diverses technique chromatographie on distingue :

- ✚ Chromatographie sur colonne CC.
- ✚ Chromatographie sur couche mince CCM.

#### V-1-1- Chromatographie sur colonne CC

Cette technique est largement utilisée dans la purification en chimie organique. La phase stationnaire utilisée dans cette étude pour la CC est le gel de silice en phase normale. Le choix de la phase stationnaire, les dimensions de la colonne, les conditions d'élution, le débit, la pression et le volume des sous-fractions recueillies ont été établis basant sur l'analyse par CCM et la masse de l'échantillon à étudier.

#### V-1-2- Chromatographie sur couche mince CCM

Pour les analyses sur couche mince (CCM), nous utilisons dans notre laboratoire des plaques de gel de silice soit en phase normale [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck® 250 µm (20 × 20 cm)], prêtes à l'emploi à support en aluminium pour les CCM.

Les plaques CCM sont examinées sous une lampe UV à **254** et **366 nm**. Une solution acide (50% eau, 25% acide acétique et 25% acide sulfurique) a été utilisée comme révélateur et la plaque CCM a été chauffée.

### V-2- Etude phytochimique de l'espèce *salvia officinalis* L.

#### V-2-1- Séparation et purification

La séparation et la purification des composés contenus dans ces extraits nécessitent l'utilisation de différentes techniques chromatographiques (CC et CCM) et l'usage de plusieurs phases stationnaires (gel de silice phase normale), ainsi qu'une vaste gamme de solvants.

**V-2-2- Fractionnement et purification de l'extrait *Acétate d'éthyle (AcOEt)***

Le fractionnement primaire de l'extrait *Acétate d'éthyle* (0.60g) a été réalisé par Chromatographie sur colonne en utilisant le gel de silice phase normal comme phase stationnaire. L'élution a été menée par le mélange Cyclohexane/AcOEt (100/00) à (0/100). Ceci a conduit à l'obtention de 10 fractions majoritaires (**F<sub>1</sub>-F<sub>10</sub>**) (**Tableau V-1**).

**Tableau V-1 : Rassemblement des différentes fractions de la colonne de l'extrait (*AcOEt*).**

Eluant de colonne %	Fractions	CCM	Poids
Cyclohexane/AcOEt (100/0) a (30/70)	100	F <sub>1</sub>	0 g
	95	F <sub>2-3</sub>	85 mg
	90	F <sub>4-5</sub>	Cyclohexane/AcOEt 2/7
	85	F <sub>6-9</sub>	20 mg
	75	F <sub>10-13</sub>	25 mg
	75	F <sub>14-15</sub>	22 mg
	65	F <sub>16-19</sub>	10 mg
	60	F <sub>20-21</sub>	Cyclohexane/AcOEt 4/5
	50	F <sub>22-24</sub>	47 mg
	50	F <sub>25-27</sub>	11 mg
40	F <sub>28-29</sub>	08 mg	
MeOH	100	F <sub>30-31</sub>	Cyclohexane/AcOEt/H <sub>2</sub> O 7/3/0.5
			1000 mg

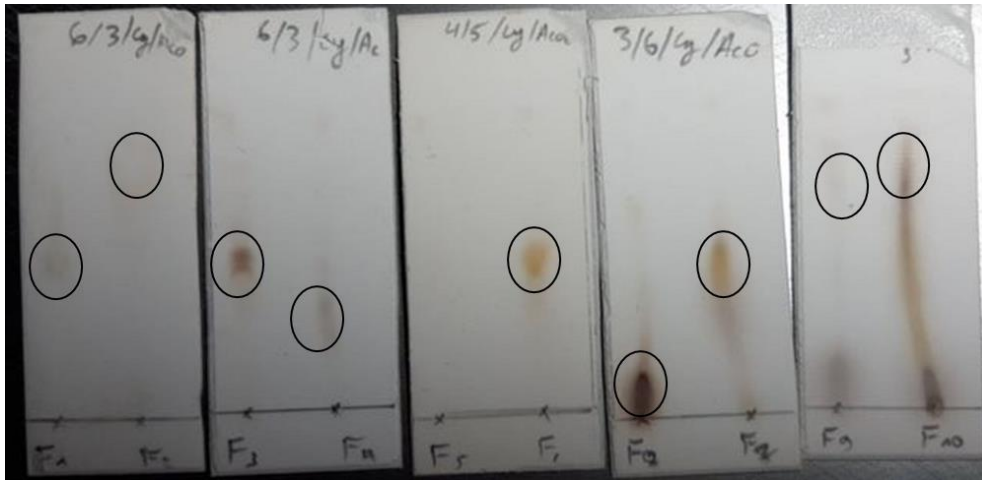


Figure V-1- CCM récapitulative des fractions F<sub>1</sub> à F<sub>10</sub>

### V.3. Rendement en extrait sec

La *salvia officinalis* (sauge) séchée et broyée subit une première extraction par un mélange méthanol/eau (70/30 v/v) et d'un fractionnement de cette dernière extraction successivement par deux solvants : l'acétate d'éthyle et le n- butanol et ceci dans le but de pouvoir récupérer une large gamme de composés phénoliques. Après l'extraction, les extraits secs sont récupérés (le produit final est une résine de couleur marron foncé) et les rendements sont calculés. Le rendement a été déterminé par rapport à 200g de matériel végétal sec. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique (p/p). Les rendements des différents extraits sont déterminés et représentés dans la figure ci-dessous.

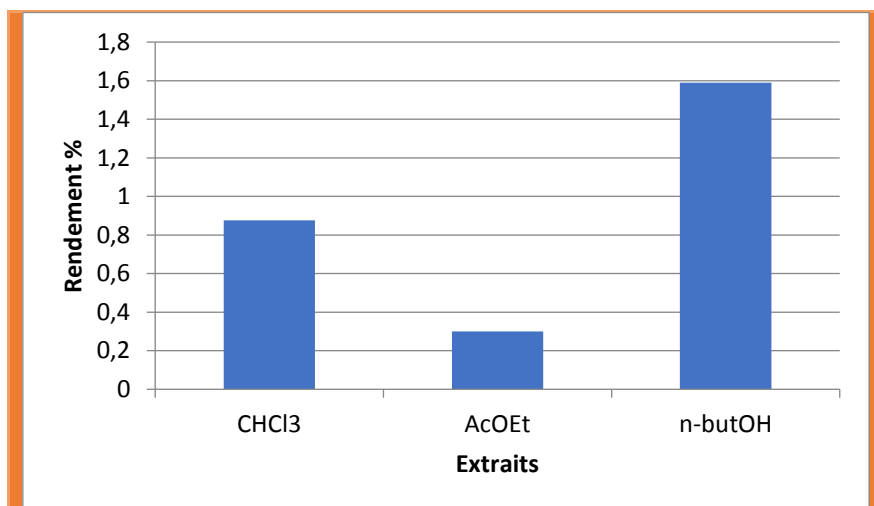


Figure V-2- Rendement en extrait sec

**Ext CHCl<sub>3</sub>** : extrait chloroformique

**Ext AcOEt** : extrait acétate d'éthyle

**Ext BuOH** : extrait butanolique

Selon les résultats illustrés dans la **figure V-03-**, nous avons remarqué que l'extrait butanolique présente le rendement le plus élevé de l'ordre de **1.59%** par rapport aux extraits chloroformique et acétate d'éthyle qui ont présentés des rendements respectifs de l'ordre de **0.875 % ; 0.3 %**.

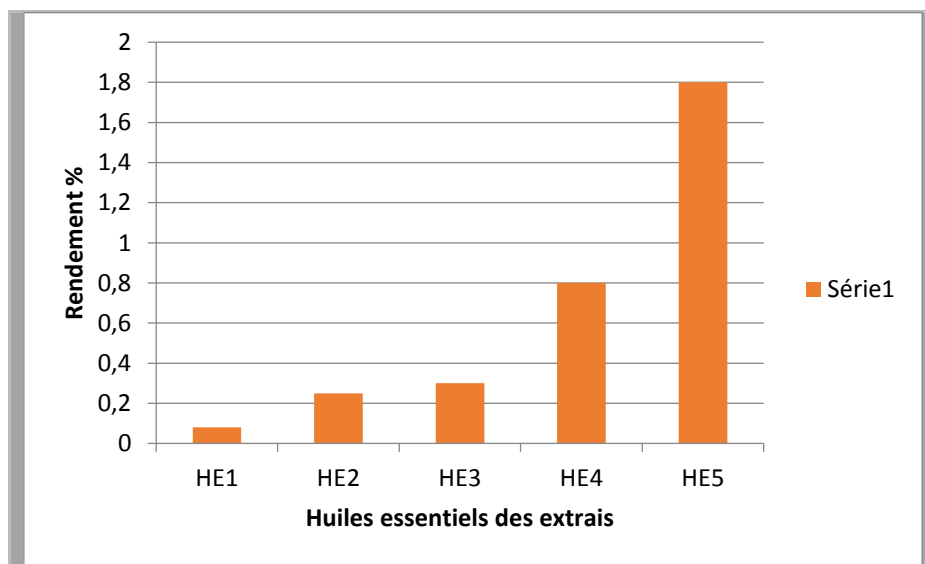
Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits de la plante *Salvia officinalis* sont plus ou moins variables et sont plus importants dans la phase n-butanol par rapport à l'acétate d'éthyle et chloroforme.

#### V.4. Rendement de l'huile essentielle de *salvia officinalis*

Les huiles essentielles ont été extraites à partir de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis* par hydrodistillation. L'échantillon d'huile essentielle est récupéré, puis conservé au réfrigérateur.

Nous avons observé que le rendement d'extraction des huiles essentielles est faible, il est égal à **0,35 %**. Ce résultat est différent que les résultats trouvés par [1] dans Algérie (0,08%) [2] dans Algérie M'sila (0,3%), par [3] Algérie (Guelma) (0,8%) et par [4] Tunisie Marsa (1,8%).

Ces rendements varient en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage et le contenu de chaque espèce en métabolites.



**Figure V.3** : Rendement en huiles essentielles de l'espèce *Salvia officinalis*.

**HE1:** Huile essentielle dans Algérie (0,08%)

**HE2:** Huile essentielle de notre étude (0,35%)

**HE3:** Huile essentielle dans Algérie (M'sila) (0,3%)



**HE4 :** Huile essentielle dans Algérie (Guelma) (0,8%)

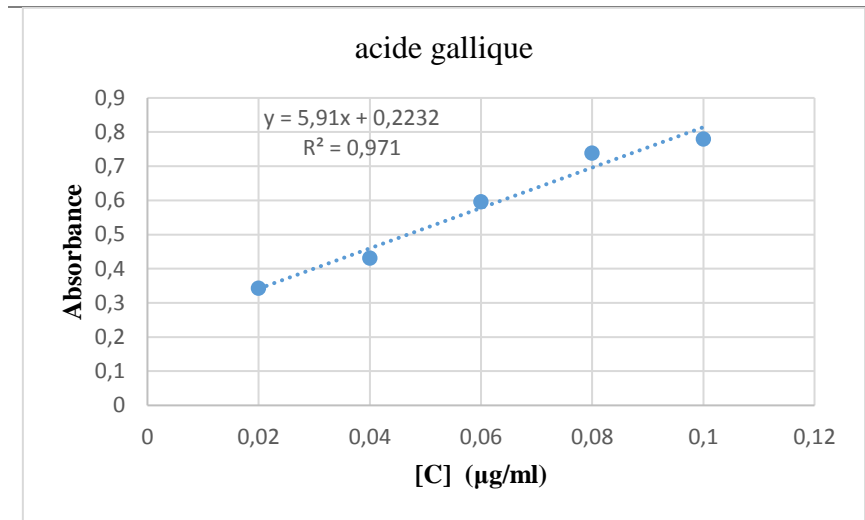
**HE5:** Huile essentielle dans Tunisie Marsa (1,8%)

### V.5. Dosage des composés

#### V.5.1. Dosage des polyphénols

Les polyphénols prennent l'importance grâce à leurs bienfaits sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite l'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs maladies. Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode basée sur leurs réactions au réactif de Folin-Ciocalteu. La couleur bleu après incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le bleu foncé est fonction de la teneur en polyphénols.

La teneur en polyphénols a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de contrôle positif effectuée (acide gallique) avec un  $R^2 = 0,971$ ; elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g ExtS).



**Figure V-4-** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus sont représentés dans l'histogramme ci-dessous :

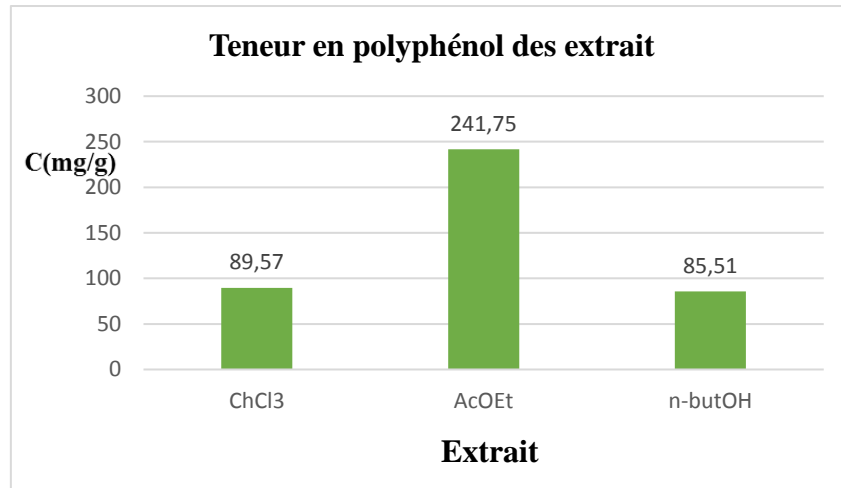


Figure V-5- : Teneurs en polyphénols totaux dans les trois extraits de *salvia officinalis l.*

Phase	CHCL3	AcOEt	n-butOH
Teneur en mg EAG/g Ext	<b>89.57 ± 0,027</b>	<b>241.75± 0,017</b>	<b>85.51± 0,009</b>

Tableau V-2- Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols

Ext CHCL3 : extrait chloroformique

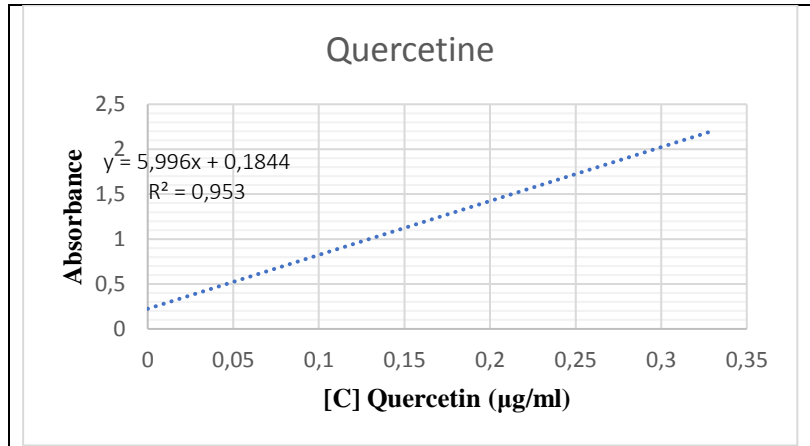
Ext AcOEt : extrait acétate d'éthyle

Ext BuOH : extrait butanolique

Les résultats montrent clairement que la meilleur teneur  $241.75 \pm 0,017$ mg EAG/g ExtS a été obtenu avec l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait chloroformique  $89, 57 \pm 0,027$ mgEAG/g ExtS, tandis que l'extrait butanolique présente la plus faible teneur qui est de l'ordre de  $85.51 \pm 0,009$  mg EAG/g ExtS.

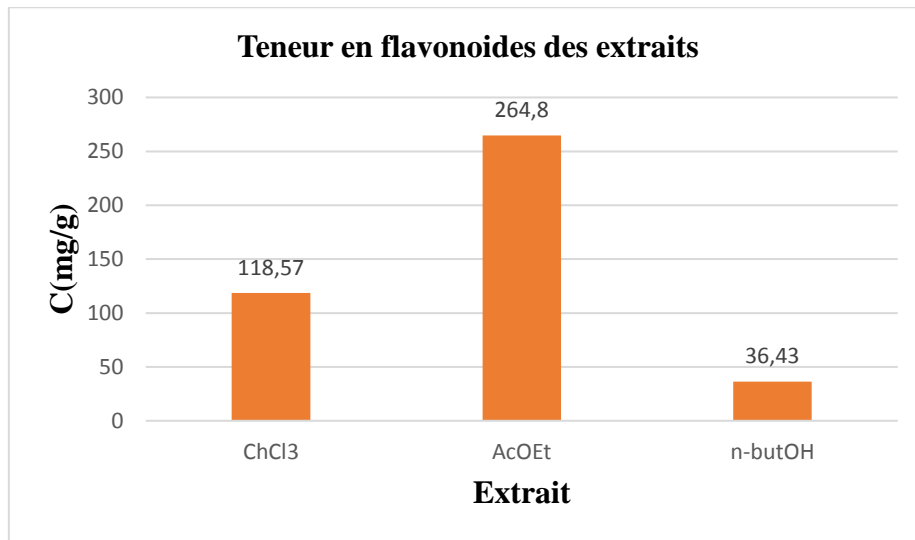
### V.5.2. Dosage des flavonoïdes

Une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits de la sauge, l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium (AlCl<sub>3</sub>), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés. La teneur en flavonoïdes pour les différents extraits a été exprimée en mg équivalent de quercetine par gramme de matière végétale sèche à partir de la courbe d'étalonnage effectuée (figure V-6-).



**Figure V-6-**Courbe d'étalonnage de quercetine pour le dosage des flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus sont représentés dans l'histogramme ci-dessous :



**Figure V-7-** Teneurs en flavonoïdes totaux dans les trois extraits de *salvia officinalis l.*

phase	CHCL3	AcOEt	n- butOt
Teneur en mg EAG/g Ext	<b>118.57± 0,018</b>	<b>264.8± 0,053</b>	<b>36.43± 0,06</b>

**Tableau V-3-**Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes

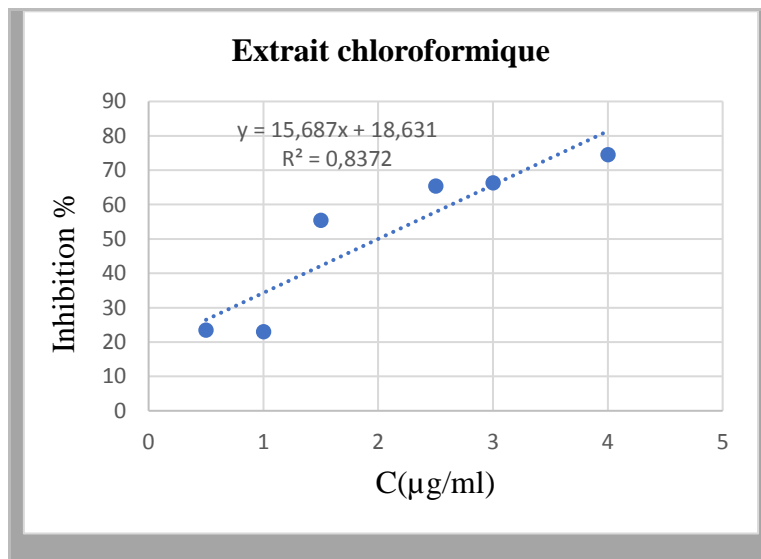
Selon l'histogramme présenté dans la **figure V-07-**, nous avons remarqué que l'extrait acétate d'éthyle présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes, de  $264.8 \pm 0,053$  mg EQ/g ExtS suivi par l'extrait chloroformique avec un taux de  $118.57 \pm 0,018$  mg EQ/g ExtS, tandis que l'extrait butanolique a présenté une faible teneur de l'ordre de  $36.43 \pm 0,06$  mg EQ/g ExtS.

### V.5.3. L'activité antioxydant la méthode de DPPH

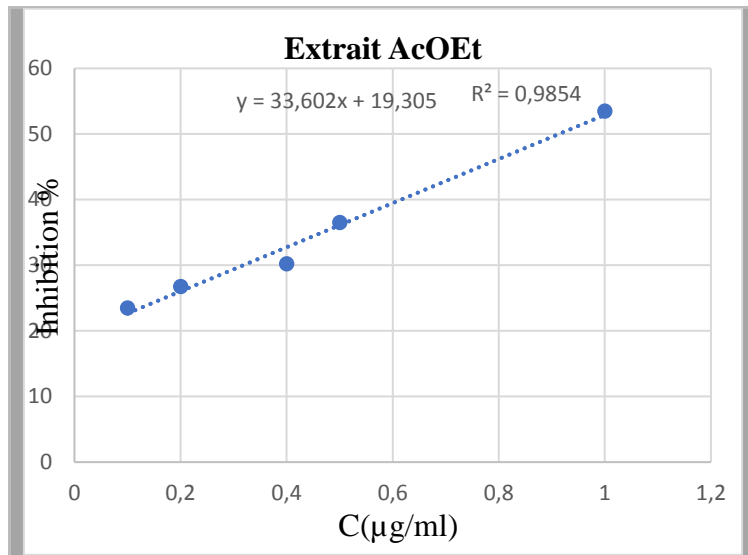
90  $\mu$ M de DPPH au MeOH, et le control l'activité anti-oxydantes, il a été réalisée par 1 mg d'acide ascorbique ont été dissous dans 100 ml d'eau, la concentration en solution acide ascorbique est de 10  $\mu$ g / ml. On travaillé sur l'extrait brute.

La capacité antioxydant des extraits (CHCl<sub>3</sub>, acétate d'éthyle et n-butanol) est évaluée par leur réaction avec le radical DPPH. Le pourcentage d'inhibition PI (%) est calculé pour chaque concentration. La (**figure V.09-12**). Représente la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait.

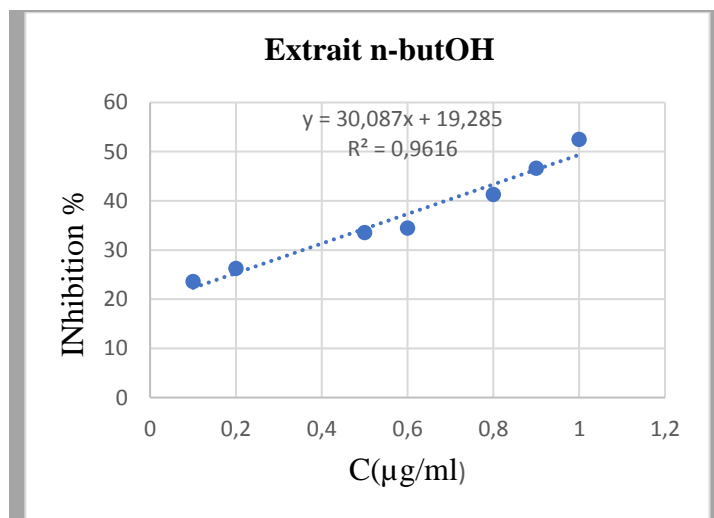
D'après les résultats obtenus, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique), ou pour les trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol).



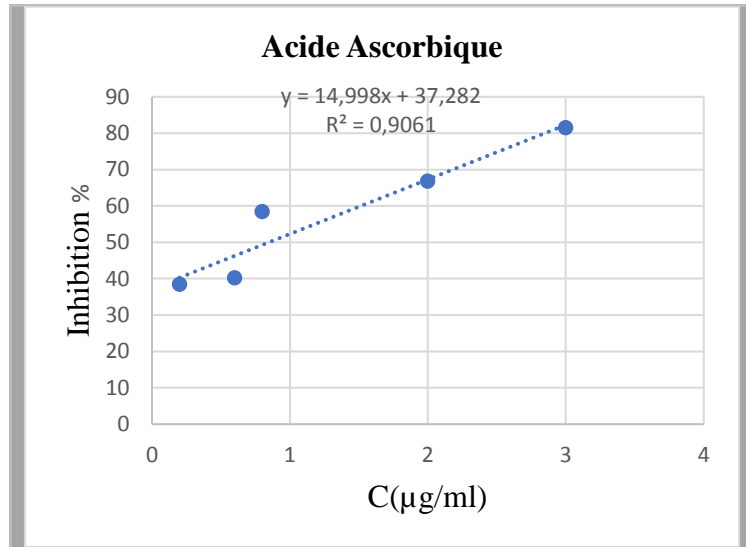
**Figure V-8-** Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait chloroformique



**Figure V-9-** Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle.



**Figure V-10-** Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait butanolique.



**Figure V-11- Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique**

D'après les courbes (**figures V-8 à V-11**) nous avons remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est proportionnel à la concentration (des extraits et de l'acide ascorbique). L'activité anti-oxydante des différents extraits est mesurée par  $IC_{50}$  qui est la concentration d'extrait qui réduit 50% de radical libre DPPH; une faible valeur de  $IC_{50}$  implique une activité antioxydant plus élevée.

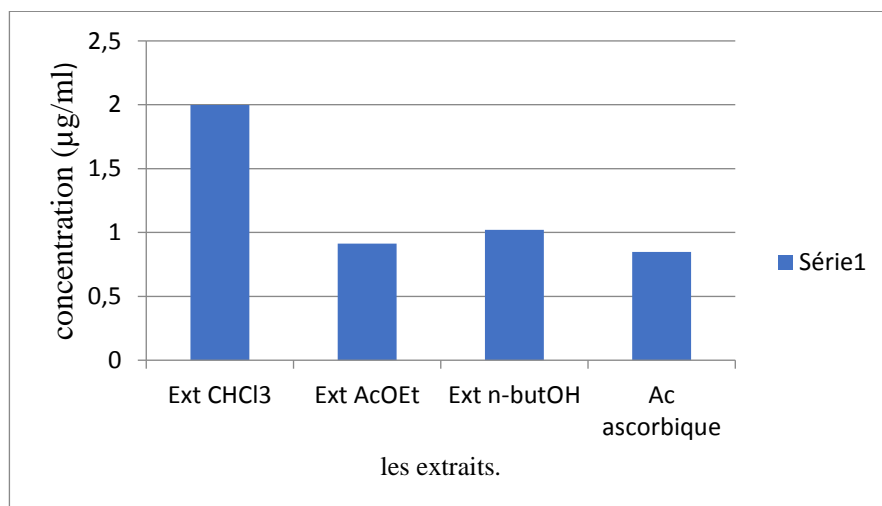
IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
Ext CHCl <sub>3</sub>	<b>1.998</b>
Ext AcOEt	<b>0.913</b>
Ext n-butOH	<b>1.02</b>
Ac ascorbique	<b>0.847</b>

**Tableau V-4- activité anti-oxydante exprimée en  $IC_{50}$  de l'espèce**

D'après les résultats représentés dans le **tableau V-04-**, la valeur de l' $IC_{50}$  obtenu pour l'acide ascorbique (**0,847mg /ml**) qui est utilisé comme une molécule de référence, elle est inférieure à celles des extraits, et selon la définition de  $IC_{50}$ , Plus la valeur de l' $IC_{50}$  est petite, plus l'extrait possède une bonne activité anti-oxydante, donc l'extrait d'acétate d'éthyle

qui présente une IC50 (d'ordre de **0,913 mg /ml**) inférieur à celle d'extrait n-butanol (**1,02 mg/ml**) et chloroforme (**1,998mg/ml**) respectivement est plus efficace en tant que inhibiteur en comparaison aux autres extraits.

L'histogramme ci-dessous rapporte une comparaison entre l'activité antiradicalaire de nos extraits à celui de l'acide ascorbique (**Figure V-08-**)



(**Figure V-12-**) L'activité anti radicalaire des différents extraits et l'acide ascorbique.

### Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré que Les extraits étudiés possèdent une activité anti-oxydante modérée à une forte activité qui dépasse celle de l'acide ascorbique.

Cette étude laisse entrevoir des perspectives d'application dans les domaines de l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Les résultats obtenus pourraient contribuer à la valorisation de ces plantes aromatiques et médicinales algérienne.

**Références**

- [1] **Djeddi S., Bouchenak NS., Settar I et Halli L. (2012).** Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil. *Global Journal of Medicinal Plant Research*. 1(1): 46-49.
- [2] **Dahmani S et Dahmani F. (2018).** Evaluation de l'activité biologique des différents extraits, et des huiles essentielles de la plante : *Salvia officinalis L.* Mémoire de Master Académique en Biodiversité et Physiologie Végétale, Université Mohamed Boudiaf - M'sila.
- [3] **Bouzaoui N et Haridi Z. (2013).** Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie. Université 08 Mai 45 Guelma.
- [4] **Fellah S., Romdhane M et Abderraba M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. 16(2):193-202.



## V-B : résultats d'études théoriques

### V-1-Calculs chimiques quantiques

Les méthodes de calcul de chimie quantique (ab initio) deviennent une étude fondamentale pour étudier les propriétés physico-chimiques des composés organiques et leurs réactivités. Par conséquent ces méthodes prennent une part importante dans la recherche scientifique.

### V-2-Détails de calcul

Les calculs de chimie quantique ont été effectués à l'aide du programme Gaussian 09 et Gauss View a été utilisé pour la visualisation [1, 2]. Les structures des composés étudiés ont été optimisées par la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) sur la base B3LYP/6-311G++ (d, p) en phase gazeuse [3, 4]. Les points stationnaires ont été identifiés positivement pour les minima locaux sans fréquences imaginaires. L'optimisation de la géométrie (**Figure V- 1**), les distributions de densité électronique des orbitales moléculaires frontières HOMO, LUMO et la surface de potentiel électrostatique moléculaire (MEP) ont été montrées sur la figure 1. Tous les paramètres de la chimie quantique, tels que EHOMO, ELUMO, l'écart énergétique, le moment dipolaire ( $\mu$ ), la polarisabilité moyenne, et l'indice d'électrophile ( $\omega$ ) ont été calculées et discutées.

Cependant, les paramètres de réactivité de trois composés ont été calculés et présentés dans les tableaux 1 et 2 en utilisant les relations suivantes :

$$\mu = (\mu_x^2 + \mu_y^2 + \mu_z^2)^{1/2}$$

$$\langle \alpha \rangle = \frac{\alpha_x + \alpha_y + \alpha_z}{3}$$

$$\chi = -\mu = \frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2} \dots \dots \dots (1)$$

$$I = -E_{HOMO} \dots \dots \dots (3)$$

$$A = -E_{LUMO} \dots \dots \dots (4)$$

$$\eta = \frac{I-A}{2} = -\frac{(E_{HOMO} - E_{LUMO})}{2} \dots \dots \dots (5)$$

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \dots \dots \dots (6)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \dots \dots \dots (7)$$

Où  $I$  et  $A$  représentent respectivement le potentiel d'ionisation et l'affinité électronique. Ces grandeurs sont associées à l'énergie de l'HOMO et LUMO selon le théorème de Koopman [5].

Alors que  $\chi$ ,  $\eta$  and  $\sigma$  signifient respectivement l'électronégativité, la dureté et la douceur de la molécule.

La molécule a des valeurs élevées de dureté (dure), de mollesse (douce) et un grand écart orbital de frontière  $\Delta E$ , ceux signifient que la molécule est associée à une faible réactivité chimique, c-à-dire une stabilité cinétique élevée. Alors que les faibles valeurs de mollesse signifient que la molécule a tendance à changer facilement la densité électronique avec ses environnements. Une valeur élevée de l'indice d'électrophile ( $\omega$ ) et du potentiel chimique ( $\mu$ ) indique la capacité de la molécule à accepter des électrons [6-7].

On peut voir à partir des tableaux 2 et 3, que les valeurs calculées des paramètres chimiques pour les composés 2 et 3 sont généralement proches par rapport au composé 1. Sauf dans les cas de l'énergie totale et le gap, le composé 2 présente des valeurs significatives. L'énergie totale démunie dans la séquence suivante : **(3)** (-1029.242617 u.a) > **(2)** (-1079.003347) > **(1)**(-1183.104378 u. a). Et le gap : **(1)** (5,421) > **(2)** (4,365) > **(1)**(4,324).

### V-3-Analyse des orbitales moléculaires frontières (HOMO - LUMO).

L'analyse de l'orbitale moléculaire frontière est importante en chimie fondamentale pour révéler la réactivité chimique des composés. Les structures optimisées des composés en phase gazeuse ont été calculées en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) à l'ensemble de base B3LYP/6-311G ++ (d, p), afin d'étudier les propriétés chimiques. La valeur élevée de EHOMO représente la capacité du composé à donner des électrons tandis que la valeur ELUMO la plus faible indique la capacité d'accepter des électrons. Par conséquent, les tracés 3D des orbitales moléculaires frontières HOMO et LUMO, pour les trois composés ont été montrés sur la **Figure 2**. On peut voir à partir de la (Fig.1) que les trois composés ont une distribution de densité électronique HOMO et LUMO similaire de l'ensemble du composé.

Le **tableau V -1** montre que le composé 2 présente une stabilité élevée avec une énergie totale de **-1183,104378** u.a. En outre, la valeur de gap énergétique du composé **2** est

(4,324 eV) moins élevée que celle des composés 1 et 3. Ce qui signifie que le composé 2 change facilement les électrons avec son environnement.

Comme la montre le tableau 4, les paramètres de réactivité ont montré que le composé 3 a une valeur élevée de dureté (1,728 eV), de faibles valeurs de douceur (0,578 eV) et un écart énergétique élevé (3,457 eV) signifie que le composé 3 a une stabilité cinétique élevée (réactivité chimique plus faible) [8]. D'autre part, le composé 3 a des valeurs élevées d'électrophile (38.534) et LUMO (-2.652 eV), signifie que cette molécule peut facilement accepter des électrons.

### V-2-3-Surface de potentiel électrostatique moléculaire (MEP)

Le potentiel électrostatique moléculaire a été utilisé comme une méthode utile pour indiquer les sites de réactivité chimique des composés (**Figure V -1**). L'isosurface de densité électronique à différents points est représentée par différentes couleurs. La couleur rouge montre les régions de potentiel électrostatique le plus négatif, la région active électrophile. Le bleu représente les régions du potentiel électrostatique le plus positif, la région active nucléophile, et le vert illustre la région de potentiel zéro le potentiel augmente dans l'ordre suivant rouge < orange < jaune < vert < bleu. [9,10]

Les régions riches en électrons sont principalement localisées autour des hétéroatomes et des doubles liaisons conjuguées. Les groupements oxygène, sont des indicateurs de régions négatives qui favorisent les attaques électrophiles. Les atomes d'hydrogène ont un signe positif (couleur bleue) favorisant les attaques nucléophiles.

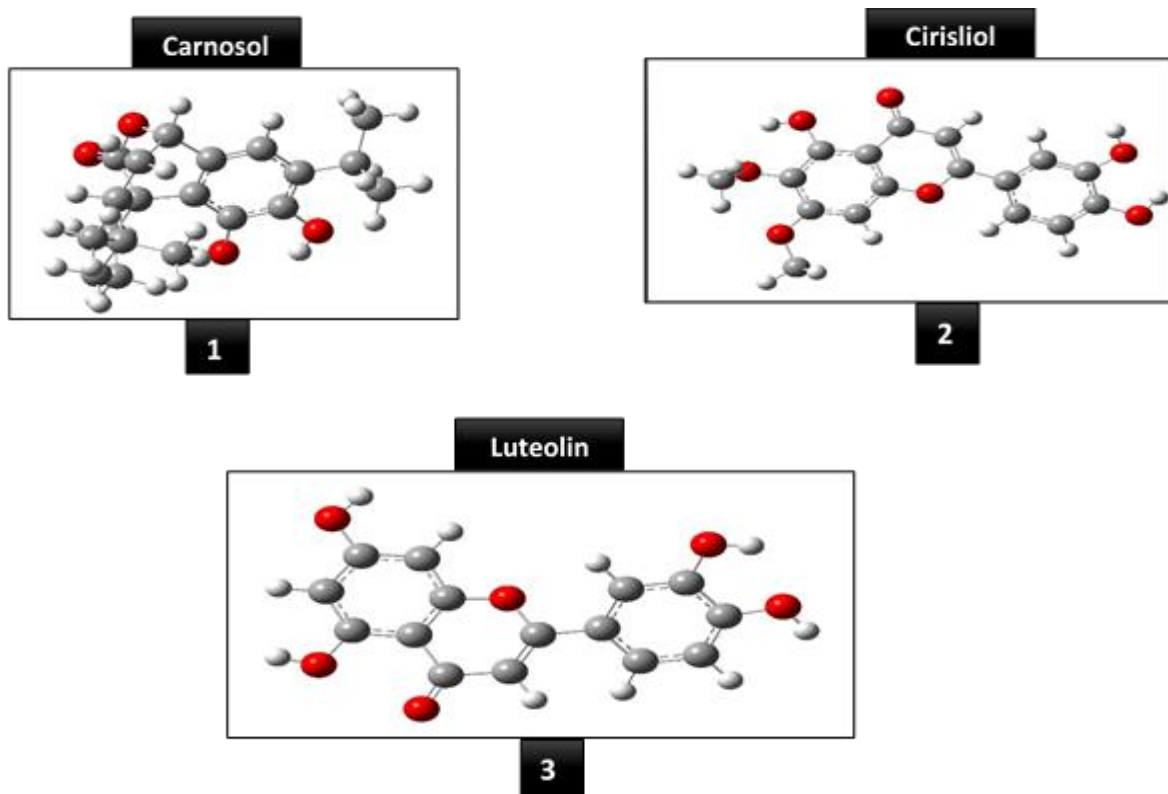


Figure V-1- L'optimisation de la géométrie des trois composés par la méthode DFT au niveau B3LYP/6-311G++ (d, p).

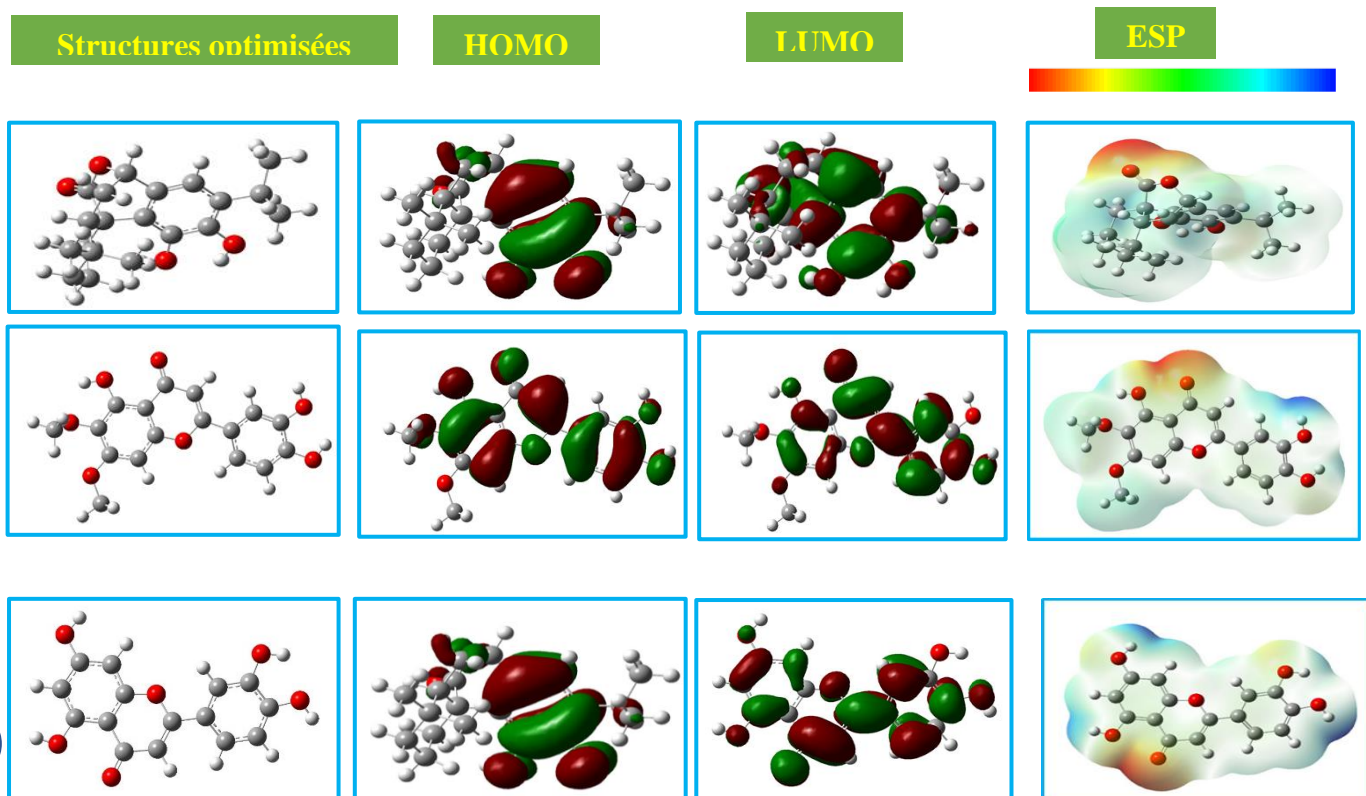


Figure V-2- Distribution de la densité d'orbitales moléculaires frontières HOMO et LUMO en phase gazeuse et potentiels électrostatiques (ESP) cartographiés sur la densité électronique (iso valeur = 0,0004 u. a) pour les trois composés calculés au niveau B3LYP/6-311++G (d, p).

**Tableau V-1-** Paramètres de chimiques quantiques des composés étudiés par la DFT en utilisant l'ensemble de base B3LYP/6-311G++ (d, p).

Paramètres de réactivité (Unités en eV)	Composés		
	1	2	3
Energie totale (en Hartree)	-1079.003347	<b>-1183.104378</b>	-1029.242617
$E_{HOMO}$	-6,171	-6,133	-6,213
$E_{LUMO}$	-0,749	-1,809	-1,847
$\Delta E$	5,421	<b>4,324</b>	4,365
I	6,171	6,133	6,213
A	0,749	1,809	1,847
$\chi$	3,460	<b>3,971</b>	<b>4,030</b>
$\eta$	2,710	2,162	2,182
$\sigma$	0,368	<b>0,462</b>	<b>0,458</b>
$W = \frac{\mu^2}{2\eta}$	22,017	<b>25,509</b>	<b>26,082</b>

**Tableau V-2-** Calculs du moment dipolaire total  $\mu$  (Debye) et polarisabilité (u.a), pour les composés étudiés en utilisant la DFT/ B3LYP/6-311++G (p, d).

Composantes	Composés		
	1	2	3
$\mu_x$	-0.6035	-0.0259	3.7427
$\mu_y$	-2.2035	-4.4578	3.0006
$\mu_z$	3.3202	1.9294	-0.9411
$\mu_{tot}$ (Debye)	4.0303	4.8575	4.8884
$\alpha_x$	283.270	366.476	317.975
$\alpha_y$	222.247	259.515	226.536
$\alpha_z$	209.098	124.572	100.954
$\alpha(a.u)$	238.2050	<b>250.187</b>	215.155

Références

- [1] **M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. (2009).** Petersson, Gaussian 09. Revision C. 01, Gaussian, Wallingford, CT, USA.
- [2] **R. Dennington, T. Keith, J.G. (2009).** Millam, Version 5.0.9, Semichem Inc. Shawnee Mission, KS, USA.
- [3] **A.D. Becke, (1993) .** Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* 98 .5648–5652.
- [4] **C. Lee, W. Yang, R.G. Parr,** Development of the Colle-Salvetti correlation-energy
- [5] **X.H. Wang, D.P. West, N.B. McKeown, T.A. King. J. Opt. Soc. Am. B, 15 (1998)** 1895-1903. **D.A. Kleinman, Phys. Rev. 126 (1962) 1977.**
- [6] **Z.C. Koopmans, T. (1934).** Uber die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den einzelnen Elektronen eines Atoms, *Physica* 1 .104–113.
- [7] **Kumar, R., Karthick, T., Parol, V., Rawat, P., Tandon, P., Gupta, A., ... & Upadhyaya, V.** Spectroscopic characterization and structural insights of 4-[(1E)-3-(4-methoxyphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl] phenyl 4-methylbenzene-1-sulfonate using vibrational, electronic spectra and quantum chemical calculations. *Journal of Molecular Structure*, 1225, 129144.
- [8] **Liyanage P.S., De Silva R.M., De Silva K.M.N., (2003).** Nonlinear optical (NLO) properties of novel organometallic complexes: high accuracy density functional theory (DFT) calculations, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 639, 195-201. DOI: 10.1016/j.theochem.2003.08.009.
- [9] **J.S. Murray, P. Politzer, (2011).** The electrostatic potential: an overview, *Wiley Interdiscip.Rev. Comput. Mol. Sci.* 1 .153–163.
- [10] **P. Sjoberg, P. Politzer, (1990) .** Use of the electrostatic potential at the molecular surface to interpret and predict nucleophilic processes, *J. Phys. Chem.* 94 .3959–3961.

## Conclusion générale

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

L'analyse qualitative effectuée par la chromatographie sur couche mince CCM nous a permis d'avoir un aperçu sur la composition phénolique de notre plante. Ce qui indique que nos extraits sont riches en composés phénoliques tel que l'acide gallique.

La détermination du rendement en extraits a montré que les rendements d'extractions varient en fonction du solvant utilise entre la partie aérienne du plante étudié. De bons résultats sont enregistrés chez l'extrait n-butanol avec un pourcentage de **1.59%**. Ensuite les rendements le plus faible sont chloroforme et acétate d'éthyle avec un pourcentage de **0.875%** et de **0.3%**, respectivement. Notons que le rendement d'huile essentiel est moyenne par rapport aux autres pays, qui est autour de **0.35%**.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que le *Salvia officinalis* est riche en polyphénols. Les teneurs de ces derniers sont comprises entre **241,75** (acétate d'éthyle), **89,57** (chloroforme), et **85,51** ( $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait sec) pour l'extrait n-butanol. L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  a révélé que la plante *Salvia officinalis* contient une quantité importante de flavonoïdes avec des teneurs de **264,8** d'acétate d'éthyle, et **118,57** chloroforme, **36,43** à n-butanol ( $\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait sec).

L'activité anti-oxydante des différents extraits de la plante étudié est évaluée par la méthode de **DPPH**. Les résultats obtenus ont montré que les extraits sont doués d'un pouvoir antioxydant très important avec une  $\text{IC}_{50}$  de **0,913 mg/ml** dans l'extrait d'acétate d'éthyle,  $\text{IC}_{50}$  de **1,02 mg/ml** pour l'extrait de n-butanol, tandis que le plus faible est celui de chloroforme avec une  $\text{IC}_{50}$  de **1,998 mg/ml** dans le test DPPH.

### Résumé

*Salvia officinalis* L est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiaceae*, cette espèce connue sous le nom de « Sauge ». Extraction de cette plante obtenus un rendement l'huile essentielle important avec le pourcentage 0.7%.

Dans le but de connaître les activités biologiques de notre plante médicinale utilisée traditionnellement par la population. L'étude de l'espèce *Salvia officinalis* L a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes familles de composés chimiques contenus dans la partie aérienne.

Les trois extraits testés dans cette étude sont obtenus par macération en utilisant trois solvants à polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol. L'estimation quantitative des flavonoïdes et des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique a montré que les extraits sont riches en ces composés. L'évaluation du pouvoir antioxydant a été réalisée en utilisant une seule méthode : piégeage du radical libre DPPH.

**Mots clés :** polyphénols, *salvia officinalis*, activité anti-oxydante, huiles essentielles.

### Abstract

*Salvia officinalis* Lis a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family, this species known as "sage". Extraction of this plant obtained a return the essential oil with the percentage 0.7%.

In order to know the biological activities of our medicinal plant traditionally used by the population. The study of the *Salvia officinalis* species focused on a phytochemical screening aimed at characterizing the different families of chemical compounds contained in the aerial part.

The three extracts tested in this study are obtained by maceration using three increasing polarity solvents: chloroform, ethyl acetate and n-butanol. The quantitative estimate of the flavonoids and total polyphenols by the color method showed that the extracts are rich in these compounds. The evaluation of the antioxidant power was carried out using a single method: trapping free radical DPPH

**Key words:** polyphenols, *Salvia officinalis*, antioxidant activity, essential oils.



## المخلص

نبات الميرمية هو نبات طبي ينتمي الى العائلة الشفوية وهذا النوع منتشر في شمال الجزائر ومنطقة البحر الأبيض المتوسط من أجل معرفة الأنشطة البيولوجية للنبته الطبية المستخدمة تقليديا من قبل الإنسان ,حيث يركز عملنا على إجراء تحليل كيميائي لنبته الميرمية بهدف الكشف عن عائلات المركبات الكيميائية المختلفة الموجودة في الجزء الهوائي للنبته ثم الحصول على المستخلصات الثلاث التي تم اختبارها في هذه الدراسة بواسطة تقنية النقع باستخدام ثلاث مذيبات ذات قطبية متزايدة الكلوروفورم ,خلات الإيثيل و البوتانول-1. أظهر التقدير الكمي للفلافونويدات و عديد الفينولات الكلية بواسطة طريقة المعايرة اللونية على أن المستخلصات المدروسة غنية بهذه المركبات. لمعرفة نشاط هذه المستخلصات:

DPPH

كمضادات أكسدة تم إجراء اختبار تثبيط الجدر الحرل

الكلمات المفتاحية: متعدد الفينولات, نبات الميرمية, الزيوت الاساسية, نشاط مضاد الأكسدة



CHAPITRE II  
ETUDE DES MÉTABOLITES  
SECONDAIRES



CHAPITRE III

MÉTHODES ET MATÉRIELS



CHAPITRE IV

RAPPELLE THÉORIQUE



**CHAPITRE V**  
**RÉSULTATS ET**  
**DISCUSSIONS**



CONCLUSION

GÉNÉRALE



# CHAPITRE I

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE