

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Sciences de
la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

**Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'effet antioxydant,
anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des extraits et
des huiles essentielles de la plante *Salvia officinalis L.*
récoltée de la région de Jijel**

Membres du Jury :

Présidente : Dr. BRIHOUM H.
Examinatrice : Dr. LAHOUEL A.
Encadrante : Dr. KEBSA W.

Réalisé par :

- ALIOUANE Hadjer
- CHELLAI Souad

Année Universitaire : 2021 - 2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :



Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dr Kebsa, d'avoir accepté d'être promotrice de ce mémoire. Nous la remercions pour son encadrement de qualité, sa disponibilité, ses orientations et pour les efforts qu'elle avait consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, ce qui nous a permis de mener à terme ce projet.

Nous tenons à remercier les membres du jury, Dr Brihoum et Dr Lahouel pour avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier Dr sebti, Melle samia, MR Makhtar, Melle Salima, Mme Ines, Mme Salma et également toute l'équipe du laboratoire pour leur gentillesse, leur aide, leur disponibilité tout le long de notre travail et surtout pour leur patience et leur conseils.

Nous adressons également nos remerciements à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie et à toute la promotion de master « pharmacologie », année 2021-2022.

De peur d'en avoir oublié, nous souhaitons remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Merci

Sommaire

Remerciements

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 01

Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur *Salvia officinalis* L.

1.1. Définition et Historique	03
1.2. Description botanique	03
1.3. Habitat et répartition géographique	04
1.4. Systématiques de la sauge	05
1.5. Composition chimique de <i>Salvia Officinalis</i> L.	05
1.5.1. Les composés phénoliques de <i>Salvia officinalis</i> L.	05
1.5.2. Les huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.	07
1.6. Principaux usages traditionnelles de <i>Salvia officinalis</i> L.	09
1.6.1. Usages pharmaceutiques	09
1.6.2. Usages cosmétologiques	10
1.6.3. Usages alimentaires	10
1.7. Activités biologiques de <i>Salvia officinalis</i> L.	10

1.7.1. Activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire	10
1.7.2. Activité oestrogénique	11
1.7.3. Activité anti-tumorale	11
1.7.4. Activité hypoglycémiante	12
1.7.5. Activité anti-inflammatoire	12
1.7.6. Activité anti-oxydante	12
1.8. Toxicité de <i>Salvia officinalis</i> L.	13

Chapitre 2. Inflammation

2.1. Définition	14
2.2. Type d'inflammation	14
2.2.1. Inflammation aiguë	14
2.2.2. Inflammation chronique	16
2.3. Mécanisme de la réponse inflammatoire	16
2.4. Les anti-inflammatoires	17
2.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	17
2.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes)	18
2.4.3. Anti-inflammatoires naturels	18
2.5. Inflammation et stress oxydant	19

Chapitre 3. Ulcère gastroduodéal

3.1. Définition	20
3.2. Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique	21
3.3. Mécanismes physiologiques de défense contre l'ulcère	23
3.4. Traitement de l'ulcère	23

Matériel et méthodes

1. Etude phyto-chimique de <i>Salvia officinalis L.</i>	25
1.1. Récolte et identification de la plante	25
1.2. Séchage, broyage et conservation de la plante	25
1.3. Préparation de l'extrait méthanolique de la plante	25
1.4. Préparation de l'extrait aqueux de la plante (Décoction)	27
1.5. Extraction des huiles essentielles de la sauge	27
1.6. Analyse des extraits et des huiles essentielles par GC-MS	28
1.7. Dosage des polyphénols totaux	28
1.8. Dosage des flavonoïdes totaux	29
1.9. Dosage des tannins hydrolysables	29
1.10. Dosage des tannins condensés	29
2. Etude de l'Activité anti-oxydante de <i>Salvia officinalis L.</i>	30
2.1. Etude des propriétés anti-radicalaires par le test au DPPH°	30
2.2. Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	31
2.3. Test ABTS°+	31
2.4. Test FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)	32
2.5. Test de piégeage des radicaux d'hydroxyles (OH°)	32
3. Etude de l'activité anti-inflammatoire de <i>Salvia officinalis L.</i>	33
3.1. <i>In vitro</i> : Test de dénaturation des protéines (BSA)	33
3.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	33
4. Evaluation de l'effet gastro-protecteur de <i>Salvia officinalis L.</i>	35
4.1. Entretien et traitement des animaux	35
4.2. Mesure des paramètres gastriques	36
4.2.1. Etude macroscopique et détermination de l'indice d'ulcère	36

4.2.2. Mesure de la production de mucus gastrique	36
4.3. Dosages tissulaires	36
4.3.1. Préparation de la fraction cytosolique	36
4.3.2. Dosage des protéines	36
4.3.3. Dosage du glutathion (GSH)	37
4.3.4. Dosage du malone-dialdéhyde (MDA)	37
4.3.5. Mesure de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)	38
4.3.6. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	38
4.3.7. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathione peroxydase (GPx)	39
4.3.8. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathione-S-transférase (GST)	39
4.4. Etude histologique	40
4.5. Analyse statistique	40

Résultats et discussion

1. Etude phyto-chimique de <i>Salvia officinalis</i> L.	42
1.1. Rendement d'extraction de <i>Salvia officinalis</i> L.	42
1.2. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, tannins hydrolysables et tannins condensés ...	43
1.3. Composition chimique de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L. par CG-MS.....	46
2. Activité anti-oxydante des extraits et des huiles essentielles	48
2.1. Effet anti-radicalaire contre le radical libre DPPH°.....	48
2.2. Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	50
2.3. Activité anti-radicalaire contre le radical cation ABTS ^{o+}	52
2.4. Détermination du pouvoir réducteur (FRAP)	54
2.5. Pouvoir réducteur de radical libre OH°.....	55

3. Activité anti-inflammatoire de <i>Salvia officinalis</i> L.	57
3.1. <i>In vitro</i> : test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA)	57
3.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> de <i>Salvia officinalis</i> L.....	59
4. Evaluation de l'effet antiulcérogène de <i>Salvia officinalis</i> L.	63
4.1. Etude macroscopique	63
4.2. Paramètres gastriques.....	64
4.2.1. Indice d'ulcère et pourcentage de protection	64
4.2.2. Productions de mucus	65
4.3. Evaluation du stress oxydant gastro-intestinal	66
4.3.1. Le glutathion GSH	66
4.3.2. Le malondialdéhyde (MDA)	68
4.3.3. La superoxyde dismutase SOD	69
4.3.4. La catalase	71
4.3.5. La glutathion peroxydase GPx	72
4.3.6. La glutathion S-transférase (GST)	74
4.4. Etude histologique microscopique	75
Conclusion et perspectives	79
Références bibliographiques	82

Annexes

Résumé

Liste des figures

N°	Désignation	Page
Synthèse bibliographique		
Chapitre 1. Généralités sur <i>Salvia officinalis</i> L.		
01.	a) La plante <i>Salvia officinalis</i> L. b) Les feuilles de sauge c) Les fleurs de sauge d) Les graines de la sauge	04
02.	Structures des principaux flavonoïdes isolés de <i>Salvia officinalis</i> L.	07
03.	Structure des principaux terpènes and terpenoides isolées de <i>Salvia officinalis</i> L.	09
Chapitre 2. Inflammation		
04.	Les Principaux étapes de l'inflammation aigüe	15
05.	Mécanisme d'action simplifié des AINS	18
Chapitre 3. Ulcère gastroduodéal		
06.	Représentation de l'ulcère gastroduodéal	20
07.	Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastroduodénale	20
08.	Réponses physiologiques de l'axe hypothalamo-hypophyso surrénalien aux facteurs de stress	22
Matériel et méthodes		
09.	Localisation de la région El-kennar zone de récolte de la plante <i>Salvia officinalis</i> L. .	25
10.	Séchage, broyage et conservation de la plante <i>Salvia officinalis</i> L.	26

11. Préparation de l'extrait méthanolique de la plante <i>Salvia officinalis</i> L.	26
12. Préparation de l'extrait aqueux de la plante <i>Salvia officinalis</i> L. (Décoction)	27
13. Réaction de test DPPH° (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	30
14. Formation et piégeage du radical ABTS●+ par un antioxydant donneur de H●	32

Résultats et discussion

15. Teneur en polyphénols (mg EAG/g), flavonoïdes (mg EQ /g), tannins hydrolysables et tannins condensé de l'EMSO et l'EASO	44
16. Chromatogramme de l'extrait méthanolique de <i>Salvia officinalis</i> L.	47
17. Chromatogramme des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.	47
18. Pourcentage de réduction du radical libre DPPH° par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations (µg/ml)	49
19. Pourcentage de réduction du H ₂ O ₂ par l'EMSSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différents concentrations	51
20. Pourcentage de réduction du radical libre ABTS ^{o+} par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations	53
21. Pouvoir réducteur de l'EMSO, l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentration (µg/ml)	54
22. Pourcentage de réduction du radical libre OH° par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différents concentrations (µg/ml)	56
23. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines BSA sous l'effet de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et du DCF à différentes concentrations	57
24. Effet de DCF, l'EMSO, l'EASO, l'HESO (50mg/kg) sur le volume de l'œdème induit par la carragénine (1%) chez la souris (mm)	60
25. Pourcentage d'inhibition de l'œdème induite par la carragénine à 1% après traitement par le DCF (50 mg/kg), et en cas de prétraitement par EMSO, EASO, HESO à la dose de 50 mg/kg	61
26. Macroscopie des estomacs des souris. (T) : Témoins traités par le véhicule. (DCF) : Traités par diclofénac seul 150mg/kg. (DCF+Rx) : Prétraités par diclofénac 150 mg/kg +ranitex20 mg/kg à mg/kg. (DCF+EMSO) : Prétraités par EMSO à 50 mg/kg/j. (DCF+HESO) : Prétraités par l'HESO à 50mg/kg	63
27. Production de mucus chez les souris traitées par le diclofénac seul ou en cas de prétraitement par l'EMSO, l'HESO (50mg/kg) ou ranitex (20mg/kg) pendant 3 jours.	66

28.	Variation des taux du MDA cytosolique gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50 mg/kg), HESO (50 mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	68
29.	Variation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le tissu gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	71
30.	Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	73
31.	Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus gastriques (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.	75
32.	Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus gastriques (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.	76
33.	Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus intestinaux (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.	77

Liste des tableaux

N°	Désignation	Page
Synthèse bibliographique		
Chapitre 1. Généralités sur <i>Salvia officinalis L.</i>		
01.	La classification de <i>Salvia officinalis L.</i>	05
02.	Les acides phénoliques de <i>Salvia officinalis L.</i>	06
03.	Les principaux constituants des huiles essentiels de <i>Salvia officinalis L.</i> et leurs quantités	08
Résultats et discussion		
04.	Rendement d'extraction de l'extrait méthanolique (EMSO), aqueux (EASO) et des huiles essentielles (HESO) de <i>Salvia officinalis L.</i>	42
05.	La teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables et condensés des extraits méthanolique et aqueux de <i>Salvia officinalis L.</i>	43
06.	EC50 de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le radical libre DPPH°	49
07.	EC50 de l'EMSO, de l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre l'H ₂ O ₂	51
08.	EC50 de l'EMSO, de l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre l'ABTS ^{o+}	53
09.	EC50 de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le FRAP	54
10.	EC50 de l'EMSO, l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le radical OH°	56

11. Indice d'ulcère et pourcentage de protection chez les souris traités par le diclofénac seul ou en cas de prétraitement par l'EMSO, l'HESO (50mg/kg) ou ranitex (50mg/kg) pendant 3 jours.....	65
12. Variation des taux du GSH gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	67
13. Variation des taux du MDA cytosolique gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50 mg/kg), HESO (50 mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	68
14. Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans le tissu gastrique et intestinal, après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg), et en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) et ranitex (Rx) (20mg/kg)	70
15. Variation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le tissu gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	71
16. Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	73
17. Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg)	74

Liste des abréviations

ABTS⁺	: Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).	GST	: Glutathione-S-Transférase.
AC ASC	: Acide Ascorbique.	HESO	: Huiles Essentielles de <i>Salvia officinalis</i> .
AINS	: Anti-Inflammatoire Non Stéroïdienne.	HP	: <i>Helicobacter Pylori</i> .
BSA	: Albumine Sérique Bovin.	IC50	: Concentration Inhibitrice 50.
CAT	: Catalase.	IL	: Inter-Leukine.
COX	: Cyclo-oxygenase.	IU	: Indice d'Ulcère.
DCF	: Diclofénac.	MDA	: Malone-DiAldéhyde.
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazl.	NF-KB	: Nuclear Factor kappa-B.
EASO	: Extrait Aqueux de <i>Salvia officinalis</i> .	OH	: Radical Hydroxyl.
EMSO	: Extrait Méthanolique de <i>Salvia officinalis</i> .	Rx	: Ranitex.
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène.	SO	: <i>Salvia officinalis</i> .
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power.	SOD	: Super Oxyde Dismutase.
GPx	: Glutathion Péroxydase.	TNF	: Tumor necrosis factor
GSH	: Glutathion.	UG	: Ulcère Gastrique.

Introduction

L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme habituellement bénéfique, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène, réparer les lésions tissulaires et favoriser le retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé. D'un autre côté, l'inflammation accélère la production d'espèces réactive de l'oxygène et diminue les capacités de défenses anti oxydantes, favorisant l'apparition d'un stress oxydant, un facteur important dans le développement des maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, cancer et ulcères (Koechlin-Ramonatxo, 2006; Pinhasov et Kirby, 2022).

La genèse de l'ulcère gastroduodéal est inflammatoire, quelle que soit son étiologie. Bien que, les médicaments les plus couramment utilisés dans le traitement des inflammations sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), ces molécules sont considérées comme facteur de risque important dans le développement de l'ulcère gastrique (Mezdour et *al.*, 2017; Boccellato et *al.*, 2018 ; Talia et *al.*, 2022). Ainsi, il est nécessaire de chercher de nouvelles molécules naturelles à activité antiinflammatoire et antiulcéreuse moins toxiques et plus efficaces par rapport aux médicaments de synthèse.

Les plantes médicinales constituent une source importante de biomolécules présentant des vertus thérapeutiques en comparaison avec les organismes marins, les microorganismes, et les champignons. Elles contiennent une grande diversité de biomolécules non toxiques et très intéressantes pour le développement de médicaments contre diverses cibles pharmacologiques (Amiour et *al.*, 2014 ; Bounihi, 2016 ; Tahir et *al.*, 2021; Asfaw et *al.*, 2022).

Salvia officinalis L. est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiacées (Liang et *al.*, 2020). Cette plante est parmi les plantes aromatiques les plus utilisées dans le monde entier, et en Algérie en particulier (Taïba et *al.*, 2017). Elle a été utilisée pour traiter les troubles digestifs et circulatoires, la bronchite, la toux, l'asthme, l'angine de poitrine, l'inflammation de la bouche et de la gorge, la dépression et la transpiration excessive (Elgayed et *al.*, 2021; Aćimović et *al.*, 2022). Leurs capacités à améliorer la mémoire et à retarder le déclin cognitif lié à l'âge ont été également rapportées (Duraffourd et Lapraz, 2002). *Salvia officinalis* L. est riche en constituants biologiquement actifs qui sont principalement représentés par les composés phénoliques et les l'huile essentielle (Al-Mijalli et *al.*, 2022 ; Bahadoran et *al.*, 2022).

Dans le but de valoriser cette plante, la présente étude s'est concentrée et pour la première fois sur l'évaluation *in vitro* et *in vivo* du potentiel antioxydant, anti-inflammatoire et anti-ulcéreux des extraits méthanoliques et aqueux et des huiles essentielles de la plante *Salvia officinalis* récoltée de Jijel.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur *Salvia officinalis* L.

Ce chapitre est consacré à la plante *Salvia officinalis* L.. Nous allons passer en revue au fur et à mesure sa description, ses différentes propriétés, ses vertus médicinales et ses composantes.

1.1. Définition et Historique

Salvia officinalis L. communément appelée sauge de jardin ou sauge commune, est une herbe aromatique vivace appartenant à la famille des Lamiacées ou Labiacées ; une grande famille à distribution cosmopolite de plantes, d'environ 200 genres, qui sont principalement des plantes aromatiques à huiles essentielles (Frohne et al., 2009 ; Liang et al., 2020).

Historiquement, la sauge est connue sous le nom de « *Salvation Plant* », qui provient de l'ancien mot latin « *salvarem* », qui signifie sauver ou guérir (Jakovljević et al., 2019).

Elle est reconnue depuis l'antiquité comme une herbe culinaire dans le monde occidental, utilisée dans l'aromatisation de viandes, des saucisses et du poisson. Cette herbe est cultivée pour ses huiles essentielles présentes dans les feuilles et les tiges, utilisées dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017; Sharma y et al., 2019; Paje et al., 2022).

L'herbe est souvent employée pour régulariser le cycle menstruel et réduire les bouffées de chaleur à la ménopause. Elle sert à améliorer l'appétit et la digestion (Jakovljević et al., 2019). Elle a été utilisée pour améliorer la cognition et réduire l'hypertension artérielle, la transpiration excessive, les troubles nerveux, la pharyngite et également utilisé comme antiseptique (Hamidpour et al., 2014 ; Lopresti et al., 2017).

Ses effets avaient déjà été observés aussi bien par les Romains que les Égyptiens. Pendant tout le moyen âge, la sauge reste une plante primordiale qui entre dans de très nombreuses préparations. Ce qui est confirmé par le dicton : « qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin de médecin ». Elle reste utilisée dans les pharmacopées modernes (Perry et al., 1996).

1.2. Description botanique

La sauge (Figure 1(a)) est une plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80 cm, rameaux vert-blanchâtre. Les feuilles (Figure 1(b)) sont opposées et simples avec des poils blancs sur la face inférieure des feuilles et verdâtres ou gris verdâtre sur la face supérieure (Jakovljević et al., 2019). Les feuilles de sauge sont dressées sur les bords; elles mesurent 1 à 4 cm de diamètre, 4 à 10 cm de long et sont ovales (Altindal et Altindal, 2016). Si on les frotte, elles dégagent l'odeur caractéristique de la plante. Les fleurs (Figure 1(c)) de couleur

bleu-violacée mesurent 2 à 4 mm de long à partir du pédicelle. Le fruit est un tetrakéne lisse persistant au fond du calice, de couleur brun foncé à noir, chaque akéne de forme globuleuse, à 2 mm de diamètre (Figure1(d)) (khirdidine, 2013; Joubert, 2019).

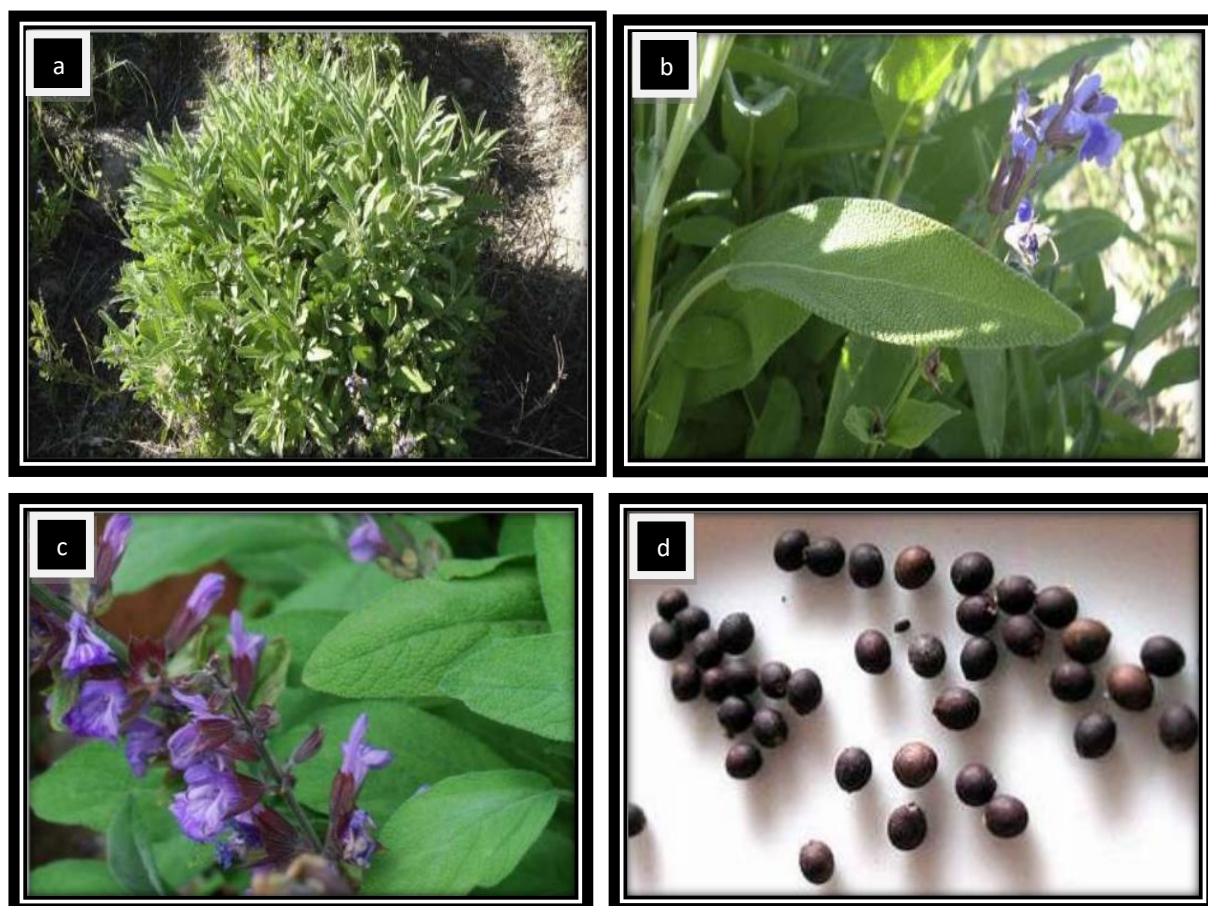


Figure 01. *a) La plante Salvia officinalis L. (Altindal et Altindal, 2016). b) Les feuilles de sauge (Altindal et Altindal, 2016). c) Les fleurs de sauge (Joubert, 2019). d) Les graines de la sauge (Botinreau, 2010).*

1.3. Habitat et répartition géographique

C'est une plante annuelle d'origine méditerranéenne, elle pousse spontanément à l'état sauvage dans différentes aires géographiques (Jedidi et *al.*, 2018). Elle préfère les terrains chauds et calcaires. On la rencontre dans les clairières, les forêts, les broussailles, les pâturages, les steppes, les plaines, les hauts plateaux et les montagnes jusqu'à 2500 m d'altitude.

Elle se caractérise par une aire de répartition très répandue, surtout dans les pays du pourtour méditerranéen tels que Yougoslavie, Bulgarie, France, Italie, Espagne, Turquie, Maroc, Grèce, on la trouve aussi en Amérique du Sud et l'Asie du Sud (Inde) (Jedidi et *al.*, 2018). C'est une plante assez commune en Algérie (Khiredine, 2013).

1.4. Systématiques de la sauge

La sauge officinale, connue par plusieurs noms vernaculaires (Souaq ennebi, Houdbiques es sedr, Salma ; kheyat djouhat), présente la classification suivante selon Lahrech K. (2010) (Tableau 01) :

Tableau 01. Classification de *Salvia officinalis* L. (Lahrech K, 2010).

Règne	Plantae (végétal)
Sous-Règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i> L.

1.5. Composition chimique de *Salvia officinalis* L.

Les principaux composés phytochimiques des fleurs, des feuilles et de la tige de *Salvia officinalis* L. sont bien identifiés. Une large gamme de constituants comprend des alcaloïdes, des glucides, des acides gras, des dérivés glycosidiques, des composés phénoliques (acides phénoliques, coumarines, flavonoïdes, tanins), des polyacétylènes, des stéroïdes, des terpènes/terpénoïdes (monoterpénoïdes, diterpénoïdes, triterpénoïdes, sesquiterpénoïdes) et des cires se trouvent dans. *Salvia officinalis* L.. Elle contient également des saponines, résines, oestrogènes, asparagine, la vitamine K, du fer et des composés organiques (Paje et *al.*, 2022).

1.5.1. Les composés phénoliques de *Salvia officinalis* L.

Salvia officinalis L. est riche en constituants biologiquement actifs qui sont principalement représentés par les composés phénoliques ou polyphénols. Ces composés comprennent une grande variété de molécules qui sont caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils comportent également des molécules avec un seul cycle phénolique, tels que les acides phénoliques et les alcools phénoliques. Les polyphénols sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles à savoir : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes et les coumarines (El-feky et Aboulthana, 2016 ; Ghorbani et Esmailizadeh, 2017 ; Paje et *al.*, 2022).

a. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques possédants au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique. Les acides hydroxybenzoïques dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C6-C1 comme l'acide gallique et l'acide vanilique. Les acides hydroxycinnamiques ont une structure de base de type C6-C3 comme l'acides caféique, férulique, cinapique. Les hydroxyles phénoliques OH de ces dérivés peuvent aussi être méthylés (-O-CH₃) (Ghorbani et Esmailizadeh, 2017). Le tableau 02 représente les différents acides phénoliques de *Salvia officinalis L.*

Tableau 02. Les acides phénoliques de *Salvia officinalis L.* (El-Feky et Aboulthana, 2016 ; Ghorbani et Esmailizadeh, 2017 ; Paje et al., 2022).

Classes	Composés
Les acides phénoliques de <i>Salvia officinalis L.</i>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Acide carnosique ○ Carnosol. ○ Acide rosmarénique. ○ Rosmarenate de méthyle. ○ Acide caféique. ○ Acide cinnamique. ○ Acide chlorogénique. ○ Acide quinique. ○ Acides salvianolique. ○ Acide ferulique. ○ Acide ellagique.

b. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques largement répandus dans les plantes et l'alimentation humaine, tel que les pépins de raisin, les pommes, les baies, le vin rouge, le chocolat, le cacao et autres (Bule et al., 2020). Ils ont la propriété de se lier ou de précipiter des protéines, de l'amidon ou de la gélatine (Alihosseini, 2016). Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions prooxydants (Brunetou, 1999). Les tanins peuvent être divisés en deux catégories : hydrolysables et condensés (Chen et al., 2020). On les trouve à diverses concentrations dans diverses parties de *Salvia officinalis L.*: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Vandi et al., 2016 ; Paje et al., 2022).

c. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une grande classe de métabolites secondaires présents dans toutes les plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C₆-C₃-C₆ et présentent des activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-cancéreuses, (Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).

La structure des principaux flavonoïdes isolés de *Salvia officinalis* L. est montrée dans la figure 02. Selon Rombi et Robert, (2007), la feuille est riche (1-3%) en flavonoïdes : 7-glucosyl-apigénol et 7-glucosyl-lutéolol, 5-méthoxy salvigénine et autres flavones, la plus part méthoxylées en 6 ; des dérivés de l'acide hydroxycinnamique et des acides phénols comme l'acide rosmarinique.

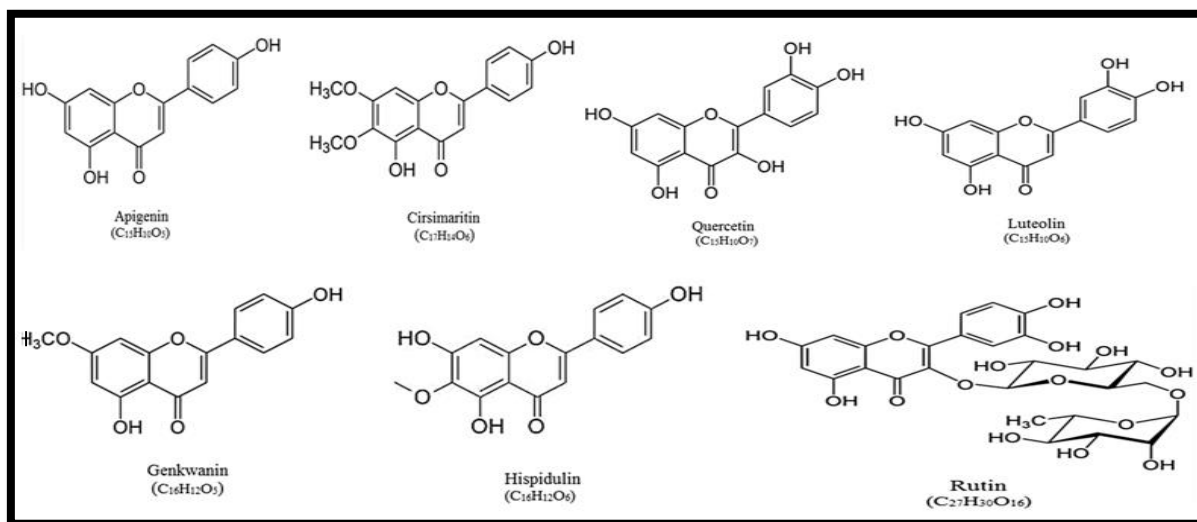


Figure 02. Structures des principaux flavonoïdes isolés de *Salvia officinalis* L. (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017).

1.5.2. Les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Les huiles essentielles sont des substances, odorantes, volatiles, huileuses, de nature hydrophobe totalement solubles dans les alcools, l'éther et les huiles végétales et minérales. Quand'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras et elles sont constituées uniquement de molécules aromatiques volatiles, liquides à la température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau, insolubles dans l'eau, rarement colorées. Il convient de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière car elles sont altérables et sensibles à l'oxydation (Lakhdar, 2015; Bouchekrit, 2018).

Les huiles essentielles peuvent être emmagasinées dans tous les organes mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier) et bien que ce soit moins végétaux : les fleurs, habituel dans des écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal..), les racines, les rhizomes (curcuma, gingembre..), les fruits (toutes épices, anis, badiane...), les graines (muscade...) (Oussala et *al.*, 2006 ; Paje et *al.*, 2022).

La composition chimique des huiles essentielles est très variée. La variation de la composition d'une même espèce se fait en fonction du climat, de l'origine géographique, du mode de culture, saison et mode de la récolte, de la partie de la plante utilisée, du matériel et des techniques employées pour l'extraction, etc (Duraffourd et Lapraz, 2002).

Parmi les innombrables substances présentes dans les huiles essentielles, on peut compter les carbures saturés ; les alcools ; les phénols ; les aldéhydes ; les cétones ; les esters.

Selon Wolter (2007), les principaux constituants des huiles essentiels de *Salvia officinalis L.* et leurs quantités sont présentés dans le tableau 03 ci-dessous :

Tableau 03. Les principaux constituants des huiles essentiels de *Salvia officinalis L.* et leurs quantités (%) (Wolter, 2007).

Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
Hydrocarbures terpéniques		Cétones	
Myrcène	0.3 à 3%	Camphre	4.1 à 27.5%
Limonène	trace à 7.6%	α -thujone	18.83%
Humulène	trace à 18.9%	β -thujone	4.46%
α -pinène	1.7 à 13.1%	Ester	
β -pinène	0.5 à 17.9%	Acétate de bornyl	0.1 à 3.5%
β -caryophyllène	3.30%	Alcools	
Camphène	1.1 à 10.3%	Linalol	trace à 1.8%
p-cymène	trace à 1.1%	Bornéol	0.7 à 6.2%
Autres		Viridiflorol	0 à 9.9%
1,8- cinéole	0.7 à 20.8%		

Selon Paje et *al.* (2022), plus de 120 composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle préparée à partir des parties aériennes de *Salvia officinalis L.* Les principaux composants de l'huile comprennent le bornéol, le camphre, le caryophyllène, le cinéole, élémène, humulène, lédène, pinène et thuyone (Paje et *al.*, 2022).

La structure des principaux terpènes/terpénoïdes isolé de *Salvia officinalis L.* est montrée dans la figure 03. Les terpènes et leurs dérivés sont formés d'unités isopréniques (unités penta carbonnées ramifiées). Pour cette gamme de composés, seules les molécules de poids faible, entre 10 et 20 atomes de carbones, sont présents dans les huiles essentielles. Par conséquent, elles peuvent plus facilement pénétrer notre peau et ainsi provoquer des allergies et des inflammations (Cazzola et Doublet, 2015).

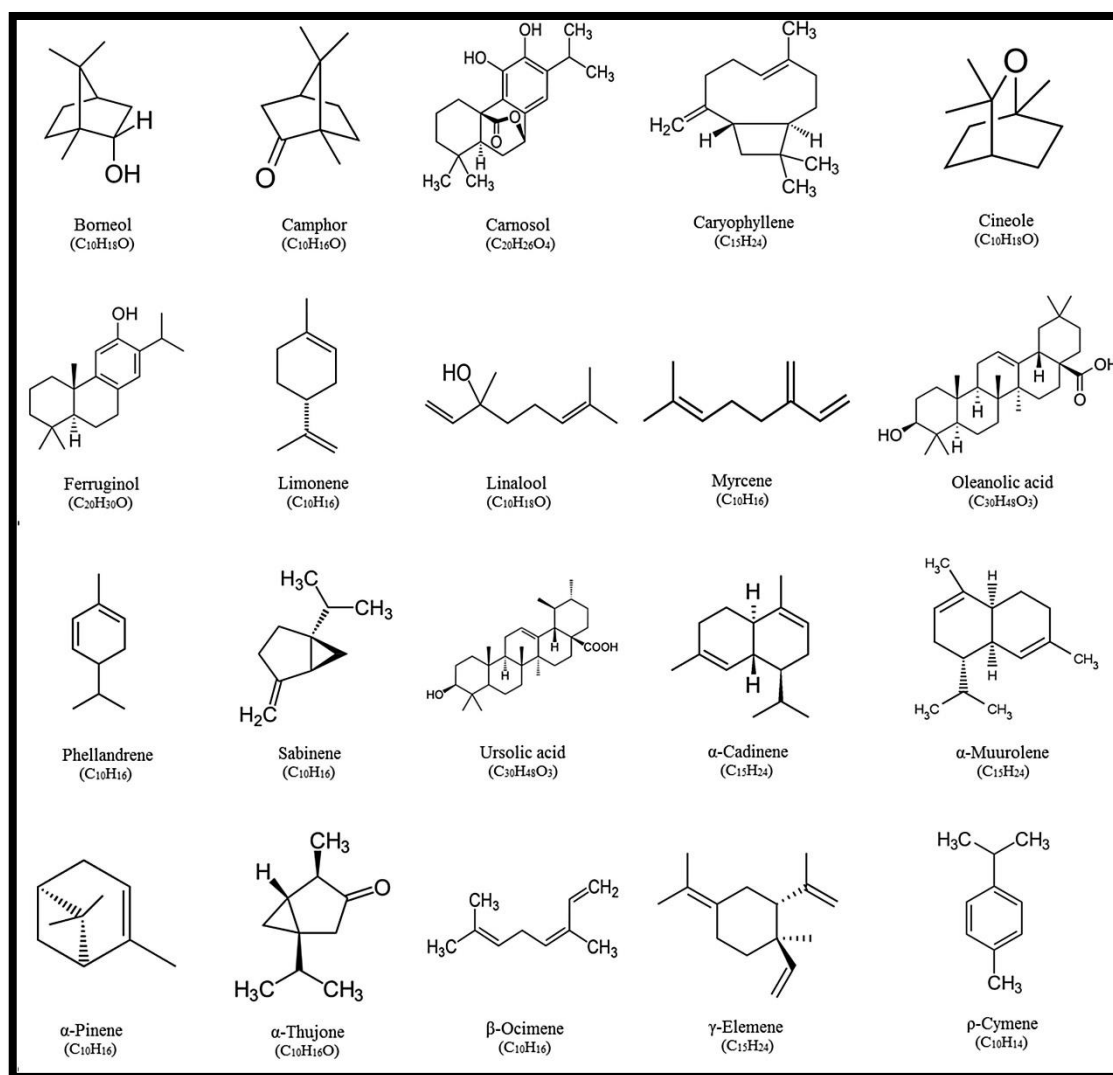


Figure 03. Structure des principaux terpènes and terpenoides isolées de *Salvia officinalis* L. (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017).

1.6. Principaux usages traditionnelles de *Salvia officinalis* L.

La sauge officinale est riche en huiles essentielles, vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées.

1.6.1. Usages pharmaceutiques

La sauge a été principalement utilisée pour traiter l'infertilité chez les anciens Egyptiens et plus tard elle a été utilisée pour traiter presque tous les types de maladies, y compris la peste (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017; Hassan et al., 2019). Elle a été utilisée pour traiter les troubles digestifs et circulatoires, la bronchite, la toux, l'asthme, l'angine de poitrine, l'inflammation de la bouche et de la gorge, la dépression et la transpiration excessive. Leurs capacités à améliorer la mémoire, à stimuler les sens et à retarder le déclin cognitif lié à l'âge ont été également signalés (Lopresti, 2017; Paje et al., 2022).

1.6.2. Usages cosmétologiques

Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *Salvia officinalis* L. et *S. lavandula* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge est utilisée comme compresse ou infusion dans les préparations des masques de visage (Radulescu et al., 2004).

1.6.3. Usages alimentaires

Les parties aériennes de l'arbuste *Salvia officinalis* L. ont été largement utilisé comme épice dans la cuisine méditerranéenne, sous forme sèche ou d'huile essentielle (Abu-Darwish et al., 2013 ; Ghorbani et Esmailizadeh, 2017). La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydant élevée (Paje et al., 2022).

1.7. Activités biologiques de *Salvia officinalis* L.

1.7.1. Activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire

Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens très puissants. Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. L'huile essentielle de sauge inhibe la croissance de certaines bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Ces résultats sont d'autant plus intéressants, que certaines de ces souches peuvent être pathogènes chez l'homme et présentent des résistances aux antibiotiques classiques (Ben Kheder, 2017).

L'huile essentielle et l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis* L. montrent de forts effets bactéricides et bactériostatiques contre les deux types de bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Parmi les Gram-positifs pathogènes montrant une sensibilité élevée à *Salvia officinalis* L., nous avons : *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus epidermidis* (Al-Mijalli et al., 2022).

L'effet antibactérien de *Salvia officinalis* L. dépend du type de l'extrait utilisé. Les effets antimicrobiens de *Salvia officinalis* L. sont attribués aux terpènes et terpénoïdes composants cette plante. Il a été montré que le camphre, la thuyone et le 1,8-cinéole ont des propriétés antibactériennes contre *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *B. megatherium*, *B. subtilis*, *B. cereus* et *Klebsiella oxytoca*.⁷⁵ Aussi, l'acide oléanolique et l'acide ursolique, deux triterpénoïdes de *Salvia officinalis* L., ont action inhibitrice sur la croissance des bactéries multirésistantes (Horiuchi et al., 2007; Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons et les micro-organismes envahissant la denrée alimentaire (Juarez et al., 2016). Les extraits de sauge présentent également des effets antiparasitaires selon plusieurs études (A'cimović et al., 2022 ; Al-Mijalli et al., 2022).

1.7.2. Activité oestrogénique

Salvia officinalis L. présente un effet oestrogénique puissant (Bommer, 2011; Elgayed et al., 2021; A'cimović et al., 2022). L'activité œstrogénique de l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis* L. aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg de poids corporel/orale a été évaluée sur des rats Wistar immatures ovariectomisés. Les résultats ont révélé une augmentation significative du poids de l'utérus des rats traités par l'extrait de sauge par rapport aux rats témoins. De plus, *Salvia officinalis* L. a montré différentes phases du cycle de l'œstrus indiquant une activité œstrogénique et ont considérablement diminué les taux sériques de FSH et de LH. L'extrait éthanolique de *Salvia officinalis* L. pourrait être utiles en tant que source naturelle sûre pour l'activité œstrogénique, soutenant son utilisation traditionnelle pour améliorer les symptômes post-ménopausiques (Sabry et al., 2022).

1.7.3. Activité anti-tumorale

L'activité anti-tumorale de *Salvia officinalis* L. a été étudiée sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses et sur des modèles animaux de cancer. Il a été rapporté que le thé des feuilles de sauge a empêché la phase d'initiation de la carcinogenèse du côlon (Pedro et al., 2016).

Les extraits de cette plante se sont révélés pro-apoptotiques et présentent des effets cytotoxiques très puissants. Ils inhibent la croissance des lignées cellulaires du cancer du sein (MCF-7), adénocarcinome du col de l'utérus (HeLa), cancer colorectal (HCT-116, HT29), carcinome laryngé (Hep-2), carcinome pulmonaire (A549), mélanome (A375, M14, A2058) et carcinome épidermoïde de la cavité buccale (Garcia et al., 2016 ; El Hadri et al., 2010 ; Russo et al., 2013). En plus de l'action antiproliférative, *Salvia officinalis* L. a un effet antimigratoire et antiangiogénique (Keshavarz et al., 2010 ; Bidmeshkipour et al., 2011).

L'extrait de *Salvia officinalis* L. améliore l'expression de TNF- α et la libération de l'oxyde nitrique par les macrophages augmentant ainsi son effet cytotoxique (Kontogianni et al., 2013).

Ces effets peuvent être liés à la présence de plusieurs composés cytotoxiques essentiellement les terpènes et les terpénoïdes et le caryophyllène, il a été démontré que l'a-humulène inhibe la croissance des Cellules MCF-7 et HCT-116 (Kontogianni et al., 2013; Al-Mijalli et al., 2022).

1.7.4. Activité hypoglycémiant

L'étude de Eidi et *al.*, (2005) a montré que l'extrait méthanolique de sauge diminuait significativement le taux de glucose sérique chez les rats diabétiques (mais pas chez le rat sain) au bout de 3h sans aucun effet sur la libération pancréatique d'insuline. Ben Kheder et ses collaborateurs (2018), ont montré l'effet hypoglycémiant de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* sur un modèle murin d'obésité et d'insulino-résistance. Il semblerait que la sauge sensibilise les tissus à l'insuline. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le plus faible dosage de 100 mg/kg/j (Ben Kheder et *al.*, 2018).

Un essai randomisé en double aveugle sur une durée de deux mois, chez des patients diabétiques présentant une hyperlipidémie, a démontré une diminution de la cholestérolémie, de la concentration sérique en HDL, ceci avec un extrait de feuilles à la dose de 500 mg trois fois par jour (Kianbakht, 2014; Al-Mijalli et *al.*, 2022).

1.7.5. Activité anti-inflammatoire

Les études pharmacologiques ont montré que *Salvia officinalis L.* a des propriétés anti-inflammatoires et antinociceptifs (Libérale et *al.*, 2022 ; Margetts et *al.*, 2022). L'activités anti-inflammatoire et antalgiques lors d'un essai randomisé en double aveugle, a montré qu'un collutoire dosé à 15% en extrait de *Salvia officinalis L.* a permis de soulager les symptômes de la pharyngite en 2 heures après son administration, par rapport à un placebo (Hubbert et *al.*, 2006). En usage local, il semble que l'extrait chloroformique soit le plus efficace pour diminuer un œdème sur des modèles murins d'inflammation induite par la carragénine. Le composé majoritaire de cet extrait est l'acide urosolique, testé seul, ce principe actif présente une activité anti-inflammatoire deux fois plus forte que l'indométacine, un antiinflammatoire non stéroïdien utilisé comme référence dans cette étude (Baricevic et *al.*, 2001; Al-Mijalli et *al.*, 2022).

1.7.6. Activité anti-oxydante

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de espèces réactives de l'oxygène ERO (Toure, 2015 ; Al-Mijalli et *al.*, 2022).

Le stress oxydatif joue un rôle important dans l'initiation et la progression de plusieurs maladies, telles que le cancer, les troubles cardiovasculaires, diabète et maladies neurologiques. Les antioxydants naturels protègent les cellules contre la surproduction de ERO et peut donc contrer les lésions tissulaires induites par le stress (Bendif, 2017; Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).

Plusieurs recherches pharmacologiques ont prouvé l'activité antioxydante des extraits de *Salvia officinalis* L. (Kozics et al., 2013; Hadjila, 2016 ; Bahadoran et al., 2022 ; Jedidi et al., 2022). L'étude de Hadjila (2016), a montré que les extraits des feuilles et des tiges de *Salvia officinalis* L. sont doués d'un pouvoir anti-radicalaire très puissant contre les radicaux libres DPPH° et ABTS^{o+}. La supplémentation de l'eau potable des rats avec l'extrait de *Salvia officinalis* L. augmente la résistance des hépatocytes au stress oxydatif. Il les protège contre les dommages à l'ADN induits par le peroxyde d'hydrogène par élévation de l'activité de la glutathion peroxydase (Kozics et al., 2013). L'antioxydant le plus efficace des constituants de *Salvia officinalis* L. sont le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide carnosique, suivi de l'acide caféique, du rosmanol, du rosmadial. L'effet d'antiradicalaire du carnosol est comparable à celui de l'a-tocophérol. Le piégeage du superoxyde de l'acide rosmarinique est 15 à 20 fois supérieure que celui du trolox (Cuvelier et al., 1996).

1.8. Toxicité de *Salvia officinalis* L.

Généralement, il n'y a pas de rapports sur les effets secondaires associés à *Salvia officinalis* L. malgré leur utilisation pendant longtemps. L'utilisation de la sauge est très sûre; cependant il pourrait y avoir une toxicité en cas d'utilisation excessive, suite aux quantités élevées de la thuyone (Hamidpour et Shahlari, 2014). L'ingestion prolongée de fortes doses d'huile essentielle, conduit à des convulsions de type épileptique. L'activité convulsivante est d'origine centrale et les manifestations convulsives apparaissent dès la dose de 0.5g/kg de poids corporel en intrapéritonéale (IP). La toxicité est principalement liée aux cétones monoterpéniques : thuyones et camphre (Rombi et Robert, 2015).

Chapitre 2. Inflammation

2.1. Définition

L'inflammation est un mécanisme de défense de l'organisme contre les agressions d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse. Elle est indispensable à son intégrité caractérisée par une perte de fonction avec de la douleur, de la chaleur, des rougeurs et un gonflement (Taofiq *et al.*, 2016 ; John *et al.*, 2021). La douleur due aux effets directs des médiateurs et de l'étirement des nerfs sensoriels dû à l'œdème, l'œdème résultant d'un passage accru de liquide des vaisseaux sanguins dilatés, la chaleur causée par l'augmentation du mouvement du sang à travers les vaisseaux et la rougeur causée la vasodilatation et l'hyperémie ou rougeur (Tortora et Derrickson, 2018).

L'objectif principal de l'inflammation est de détruire l'agent nocif et / ou de minimiser ses effets néfastes en limitant sa propagation (Foe *et al.*, 2016). L'inflammation intervient une série complexe de cascade de réactions comprenant l'activation d'enzymes, la libération de médiateurs chimiques, l'épanchement de fluides, la migration cellulaire, les lésions tissulaires (Thanh *et al.*, 2017).

2.2. Type d'inflammation

Chaque fois que le corps est blessé par des éléments exogènes ou endogènes, celui-ci doit réagir. Il existe généralement deux types d'inflammation : l'inflammation aiguë et chronique selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires (Pahwa *et al.*, 2022).

2.2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réponse adaptative immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. La guérison peut être spontanée ou après un traitement et peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Hannoodie et Nasuruddin, 2020). Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux: œdème, rougeur, douleur et chaleur (Rathinam *et Fitzgerald*, 2016 ; Libérale *et al.*, 2022).

L'inflammation subaiguë est la période entre l'inflammation aiguë et chronique et peut durer de 2 à 6 semaines (Pahwa *et al.*, 2020). Il existe trois phases du processus inflammatoire aigu : phase vasculaire, phase cellulaire et phase de résolution (Figure 04) (Graval, 2010).

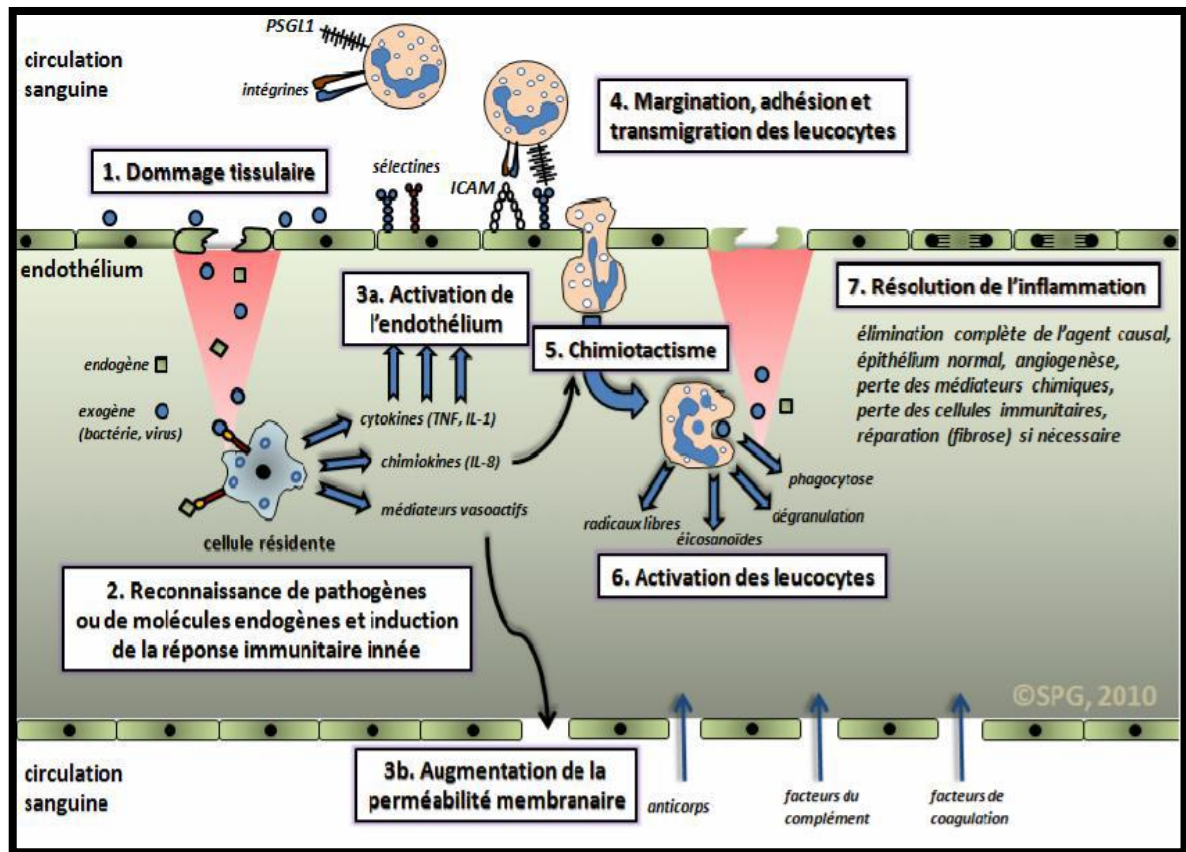


Figure 04. Principale étape de l'inflammation aiguë (Graval, 2010).

a. Phase vasculaire (réaction vasculo-oxydative)

La phase vasculaire de l'inflammation aiguë est un événement dynamique qui implique des changements physiologiques et pathologiques séquentiels. Elle commence par une vasoconstriction de courte durée causée par l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse. Cette douleur s'explique par la libération d'histamine, de sérotonine, des prostaglandines et de kinine. L'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux (Bony, 2010 ; Lidelé et *al.*, 2022).

La vasoconstriction est suivie d'une vasodilatation des vaisseaux, ce qui entraîne une augmentation de la viscosité et de l'élévation de la perméabilité vasculaire, facilitant ainsi l'afflux des cellules dans le foyer inflammatoire. La diapédèse s'ensuit, après l'adhérence des cellules à la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins (Hajjaj, 2017). Cette phase vasculaire est déclenchée par l'action de médiateurs chimiques, caractérisée par la douleur et expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine, de prostaglandine et de kinine (Medzhitov, 2010).

b. Phase cellulaire

Correspond à l'arrivée des leucocytes au foyer inflammatoire. Au début les polynucléaires neutrophiles sont remplacés progressivement par les cellules mononuclées, principalement les macrophages. La libération d'enzymes hydrolytiques, des polynucléaires et le pouvoir phagocytaire des macrophages permettent la destruction de l'agent pathogène (Hajjaj, 2017).

c. Phase de résolution (phase de terminaison)

Il s'agit de l'arrêt du processus inflammatoire lorsque les microorganismes pathogènes et les produits de dégradation, ainsi que les débris cellulaires sont éliminés par les éléments sécrétés par les macrophages. Cela permet la cicatrisation et la régénération tissulaire (Strayer et *al.*, 2015; Lidelé et *al.*, 2022).

Parmi les molécules impliquées dans la résolution de l'inflammation, une famille de médiateurs lipidiques dérivés des acides gras polyinsaturés a été récemment identifiée. Ces médiateurs, appelés lipoxines, protectines, résolvines, marésines possèdent des fonctions clés dans les mécanismes endogènes de contre-régulation de l'inflammation et d'activation de la résolution (Barnig, 2016).

2.2.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est également appelée inflammation lente ou à long terme. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années. Généralement, l'étendue et les effets de l'inflammation chronique varient selon la cause de la blessure et la capacité du corps à réparer et à surmonter les dommages (Pahwa, 2020). Elle correspond à la persistance de l'agent pathogène à cause de l'échec de la réponse inflammatoire aiguë ou d'une réponse inappropriée. Dans l'inflammation chronique, les phénomènes, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation, à la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les tissus ne se régénèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologique s'installe (Hajjaj, 2017).

2.3. Mécanisme de la réponse inflammatoire

La réponse inflammatoire est vitale à la survie de l'homme, notamment pour combattre l'infection et prévenir sa propagation, ainsi que pour promouvoir la réparation des tissus endommagés. La réponse inflammatoire est une activation coordonnée des voies de signalisation qui régulent les niveaux tissulaires des médiateurs inflammatoires et des cellules inflammatoires présentes dans le sang (Chen et *al.*, 2018).

La réponse inflammatoire est caractérisé par les étapes suivantes : 1) reconnaissance du stimulus par les récepteurs de surface membranaire, 2) activation des voies de signalisation inflammatoire, 3) Libération des marqueurs de l'inflammation et 4) recrutement des cellules inflammatoires (Lidelé et *al.*, 2022).

Les stimuli inflammatoires comme les produits microbiens, les cytokines comme l'interleukine-1f3 (IL-1f3), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNFa maintient l'inflammation à travers l'interaction avec leurs récepteurs spécifiques (Mao et *al.*, 2018 ; Patil et *al.*, 2019). Ce qui déclenche des voies de signalisation importantes comme la voie des MAPK (mitogen-activatedprotein kinase), la voie NF-KB (nuclear factor kappa-B) et la Voie JAK-STAT (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription) qui conduisent à la production de médiateurs inflammatoires, et par conséquent un recrutement massif des cellules inflammatoires. Ces dernières participent à la réaction inflammatoire par la libération de différents médiateurs et d'enzymes lysosomales surtout dans le cas d'infection bactérienne (Wei et *al.*, 2021; Liberale et *al.*, 2022).

2.4. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments utilisées pour lutter contre les mécanismes de l'inflammation et qui peuvent réduire la douleur, l'inflammation et dans certains cas la fièvre (Perlemuter et Perlemuter., 2020). Ils se répartissent en deux grandes classes : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

2.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments aux propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. En effet, les AINS agissent tous en inhibant les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX1 et COX2), diminuant ainsi la synthèse des prostaglandines E2 et du thromboxane A2 (Figure 05) (Elhenawy et *al.*, 2019; Perlemuter et Perlemuter, 2020).

Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens, en inhibant la synthèse de prostaglandines qui ont un rôle dans l'agrégation plaquettaire et la protection de l'estomac, sont responsables des événements défavorables, en gênant ainsi l'agrégation plaquettaire et donc la coagulation du sang, ce qui peut prévenir la formation des caillots (thrombose), mais aggrave les hémorragies; en provoquant aussi des problèmes gastro-intestinaux (ulcères), rénaux et d'hypersensibilité (Patil et *al.*, 2019 ; Perlemuter et Perlemuter, 2020).

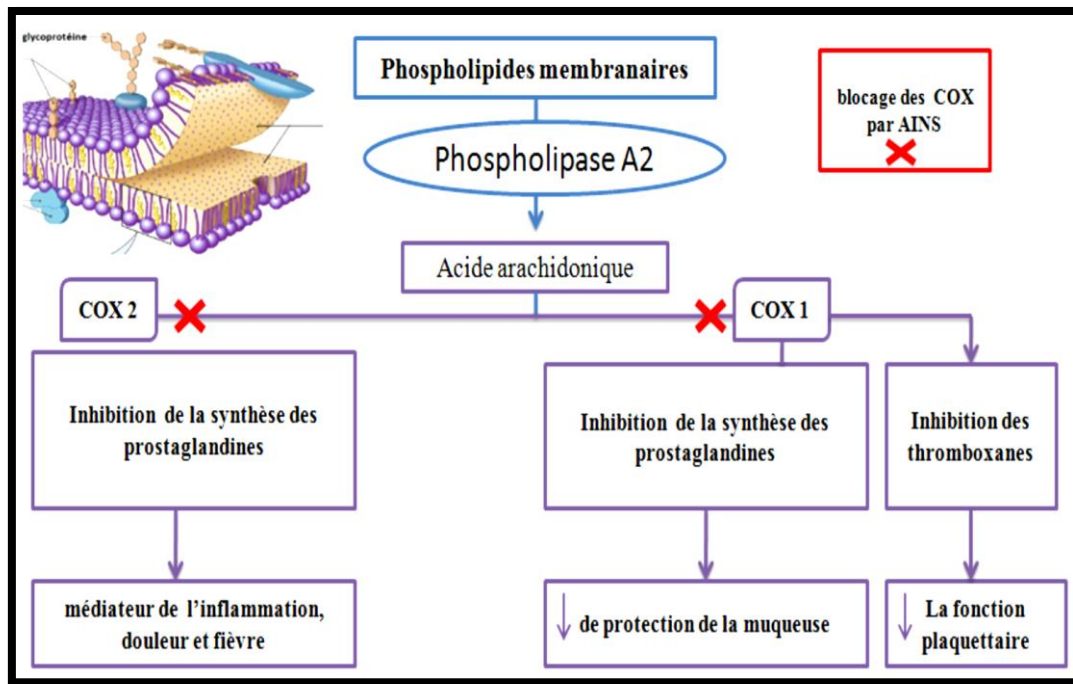


Figure 05. Mécanisme d'action simplifié des AINS (Perlemuet et al., 2011).

2.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes)

Les glucocorticoïdes (GCs) ont des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et immunosuppressive (Belmin et al., 2016). Ils sont très puissants et permettent de contrôler l'inflammation quand elle devient sévère ou qu'elle se déclenche sans raison apparente, comme dans les maladies dites inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, allergies sévères, etc.) (Boulangier, 2017). Les GCs modulent la réponse cytokinique observée au cours de l'inflammation. Cette action est médiée, sur le plan Cellulaire, par l'inhibition de la production et de l'activité des cytokines pro-inflammatoires (IL1, IL2, IL3, IL6, IFN- γ , TNF- α), des chimiokines, des écosanoïdes... (Martin et al., 2017).

2.4.3. Anti-inflammatoires naturels

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les substances naturelles d'origine végétale dotées de propriétés anti-inflammatoires (Bourkhiss et al., 2010). Ces produits naturels sont des alternatives sûres, efficaces, biocompatibles et rentables pour traiter les maladies inflammatoires (Patil et al., 2019). L'effet inhibiteur des produits naturels sur les processus inflammatoires a été largement rapporté. Ces produits naturels comprennent les plantes comestibles (cactus, tomate), les herbes tels que *Potentilla erecta*, les polyphénols (resveratrol, quercitrine), les alcaloïdes (la koumine extraite de *Gelsemium elegans*)... (Latruffe, 2017).

Outre la voie de la COX, de nombreux composés naturels inhibent les voies inflammatoires du facteur nucléaire-KB (NF-KB). Elles peuvent agir à différents niveaux comme la régulation des miARN non codants, la modulation des histones déacetylases et l'inhibition de la COX-2 (Dutartre, 2016; Fang *et al.*, 2016).

2.5. Inflammation et stress oxydant

L'inflammation et le stress oxydatif sont liés aux événements physiopathologiques de nombreuses maladies. D'un côté, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) jouent un rôle important dans les mécanismes de défense cellulaire. Ils peuvent initier des voies de signalisation intracellulaires et favoriser l'expression des gènes pro-inflammatoires. La surproduction de radicaux et de peroxydes altère les mécanismes anti-oxydants endogènes et les piègeurs de radicaux libres qui provoquent la détérioration des structures fonctionnellement pertinentes (Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Pinhasov et Kirby, 2022).

D'une autre part l'inflammation est considérée comme une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées, au cours de la phagocytose. Ces cellules, dont les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages, possèdent des granules à protéases qui dégradent le matériel phagocyté, mais qui vont produire beaucoup d'espèces oxygénées, via le système NADPH-oxydase, enzyme membranaire capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes qui, rapidement se transforme par dismutation en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier peut diffuser dans le milieu extracellulaire, où il est impliqué dans une cascade de réactions chimiques conduisant à la formation d'autres espèces oxygénées très oxydantes, l'oxygène singulet (¹O₂) et le radical hydroxyle (OH[°]) (Barton, 2008 ; Rohleder, 2019).

L'inflammation accélère la production d'espèces oxygénées et diminue la capacité de défense antioxydante, favorisant l'apparition d'un stress oxydant, un facteur important dans le développement des maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, cancer et ulcères gastroduodénaux (Koechlin-Ramonatxo, 2006; Pinhasov et Kirby, 2022). On sait que plusieurs phénotypes de maladies gastrointestinales, telles que l'ulcère gastro-duodéal et la gastroparésie, sont liés au dysfonctionnement des propriétés antioxydantes (Mezdour *et al.*, 2017).

Chapitre 3. Ulcère gastroduodéal

3.1. Définition

L'ulcère, qu'il soit gastrique ou duodéal, est une perte de substance plus ou moins étendue de la paroi digestive qui atteint la couche musculaire. Il guérit en laissant une cicatrice. L'ulcère gastroduodéal (UGD), est une lésion nécrotique caractérisée par une perte de substances allant jusqu'à la destruction de la muqueuse et la mise à nue de la musculature d'une part, et d'autre part par une réaction inflammatoire profonde (Figure 06). Il est à différencier des érosions et abrasions (muqueuse) et ulcérations (sous-muqueuse) qui sont plus superficielles et n'atteignent donc pas la musculature (Figure 07). Il s'agit d'une affection chronique qui évolue par poussées, symptomatiques ou non, elle est aussi récidivante (Zeitoun *et al.*, 2014; Liberale *et al.*, 2020).

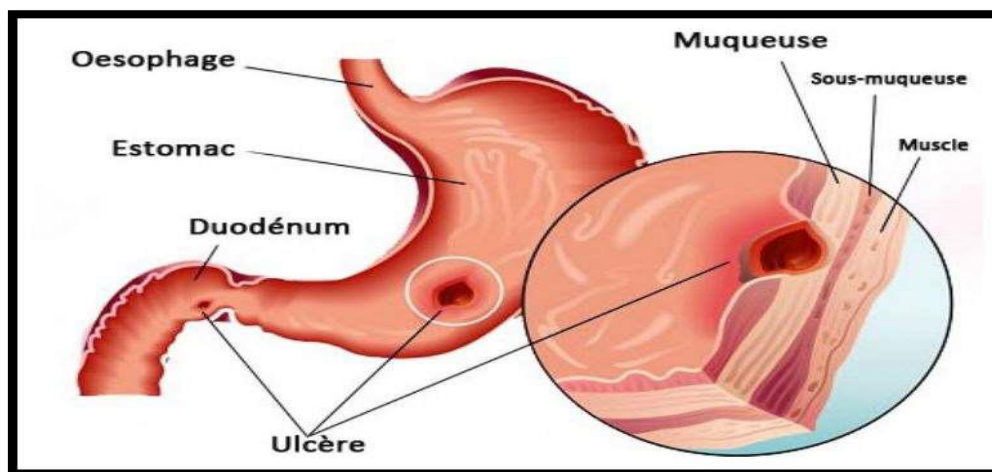


Figure 06. Représentation de l'ulcère gastroduodéal (Lacour et Belon, 2015).

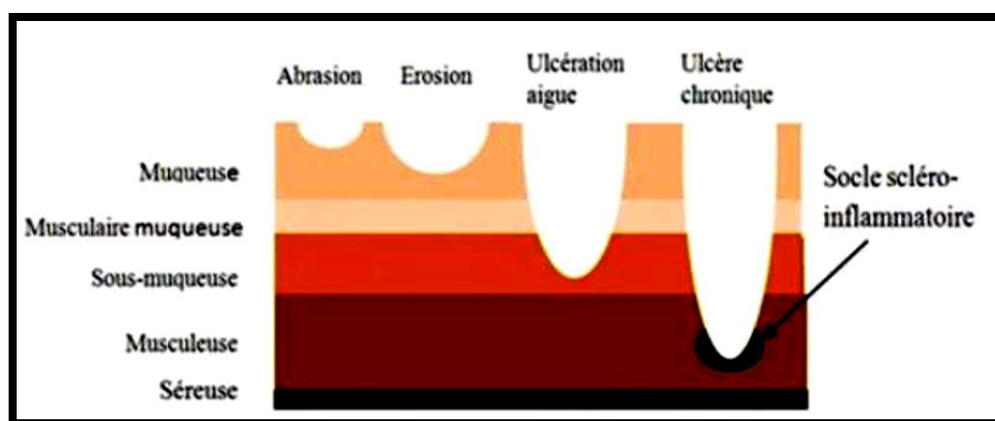


Figure 07. Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastroduodénale (Aziz *et al.*, 2012).

Les ulcères duodénaux sont quatre fois plus fréquents que les ulcères gastriques. De plus, les ulcères duodénaux sont plus fréquents chez les hommes que chez les femmes. La maladie

ulcéreuse gastroduodénale touche presque 10 % de la population mondiale, avec une incidence globale de 3 nouveaux cas pour 100 000 habitants (Talia et *al.*, 2022).

Bien que l'ulcère ne soit pas une maladie mortelle, il peut mener à des complications plus sérieuses comme saignement gastro-intestinale, perforations, sténose du pylore, hémorragie ulcéreuses, douleurs abdominales aiguë, inhibition de la respiration, conduisant à l'ulcère chronique suite à l'exposition de la muqueuse altérée à l'acide chlorhydrique et de la pepsine (Oberdiaca et *al.*, 2010; Woolf et *al.*, 2022).

3.2. Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique

De nombreux facteurs endogènes ; génétiques, neuronaux et hormonaux ont été postulés pour avoir des rôles dans le développement de l'ulcère. L'ulcère gastroduodéal résulte d'un déséquilibre entre l'agression acide et les mécanismes de défense dans la muqueuse (Soreide et *al.*, 2015). La muqueuse gastrique est continuellement exposée également à des facteurs exogènes:

- a. L'infection à *Helicobacter pylori* :** l'*Helicobacter pylori* est une bactérie spirale, bacille à gram négative. Elle a une capacité unique à coloniser de façon persistante l'environnement extrêmement acide de l'estomac ; elle produit l'uréase qui joue un rôle essentiel dans la protection de la bactérie contre l'acidité gastrique. Elle conduit également à la production d'ammoniaque et de bicarbonate qui neutralise le microenvironnement et lui permet ainsi de rester viable en milieu acide (Boccellato et *al.*, 2018). Une infection par *H. pylori* est présente chez 50 à 70 % des personnes ayant des ulcères duodénaux et chez 30 à 50 % des personnes atteintes d'ulcères gastriques. Sa pathogénicité résulte de son pouvoir d'entraîner des lésions de la muqueuse gastrique et duodénale à cause d'une réponse inflammatoire persistante et une dérégulation de la sécrétion des acides gastrique (Talia et *al.*, 2022).
- b. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :** Les AINS comptent parmi les médicaments les plus prescrits dans le monde en raison de leurs remarquables propriétés anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique (Karoui et *al.*, 2014). Cependant, ils sont la cause la plus fréquente d'ulcération. L'utilisation d'AINS est à l'origine de plus de 50 % des ulcères gastroduodénaux. Les AINS inhibent la cyclo-oxygénase (COX1 et COX2) qui est un médiateur principalement impliqué dans la synthèse de prostaglandine (PG) et de la thromboxane (A2). L'aspirine, Ibuprofène, indométacine et le diclofénac sont les AINS les plus utilisés (Perlemuter et *al.*, 2011; Talia et *al.*, 2022).
- c. L'acide chlorhydrique (HCl) :** Cet agent est considéré comme un facteur agressif important dans l'estomac et le duodénum. Le HCl endogène dénature les protéines dans la membrane

plasmique et catalyse les groupements polysaccharidiques des protéoglycanes dans la couche de la muqueuse protectrice recouvrant la surface luminale de l'estomac induisant la fragilité de la muqueuse (Havsteen, 2002).

- d. **L'alcool** : L'alcool est un puissant agent ulcérogène, sa consommation excessive provoque des lésions hémorragiques aiguës, l'exfoliation de l'épithélium, infiltration de cellules inflammatoires et des érosions gastriques (Chen et al., 2015). Les effets de l'alcool sur la muqueuse gastrique sont complexes et multiples. Ils peuvent être associés à une perturbation de l'équilibre entre les facteurs protecteurs et les facteurs agressifs (Mezdour et al., 2017).
- e. **Le stress**: Il a été prouvé que le stress psychologique conduit à un stress oxydant cellulaire. Ce dernier est défini comme un déséquilibre de la balance antioxydant et pro-oxydant en faveur des ERO qui résulte, soit d'une production supplémentaire des ERO, soit d'une diminution des facteurs de défense antioxydants. Le stress oxydant est impliqué dans la pathogénie de l'inflammation gastroduodénale et de l'ulcérogénèse (Suzuki et al., 2009).

Il est bien connu que les espèces réactives à l'oxygène (ERO) sont impliqués dans l'étiopathogénie des lésions ulcéreuses qui peuvent être la cause du développement de troubles organiques gastriques tels que la gastrite, les ulcères gastriques et le cancer gastrique, ainsi que des troubles fonctionnels tels que la dyspepsie fonctionnelle qui entraîne une vagotonie conduisant à la diminution du flux sanguin de la muqueuse gastrique, et à l'augmentation de la sécrétion de pepsinogène et d'acide (Figure 08) (Martins et al., 2014; Mezdour et al., 2017).

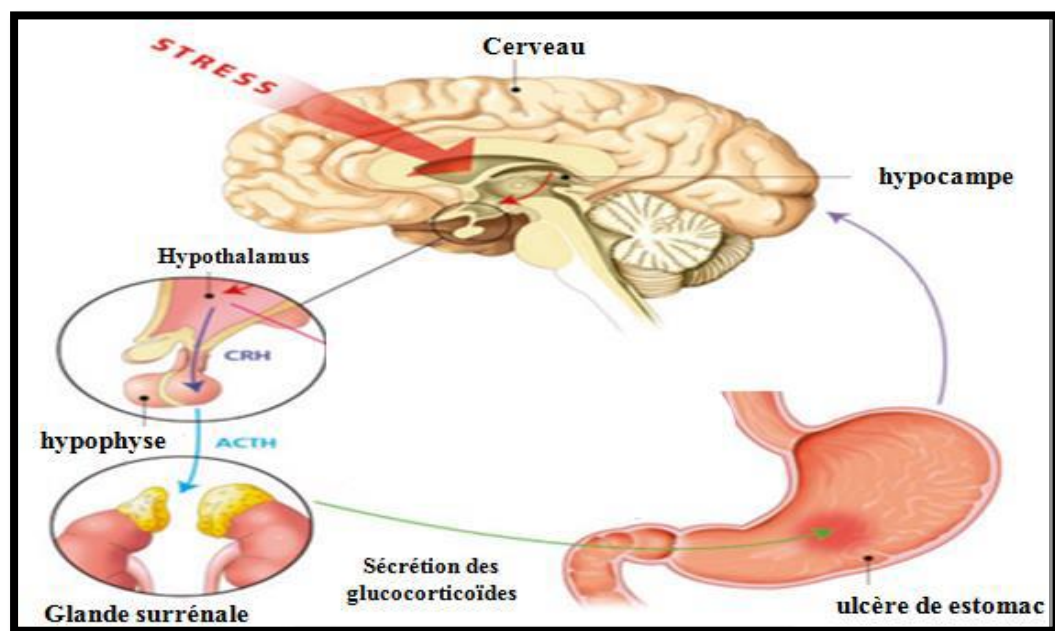


Figure 08. Réponses physiologiques de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien aux facteurs de stress (Suzuki et al., 2009).

3.3. Mécanismes physiologiques de défense contre l'ulcère

Les mécanismes qui participent à la protection de l'estomac sont (Silbernalg et Lang., 2012, Ocasio et al., 2022) :

- a. **Le film muqueux** : Le mucus d'une épaisseur de 0.1 à 0.5 mm est un gel adhérent, formé de glycoprotéines, qui recouvre l'épithélium de surface gastrique et duodénale. Il est capable, dans les conditions normales, de réduire par un facteur 10 la diffusion des ions H^+ .
- b. **Les ions de bicarbonate (HCO^3)** : La sécrétion se fait aussi bien au niveau de la muqueuse gastrique que duodénale. ils vont tamponner les ions H^+ provenant de la lumière de l'estomac.
- c. **Les cellules épithéliales** : peuvent empêcher efficacement la pénétration des ions H^+ ou refouler vers l'extérieur ceux qui sont rentrés.
- d. **Le flux sanguin** : l'irrigation sanguine de la muqueuse est une autre ligne de défense. Le sang emporte rapidement les ions H^+ ou fournit un apport d'ions HCO^3 et des substrats du métabolisme énergétique.
- e. **Les prostaglandines (PG)** : Les prostaglandines inhibent la sécrétion acide gastrique et stimulent les mécanismes de défense.

3.4. Traitement de l'ulcère

Le traitement des ulcères gastroduodénaux impose :

- a. **Les anti-acides** : Les médicaments antiacides les plus couramment utilisés comprennent : les inhibiteurs de la pompe à protons qui agissent directement en bloquant le système de transport impliqué dans la sécrétion des ions H^+ (Nighat et al., 2013), et les antagonistes des récepteurs H_2 de l'histamine (anti- H_2) inhibant la production acide par compétition réversible avec l'histamine pour la liaison aux récepteurs H_2 (Rakesh et al., 2016).
- b. **Éradication de *H. pylori*** : L'éradication de *H. pylori* par une trithérapie adaptée constitue désormais le traitement de choix de la maladie ulcéreuse. Plusieurs essais cliniques ont montré qu'un taux d'éradication de plus de 85 % pouvait être obtenu avec une trithérapie de sept à dix jours associant deux antibiotiques et un anti-sécrétoire. Les antibiotiques utilisés étaient la clarithromycine, l'amoxicilline et les nitro-imidazolés. L'anti sécrétoire utilisé était l'oméprazole (Ocasio et al., 2022).
- c. **La chirurgie** : Dans certains cas, la chirurgie pourra s'avérer être la seule solution ; principalement pour faire face aux complications d'un ulcère gastroduodéal : perforation, obstruction qui ne répond pas au traitement pharmacologique ou qui récidive, ulcère dont l'évolution cancéreuse est suspectée (Woolf et al., 2022).



*Matériel et
Méthodes*

L'étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de Pharmacologie et celui de toxicologie moléculaire, département de biologie moléculaire et cellulaire, faculté des sciences de la nature et de la vie université de Jijel. Elle est consacrée à l'évaluation de l'effet antioxydant, anti-inflammatoire et gastroprotecteur d'extrait et de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. *in vitro* et *in vivo*.

1. Etude phyto-chimique de *Salvia officinalis* L.

1.1. Récolte et identification de la plante

La plante a été récoltée le 17 avril 2022 de la région El-kennar située au nord est de la wilaya de Jijel, coordonnées 36° 49' 27" nord, 5° 57' 44" est (Figure 09). L'identification de la sauge a été réalisée par Dr. Sebti botaniste au département d'écologie à l'université de Jijel.

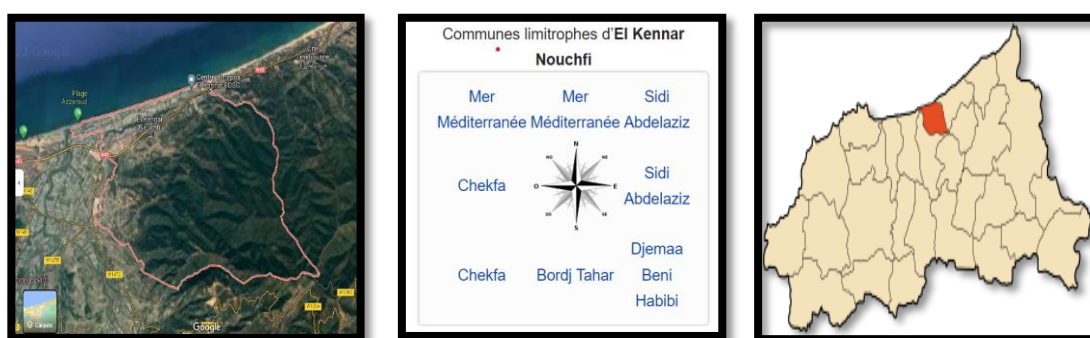


Figure 09. Localisation de la région El-kennar zone de récolte de la plante *Salvia officinalis* L.

1.2. Séchage, broyage et conservation de la plante

Les feuilles de la plante fraîchement récoltée ont été séparées de la tige, rincées, essorées puis étalées dans des plateaux dans un endroit ombragé, sec et aéré pour être séchées. Les feuilles ont été récupérées après 21 jours et conservées dans des bouteilles en verre enveloppé par un papier aluminium. Une quantité de ces feuilles a été moulue et réduite en poudre à l'aide d'un moulin à café juste avant d'entamer l'extraction (Figure 10).

1.3. Préparation de l'extrait méthanolique de la plante

La méthode décrite par Nostro Dib et *al.* (2021), a été utilisée dans la préparation de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *Salvia officinalis* L.. La poudre est soumise à une extraction par macération dans le méthanol 96% à raison de 10% (50g de la poudre de la plante pour 500 ml du solvant) sous agitation continue et à l'abri de la lumière pendant 24h. Après filtration sous papier Wattman N°3, le filtrat est évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif (BUCHI R-300) à 40°C avec une rotation de 95 à 100 rpm (Figure 11). Cette opération a

été effectué 3 fois sur le marc c'est à dire par épuisement. Après évaporation, le résidu sec obtenu appelé extrait méthanolique est pesé pour calculer le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction en (\%)} = (E_1/E_0) \times 100.$$

Avec : **E₁** : masse de l'extrait sec obtenu (g), **E₀** : masse de la prise d'essai de départ (g).

L'extrait méthanolique obtenu a été stockés à +4°C jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 10 . Séchage, broyage et conservation de la plante *Salvia officinalis* L..

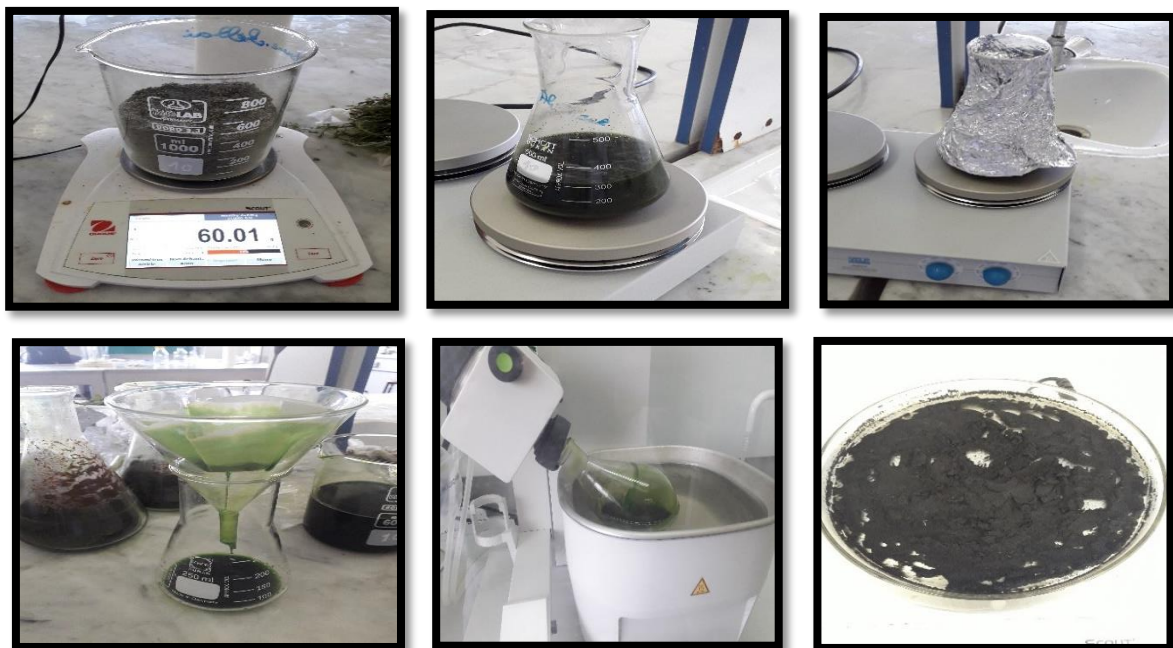


Figure 11. Préparation de l'extrait méthanolique de la plante *Salvia officinalis* L..

1.4. Préparation de l'extrait aqueux de la plante (Décoction)

La préparation de l'extrait aqueux a été réalisée par décoction selon la méthode décrite par (Kandil et *al.*, 1994). Une quantité de 50 g de la plante en poudre a été mélangé avec 500 ml d'eau distillée stérile et bouillis pendant 15 min à 100°C sur une plaque chauffante (Heidolph, MR 3001, Sigma-Aldrich). L'extrait a été ensuite filtré en utilisant du papier filtre Wattman n° 3, le filtrat est évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif (BUCHI R-300) à 40°C avec une rotation de 95 à 100 rpm (Figure 12). Après évaporation, le résidu obtenu appelé extrait aqueux est pesé pour calculer le rendement par la même façon que pour l'extrait méthanolique. Ensuite, l'extrait sec obtenu a été conservé à +4°C jusqu'à utilisation.

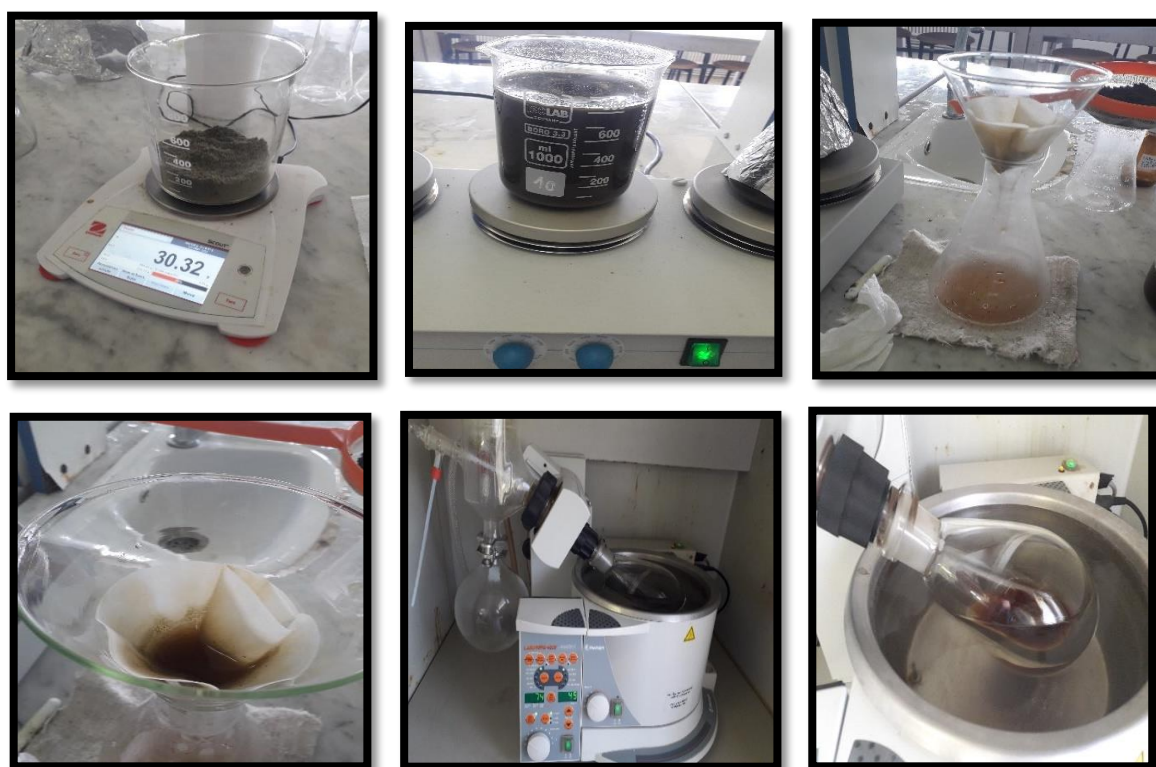


Figure 12. Préparation de l'extrait aqueux de la plante *Salvia officinalis* L. (Décoction).

1.5. Extraction des huiles essentielles de la sauge

Les feuilles de la plante *Salvia officinalis* L. séchées et pesée (100g) ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles. Elles sont soumises à une extraction par hydro-distillation pendant 3 h à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Les huiles essentielles ainsi obtenues ont été pesées pour calculer le rendement puis stockées à 4 °C dans des flacons en verre teintés jusqu'à leur utilisation (Aloui et *al.*, 2016).

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale sèche utilisée (M_s). Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R_{HE} = \frac{m_{HE}}{m_s} \times 100\%$$

1.6. Analyse des extraits et des huiles essentielles par CG-MS

Dans le but d'analyser la composition chimique de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles de la plante, la chromatographie gazeuse (Shimadzu GC-2010) couplée au spectromètre de masse (QP2010) a été effectuée. Pour l'analyse, 2 μ l de l'échantillon a été injecté dans l'injecteur sur une colonne capillaire en verre OV1701 de 25 m. Le gaz vecteur (Helium) a été utilisé à un débit de 1ml/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 250 °C. Le programme de température était de 80°C/120°C/250°C fonctionnant à une énergie d'ionisation de 70 eV et balayant la plage de 50 à 550 m/z. La durée totale de fonctionnement a été achevée en 45 minutes. Le chromatogramme obtenu par chromatographie en phase gazeuse a ensuite été analysé en spectrométrie de masse pour obtenir les masses de toutes les fractions séparées. L'identification des composants a été réalisée par le temps de rétention et la comparaison des spectres de masse de pics inconnus avec ceux stockés dans Wiley 8 et la bibliothèque CG-MS de l'Institut National des Standards et de la Technologie (Nist 05).

1.7. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Singleton et Rossi., (1965) en utilisant le réactif de folin-ciocalteu. L'interaction entre le Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune et les résidus phénoliques des polyphénols conduit à la formation d'un complexe coloré en bleu dont l'intensité de la coloration est proportionnelle avec la concentration des polyphénols dans l'extrait.

Pour le dosage 500 μ l de l'extrait, sont ajouté à 2.25ml d'eau distillée et 250 μ l du réactif de Folin-ciocalteu (5%). Après 5 min de repos, 2ml de Na₂CO₃ (7.5%) ont été additionné, le mélange est ensuite incubé pendant 60min à température ambiante et à l'abri de la lumière. Enfin la densité optique est lue à 760nm en utilisant un Spectrophotomètre UV-Visible (UV-mini 1240, SHIMADZU, China). La teneur en composés phénoliques dans l'extrait a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (0-200 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme du matériel végétal.

1.8. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Dewanto et *al.* (2002). C'est une technique colorimétrique basée sur la formation d'un complexe jaune entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium AlCl₃. Pour ce dosage, 250 µl de l'extrait sont mélangés avec 75 µl de NaNO₂ (5%). Après un repos de 6mn à température ambiante et à l'abri de la lumière, 150 µl d'AlCl₃ (2%) et 500 µl de NaOH (1M) sont ajoutés, le volume est complété par 2,5 ml d'eau distillée, ensuite la DO est lue à 510 nm. La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait, en utilisant une courbe d'étalonnage de la quercétine (0 à 200 µg/ml) préparée dans les mêmes conditions. Tous les dosages sont réalisés 3 fois.

1.9. Dosage des tannins hydrolysables

Le dosage des tannins hydrolysables a été réalisé selon le protocole de Mole et Waterman. 0.2 g de la plante broyée ont été macérés 18 h dans 10 ml de méthanol 80 %, le mélange a été filtré en utilisant un papier Whatman N°1. Ensuite, 1 ml du filtrat a été additionné à 3,5 ml d'une solution de FeCl₃ (0,01 M) préparée dans l'HCl 0.001 M. Après 15 mn, l'absorbance du mélange a été lue à 660 nm. Les tanins hydrolysables ont été exprimés par la formule suivante : **TH (%) = (A x M x V) / E mole x P.**

Avec : **TH** : tanins hydrolysables ; **A** : absorbance ; **E mole** : 2169 de l'acide gallique (constante exprimée en mole) ; **M** : masse molaire de cyanidines = 300 ; **V** : volume de l'extrait utilisé ; **P** : poids de l'échantillon. Les résultats ainsi représentés sous forme de pourcentage (%), sont convertis en gramme par gramme de matière sèche (Mole et Waterman, 1987).

1.10. Dosage des tannins condensés

La quantification des tanins condensés a été faite par la méthode de Swain et Hillis (1959). 0.2 g du matériel végétal broyé ont été macérés 18 h dans 10 ml de méthanol 80 %. Le mélange est filtré en utilisant un papier Whatman N°1. 1 ml de filtrat a été additionné à 2 ml de vanilline (1 % dans l'acide sulfurique 70 %). L'ensemble du mélange a été placé dans un bain marie 15 min à 20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance du mélange est lue à 500 nm.

Les tanins condensés sont exprimés par la formule : **TC (%) = (5.2 x 10⁻² x A x V) / P.** Avec : **TC** : tanins condensés ; **5.2 x 10⁻²** : constante exprimée en équivalent de cyanidines ; **A**: absorbance ; **V** : volume de l'extrait utilisé ; **P** : poids de la plante broyée. Les résultats sont reformulés en milligramme par gramme de la matière sèche.

2. Etude de l'Activité antioxydante de *Salvia officinalis* L.

2.1. Etude des propriétés anti-radicalaires par le test au DPPH°

L'activité anti-radicalaire des extraits méthanolique et aqueux et des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. a été évaluée *in vitro*, par le test du DPPH° (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) comme décrit par Ancerewicz et al., (1998). Le DPPH° est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH° est réduit et change de couleur en virant au jaune (Figure 13). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage de réduction du radical DPPH°, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'extrait.

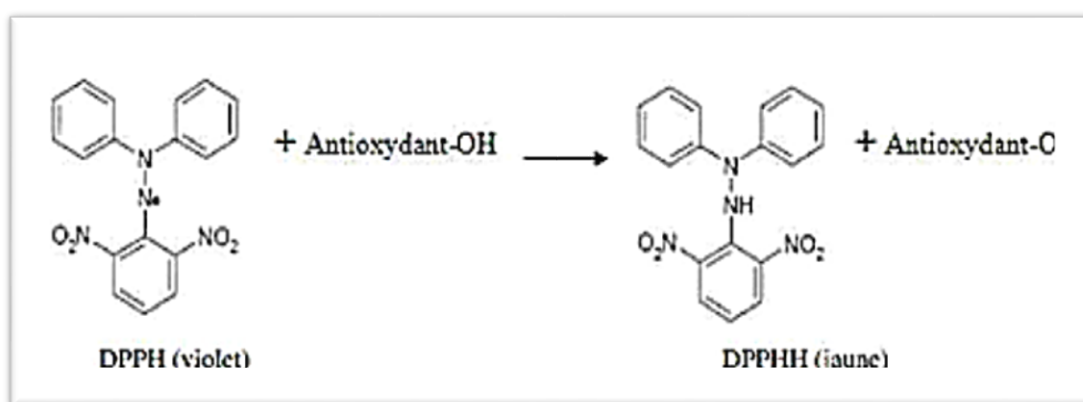


Figure 13. Réaction de test DPPH° (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (Ancerewicz et al., 1998)

Pour cela, 500µl de l'extrait à différentes concentrations (0 à 200µg/ml) ou sont additionné à 1ml de la solution éthanolique du DPPH° (100µM). Après agitation et incubation pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMATZU). L'acide ascorbique est utilisé comme standard aux mêmes concentrations que l'extrait. Tous les dosages ont été réalisés 3 fois.

L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage de réduction du DPPH°, est calculée en utilisant la formule suivante :

$$I (\%) = [(AB - AA) / AB] \times 100$$

Avec : **I** : pourcentage de réduction du DPPH°.

AB : Absorbance du control négatif.

AA : absorbance de l'échantillon. L'activité anti-radicalaire a été exprimée également sous forme d'IC50 (Concentration inhibitrice 50); la concentration nécessaire pour induire une réduction de 50% du radical DPPH.

2.2. Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) a été déterminé par la méthode Ruch et *al.*, (1989). Pour ce dosage, 0.75 ml de l' H₂O₂ (10mM) préparé dans le tampon phosphate (0.1M, pH=7.4) sont ajoutés à 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (0 à 200µg/ml). Après incubation 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMATZU) et ce contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. L'acide ascorbique est utilisé comme standard aux mêmes concentrations utilisées pour les extraits. Le pourcentage de piégeage du H₂O₂ par l'extrait est calculé selon la formule suivante : $H_2O_2 (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$, Avec : **A₀** : absorbance du blanc. **A₁** : absorbance de H₂O₂ en présence de l'extrait. L'activité anti-radicalaire a été exprimée également sous forme d'IC₅₀ (µg/ml) ; la concentration nécessaire pour induire une réduction de 50% du peroxyde d'hydrogène.

2.3. Test ABTS^{•+}

L'activité anti-radicalaire a été également évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) selon la technique décrite par Khan et *al.* (2012). Le principe du test est basé sur la diminution de l'absorbance à 734 nm du cation radicalaire ABTS^{•+} (coloration bleu-vert) en présence d'un composé potentiellement anti-radicalaire qui réduit le radical cation. La diminution de la forme radicalaire d'ABTS^{•+} entraîne une décoloration de la solution (Figure 14).

L'ABTS^{•+} a été dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7 nM. La solution du radical cation ABTS^{•+} a été obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2.45 nM.

La solution ABTS^{•+} a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.700 ± 0.02 à 734 nm avant l'utilisation. Ensuite, 1.5 ml de la solution d'ABTS^{•+} a été mélangé avec 50 µl d'extrait ou de l'acide ascorbique à différentes concentrations (0 à 200 µg/ml). Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé et les résultats exprimés en pourcentage d'Inhibition (PI) et en IC₅₀ comme précédemment décrits pour le test DPPH°.

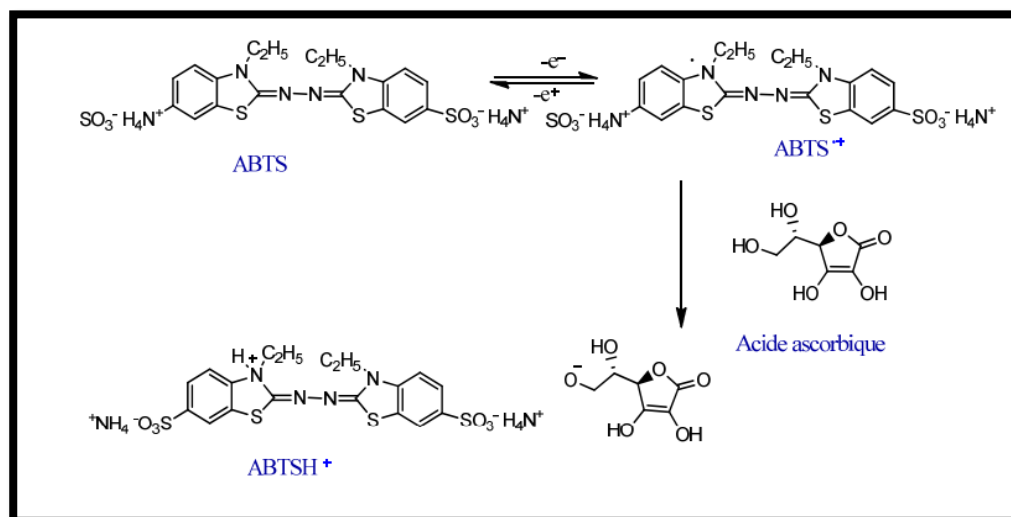


Figure 14. Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H^{\bullet} (Khan et al., 2012).

2.4. Test FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir anti-radicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}).

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode de FRAP (Bassène, 2012). Ainsi, 0,4 ml de l'extrait ou de l'acide ascorbique à différentes concentrations est mélangé avec 1ml de tampon phosphate (0.2M; pH=6.6) et 1ml de $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1%. Après une incubation du mélange à 50°C pendant 30 minutes, 1 ml d'acide trichloracétique 10 % y était ajouté, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. Ensuite, 1 ml du surnageant de chaque tube est mélangé avec 0.2 ml d'une solution de $FeCl_3$ à 0.1% et laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 30minutes avant de mesurer les absorbances à 700 nm. L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formule suivante : $PR = ((Aa-Ab)/Aa)100$; Avec : **Aa** : absorbance de l'extrait, **Ab** : absorbance du blanc.

2.5. Test de piégeage des radicaux d'hydroxyles (OH^{\bullet})

Les radicaux d'hydroxyles sont les plus réactifs, ils peuvent oxyder des acides aminés, produire des coupures de brin d'ADN et des modifications des bases puriques et pyrimidiques. Ils peuvent attaquer les lipides membranaires et les lipoprotéines, initiant ainsi la peroxydation lipidique.

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par Türkan Kutlu (2014) avec quelques modifications. 1ml de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1 ml de FeSO₄ (1.5 mM), 0.7 ml de H₂O₂ (6 mM) et 0.3 ml de salicylate de sodium (20 mM). Après 1 h d'incubation à 37°C, l'absorbance du mélange réactionnel est lue à 562 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. La capacité de piégeage des radicaux hydroxyles a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$I (\%) = [(A1 - A2) / A1] \times 100.$$

Où : **A1** : absorbance du control. **A2** : absorbance de l'essai.

3. Etude de l'activité anti-inflammatoire de *Salvia officinalis* L.

3.1. *In vitro* : Test de dénaturation des protéines (BSA)

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits méthanolique et aqueux et des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Kar et al., 2012). La méthode consiste à préparer le mélange réactionnel contenant 2.5 ml du PBS (pH=6.4), 0,5ml de solution de BSA 5% et 50 µl des extraits à tester à différentes concentrations (12.5µg/ml à 100 µg/ml). Un contrôle a été préparé dans les mêmes conditions par le diclofonac de sodium (antiinflammatoire de référence).

Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 15 min puis ré-incubé à 70 °C pendant 5 min. Après refroidissement, l'absorbance a été lue à 600 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Avec : Ac : Absorbance du contrôle, **At** : Absorbance de l'échantillon (test).

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le Diclofenac sodium.

3.2. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanolique et aqueux et des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L., un modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte des souris induit par la carragénine a été effectué selon la

méthode de Winter et *al.* (1963). Pour cela, 30 souris ont été mises à jeune 12 heures avant l'essai et sont répartis en 5 lots de 5 souris chacun comme suit :

- **Lot 1 (Carragénine)** : Les souris reçoivent 0.1 ml de la carragénine à 1 % (dans le NaCl 0.9%) par injection en sous cutanée sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite et 0.25ml du NaCl (0.9%) 45mn avant injection de la carragénine.
- **Lot 2 (Carragénine + Diclofénac)** : Les souris reçoivent 0.5 ml de diclofénac à 50 mg/kg par gavage gastrique 45min avant l'injection de 0.1 ml la carragénine à 1 % en sous cutanée sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.
- **Lots 3 (Carragénine + EMSO)** : Les souris reçoivent 0.5 ml de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (EMSO) à 50 mg /kg par gavage gastrique 45min avant l'injection sous cutanée de 0.1ml de la carragénine à 1 % sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.
- **Lots 4 (Carragénine + EASO)** : Les souris reçoivent 0.5 ml de l'extrait aqueux (EASO) de *Salvia officinalis L.* à 50 mg /kg par gavage gastrique 45min avant l'injection sous cutanée de 0.1ml de la carragénine à 1 % sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.
- **Lots 5 (Carragénine + HESO)** : Les souris reçoivent 0.5 ml de l'huile essentielle (HESO) *Salvia officinalis L.* à 50 mg/kg 45min avant l'injection sous cutanée de la carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite.

On considère la patte arrière gauche de chaque souris comme témoin. L'œdème causé par la carragénine sera traduit en volume et sera mesuré par le pied à coulisse (*Digital Caliper*), ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire et de comparer cette activité à celle d'un anti-inflammatoire de référence, le diclofénac, et ce chaque heure pendant 4h.

La mesure du pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte arrière droite des souris traitées par rapport au lot traité par la carragénine seule permet d'évaluer l'activité anti-inflammatoire selon la formule suivante :

$$\% \text{ INH} = \frac{\text{VTf} - \text{VTP}}{\text{VTf}} \times 100$$

VTf : le volume de l'œdème chez les souris témoins ayant reçu uniquement la carragénine 1%.

VTP : le volume de l'œdème chez les souris traitées. Le volume de l'œdème VT à un temps t donné est calculé comme suit : **VT = Vt - V0**, **V0** : volume initial de l'œdème. **Vt** : volume du l'œdème au temps t.

4. Evaluation de l'effet gastro-protecteur de *Salvia officinalis L.*

4.1. Entretien et traitement des animaux

L'étude a été menée sur des souris *Wistar albinos* Femelles de poids moyen de 30 g, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, (Algérie). Les souris sont maintenues dans l'animalerie de l'Université de Jijel dans des conditions standards, une température ambiante de 22°C, une humidité relative de 60 % et à un cycle de lumière/obscurité de 14/10 h. Les souris sont placées dans des cages en plastique. Ils ont accès libre à la nourriture et à l'eau.

L'effet antiulcérogène de *Salvia officinalis L.* a été testé sur un modèle murin, l'ulcère expérimentalement induit par le diclofénac, selon le protocole décrit par Saiah et al. (2017).

Les animaux sont répartis en 5 lots de 5 souris chacun :

- **Lot 1 (Témoin)** : Les souris reçoivent quotidiennement (matin et soir) 0.5ml de l'eau distillée par voie orale pendant 3 j.
- **Lot 2 (Diclofénac)** : Les souris reçoivent quotidiennement 0.5ml de l'eau distillée par voie orale pendant 3 j, et 0.5 ml du diclofénac (150mg/kg) par voie orale le quatrième jour.
- **Lot 3 (EMSO + Diclofénac)** : Les souris reçoivent quotidiennement (matin et soir) 0.5ml d'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (EMSO) par voie orale à la dose de (50 mg/kg/j) pendant 3 j et 0.5 ml de diclofénac (150mg /kg) par voie orale le quatrième jour.
- **Lot 4 (HESO + Diclofénac)** : Les souris reçoivent quotidiennement (matin et soir) 0.5ml de huile essentiel de *Salvia officinalis L.* (HESO) par voie orale à la dose de (50 mg/kg/j) pendant 3 j et 0,5 ml de diclofénac (150mg /kg) par voie orale le quatrième jour.
- **Lot 5 (Ranitidine+Diclofénac)** : Les souris reçoivent quotidiennement matin et soir 0.5ml de ranitidine par voie orale à la dose de (20 mg/kg/j) pendant 3 j et 0.5ml du diclofénac (150mg /kg) par voie orale le quatrième jour.

Le sacrifice des souris a été réalisé 4h après l'administration du diclofénac (Saiah et al., (2017), et les estomacs et les intestins de chaque souris sont prélevés pour l'évaluation des paramètres de stress oxydant et l'étude histologique macro-et microscopique.

4.2. Mesure des paramètres gastriques

4.2.1. Etude macroscopique et détermination de l'indice d'ulcère

Les estomacs et les intestins ont été ouverts puis rincés avec de l'eau physiologie pour éliminer le contenu et étalés pour faciliter le comptage des lésions. L'indice d'ulcère (IU) a été déterminé selon (Main et Whittle, 1975) et (Ajaikumar et *al.*, 2005) comme suit :

IU = [1× (Nombre de lésions de garde 1) + 2× (Nombre de lésions de garde 2) + 3× (Nombre de lésions de garde 3)] × 10⁻¹.

% d'inhibition d'ulcère = [(IU du témoin – IU du traité) / (IU du témoin)] × 100.

Les niveaux d'ulcères : 0 = pas d'ulcère, 1= ulcère superficiel, 2= ulcère profond, 3= perforation.

4.2.2. Mesure de la production de mucus gastrique

Nous avons délicatement gratté la muqueuse gastrique de chaque estomac à l'aide d'une lame en verre pour récupérer le mucus. Le poids de mucus a été pris en utilisant une balance électronique de précision (Ngenge et *al.*, 2016).

4.3. Dosages tissulaires

4.3.1. Préparation de la fraction cytosolique

La préparation de la fraction cytosolique a été effectuée selon la méthode décrite par (Sanmugapriya et Venkataraman, 2006). Après avoir rincé les estomacs et les intestins 2 fois dans du NaCl 0.9%, les organes ont été coupés en petits morceaux. Ensuite 1g de chaque tissu a été homogénéisé avec 3 volumes de tampons phosphate (0.15M, pH=7.4) contenant de KCl (1.17%) et 30 µl du Triton pour faciliter le broyage. Le mélange a été broyé à l'aide d'un potter manuel et centrifugé à 2000 rpm pendant 15 mn à 4°C pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu a été ensuite centrifugé à 9600rpm à 4°C pendant 30mn. Le surnageant ainsi obtenu a été conservé à 4°C et a été ensuite utilisé pour réaliser les mesures des paramètres du stress oxydant cytosolique.

4.3.2. Dosage des protéines

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique détectant le changement de couleur du Bleu de Coomassie à 590 nm, après complexation avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des

acides aminés présents dans l'échantillon. Le changement de l'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié donc à la concentration en protéines dans l'échantillon. Pour cela, 1ml de Bleu de Coomassie a été ajouté à 50 µl de l'échantillon dilués au 1/10^{ème}. Ensuite le mélange a été incubé à température ambiante pendant 20 min et la DO a été lue à 590 nm. La concentration des protéines a été déterminée en à l'aide d'une courbe d'étalonnage préparée avec de l'albumine sérique bovin (BSA) aux concentrations (0-1mg/ml) dans les mêmes conditions.

4.3.3. Dosage du glutathion (GSH)

La méthode colorimétrique d'Ellman (1959) a été utilisée pour le dosage du GSH en utilisant le réactif d'Ellman ou DTNB (acide 5,5'- Dinitrobenzoïque).

Le principe de la réaction est basé sur l'oxydation du GSH par le DTNB, ce qui entraîne la libération de l'acide thionitrobenzoïque (TNB) qui présente une absorbance maximale à 412 nm dans un pH alcalin, selon la réaction suivante: $GSH + DTNB \rightarrow GSTNB + TNB$

50µl de la fraction cytosolique sont dilués dans 10ml de tampon phosphate (0.1M, pH= 8). 20µl du DTNB (0,01M) sont ajoutés à 3ml du mélange de dilution. Après 15min d'incubation, la lecture de la DO est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5%).

Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparé dans les mêmes conditions que le dosage, et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par gramme du tissu.

4.3.4. Dosage du malone-dialdéhyde (MDA)

Le malone-dialdéhyde (MDA) est le principal produit la peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par les espèces réactives de l'oxygène. Le dosage de malondialdéhyde (MDA) a été réalisé selon la méthode décrit par Okhawa *et al.* (1979). Le principe de ce dosage est le suivant : le MDA réagit avec deux molécules de TBA (acide thiobarbiturique) dans un milieu acide (pH 2 à 3) et à chaud 100°C pour donner un pigment coloré en rose absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le n- butanol selon la réaction suivante :



Pour réaliser ce dosage, 0.5ml de l'homogénat sont additionnées à 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1ml de l'acide thiobarbiturique (TBA 0.67%). Le mélange est ensuite chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-Butanol. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 3000 rpm et enfin la densité optique est déterminée sur le surnageant à 530 nm en utilisant un spectrophotomètre de type *specord 50 plus*.

Le taux du MDA est exprimé en n moles/mg de protéines et elles sont déduites à partir d'une gamme étalon (Annexe 4) préparée dans les mêmes conditions par utilisation d'une solution du tétra-etoxypropane (TEP) qui donne après leur hydrolyse du MDA.

4.3.5. Mesure de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

L'activité enzymatique de la superoxyde dismutase cytosolique a été déterminée selon la méthode décrit par Marklund et Marklund, (1974). Le principe est basé sur la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol. Pour ce dosage, le milieu réactionnel contient 850µL du tampon tris HCl (50mM, pH=8.2), 16 µL de la fraction cytosolique, 100µL de l'EDTA (10mM) et ensuite 50µL de pyrogallol (2.5 mM dans HCl 10mM). La lecture de la DO est effectuée à 420 nm chaque minute pendant 5 minutes. L'activité enzymatique de la superoxyde dismutase est exprimée en UI/mg de protéines selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition total (\%)} = (\text{DO Blanc} - \text{DO Echantillon} / \text{DO Blanc}) \times 100$$

$$\text{SOD (UI /mg)} = (\text{Inhibition total (\%)} / n) \times 50$$

Avec : **n** : la quantité de protéines (en mg) présente dans le volume de l'échantillon utilisé.

4.3.6. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

La méthode de Clairbone (1985) a été utilisée pour la mesure de l'activité enzymatique de la catalase. Le principe est basé sur la disparition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de la source enzymatique à 25°C. Un mélange constitué de 1ml du tampon phosphate (KH₂PO₄ 0.1M, pH=7.2), 0.950 ml du peroxyde d'hydrogène (0.019M) et 0.025 ml de la source enzymatique est préparé. L'absorbance est mesurée à 240 nm chaque minute pendant 2mn. L'activité enzymatique est exprimée en UI/g de protéine selon la relation suivante :

$$\text{Activité CAT (UI/mg de protéine)} = (2.30333/T * \log A1/A2) / [\text{protéines}].$$

Avec : **T** : intervalle du temps en mn. **A1** : densité optique au temps 0 mn et **A2** : densité optique au temps 1 mn.

4.3.7. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathione peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx. Pour ce dosage, 0.4 ml de GSH (0.1mM) est ajouté à 0.2 ml de l'homogénat, puis nous avons additionné 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH=7.4), après 5 mn d'incubation 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) sont ajoutés pour initier la réaction. Après 120 mn, 1 ml de TCA (1%) est additionné pour l'arrêter. Le mélange est mis dans un bain de glace pendant 30 mn, puis centrifuger durant 10 minutes à 3000 rpm. 2.2 ml de solution tampon TBS sont additionnés à 0.48 ml de surnageant et 0.32 ml de DTNB (1 mM). Après agitation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm. La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GSH-Px } (\mu\text{mol GSH/mg protéine}) = X / [\text{protéine}]$$

$$X = [(\text{DO Echantillon} - \text{DO Blanc}) * 0.04] / \text{DO Blanc}$$

$$X = \text{Quantité de GSH disparue (oxydée)}.$$

4.3.8. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathione-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité enzymatique de la glutathione-S-transférase (GST) a été réalisée par la méthode colorimétrique de Habig et *al.* (1974). L'interaction entre le GSH et le CDNB (1-chlore-2,4-dinitrobenzene) catalysée par la GST, conduit à la formation de dinitrophényle thioether (GS-DNB). Le taux du complexe formé reflète la quantité du GST active présente, qui peut être mesuré par le spectrophotomètre à 340 nm.

Après incubation du mélange réactionnel contenant 1700µl du tampon phosphate (0.1M, pH=6.5) et 100µl du CDNB (20mM), à 37°C pendant 10 min, la réaction est démarrée par l'addition de 100µl de l'homogénat dilué à 1/100 et de 100µl de glutathion (20mM). La densité optique est lue chaque minute pendant 5min à 340nm. Le calcul de l'activité de la GST se fait selon la relation suivante :

$$\text{Enzyme (UI/ml)} = [(\Delta A_{340} / \text{min test} - \Delta A_{340} / \text{min blanc}) / (Vt) (fd)] / [(9.6) (Ve)]$$

$$\text{UI/ mg de protéine} = \text{Enzyme (UI/ml)} / [\text{protéine}] (\text{mg/ml}).$$

Vt : Volume total (en millilitre) de l'essai. **fd** : Facteur de dilution. **Ve** : volume (en millilitre) de l'enzyme utilisée ; **9.6** : coefficient d'extinction millimolaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340nm.

4.4. Etude histologique

Au moment du sacrifice des animaux, un petit fragment d'estomac et des intestins de toutes les souris de chaque lot sont rincé et immédiatement fixé dans le formol 10% pour permettre la conservation morphologique des structures tissulaires et cellulaires. Pour la préparation des coupes histologiques, les Biopsies hépatiques sont préalablement déshydratées par passage dans une série de bains d'alcool de concentration croissante.

L'imprégnation des tissus dans la paraffine a été effectuée grâce à un distributeur automatique de paraffine (Shander Citadel, 2000, *Thermo scientific*, Germany).

Après la réalisation des blocs, des coupes de 5µm d'épaisseur ont été préparé à l'aide du microtome (*Thermo Scientific*). Les coupes ainsi obtenues sont déposées et collées sur des lames en verre. Les coupes sont ensuite déparaffinées au xylène et réhydratées dans des bains d'alcools de concentration décroissantes. Pour permettre la mise en évidence des différentes structures tissulaires et cellulaires, les coupes obtenues sont colorées à l'hématoxyline/éosine ; technique de coloration usuelle associant un colorant nucléaire hématoxyline et un colorant cytoplasmique éosine. Enfin, l'examen au microscope optique permet la visualisation des changements pathologiques des tissus (Farias et *al.*, 2014).

4.5. Analyse statistique

Les résultats numériques et graphiques sont représentés sous forme de moyenne \pm écartype. Nos résultats sont vérifiés par le test de *Student* avec un seuil de signification supérieur à 95% ($p < 0.05$).

($P > 0.5$), effet non significatif ns.

($p < 0.05$), désigne effet significatif * .

($p < 0.01$), désigne effet très significatif **.

($p < 0.001$), désigne effet très hautement significatif ***.



*Résultats et
Discussion*

Cette étude a pour but l'évaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des extraits aqueux et méthanolique et de huile essentielle de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis L.* de la région El-Kennar-Jijel.

1. Etude phyto-chimique de *Salvia officinalis L.*

Les résultats de l'étude phyto-chimique de *Salvia officinalis L.* sont représentés ci-dessous :

1.1. Rendement d'extraction de *Salvia officinalis L.*

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

Après l'extraction, l'extrait méthanolique (EMSO) obtenu est de couleur verte foncée avec une odeur forte caractéristique de la plante. L'extrait aqueux (EASO) présente une couleur marron foncée, avec une couleur jaune clair pour les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* (HESO). Les résultats du rendement d'extraction pour les extraits et les huiles essentielles de la plante sont représentés dans le tableau 04 ci-dessous.

Tableau 04. Rendement d'extraction de l'extrait métanolique (EMSO), aqueux (EASO) et des huiles essentielles (HESO) de *Salvia officinalis L.*

	EMSO	EASO	HESO
Poids de la plante utilisé (g)	60 g	30 g	817.46 g
Poids de la poudre après l'extraction (g) ou le poids des huiles obtenu (g)	15.28 g	4.55 g	6.942 g
Rendement d'extraction (%)	25.46 %	15.16 %	0.84 %

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.*, EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis L.*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*)

À partir de ces résultats nous constatons que, le rendement de l'extrait aqueux de la sauge est faible 15.16 % par rapport au rendement de l'extrait méthanolique qui était important 25.46% par rapport au poids initial de la poudre végétale.

Le rendement de l'EMSO obtenu est supérieur à celui rapporté par Jakovljevic et *al.* (2019), montrant un rendement de 23.41% avec l'extrait métabolique de *Salvia officinalis L.* d'Egypt. Cette différence en rendement est peut-être attribuée à de nombreux facteurs : stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région de récolte, technique et solvant d'extraction, etc (Fellah et *al.*, 2006).

Le rendement des huiles essentielle de la sauge dans notre étude est de 0.84%, il est supérieur à celui des huiles essentielles de SO de Serbia 0.3%, et inférieur à celui des huiles de la Tunisie (1.02%), de la France 1.3% et de la Roumanie 2.0% comme rapporté par Jakovljevic et al. (2019).

L'efficacité de l'extraction par les solvants est influencée par de nombreux facteurs tel que: la nature et le volume du solvant utilisé, le pH du milieu d'extraction, la taille et la forme des particules et aussi la température. Le caractère polaire des composés phénoliques conditionne le choix du solvant. La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation du nombre de groupement hydroxyles (Bonnaille et al., 2012).

Le rendement d'extraction des huiles essentielles varie en fonction de l'origine de la plante, notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique...), la diversité interspécifique; la nature des organes sur lesquelles les huiles ont été extraites, la localité où sont récoltés les échantillons, la température de séchage sont autant des paramètres qui peuvent avoir une influence sur le rendement en huile et également à la période de la récolte de la matière végétale, de cycle végétatif et de la nature de l'organe végétal utilisé dans l'extraction (Rodolfo et al., 2006).

1.2. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, tannins hydrolysables et tannins condensés

La spectrophotométrie permet de quantifier la teneur en composés phénoliques dans les extraits méthanolique et aqueux de *Salvia officinalis* L.. La quantification des polyphénols, flavonoïdes a été faite en se référant aux courbes d'étalonnages réalisées dans les mêmes conditions (Annexe 1 et 2 respectivement). Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables et condensé de l'extrait méthanolique et aqueux de *Salvia officinalis* L. sont représentées dans le tableau 05 et la figure 15.

Tableau 05. La teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables et condensés des extraits méthanolique et aqueux de *Salvia officinalis* L..

	EMSO	EASO
Polyphénols (mg EAG/g)	41.900± 0.014	21.050± 0.022
Flavonoïdes (mg EQ /g)	342.700 ±0.0023	242.725± 0.041
Tanins hydrolysables (mg/g)	0.00149 ± 0.011	0.01252 ± 0.0009
Tanins condensés (mg/g)	36.816± 0.052	25.844± 1.103

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L., EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis* L.)

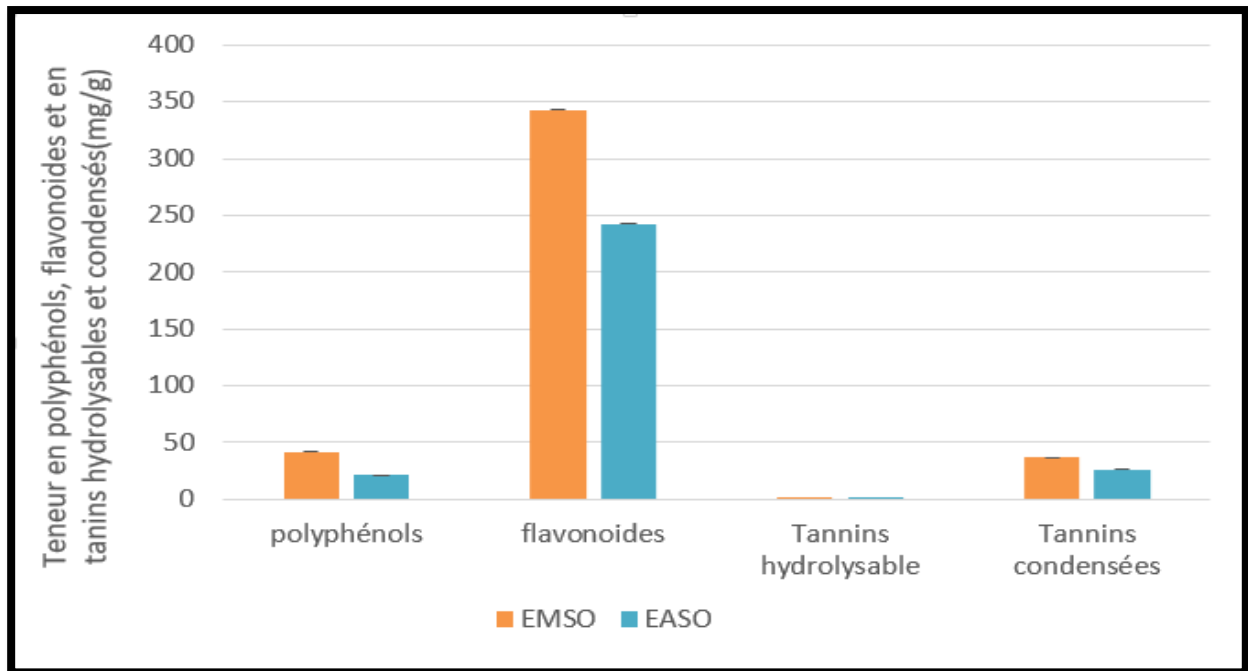


Figure 15. Teneur en polyphénols (mg EAG/g), flavonoïdes (mg EQ /g), tannins hydrolysables et tannins condensés de l'EMSO et l'EASO.

Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanolique et aqueux de *Salvia officinalis L.* sont riches en flavonoïdes (342.700 ± 0.002 mg EQ/g) et (242.725 ± 0.041 mg EQ/g) respectivement. Les taux de polyphénols sont de l'ordre de (41.900 ± 0.014 mg EAG /g) et (21.050 ± 0.022 mg EAG /g) avec l'EMSO et EASO. L'extrait aqueux est riche en polyphénols par rapport à l'extrait méthanolique.

Les taux de polyphénols dans nos extraits sont significativement inférieurs que ceux rapportés par Boufadi et *al.* (2021) avec une teneur en polyphénols d'un extrait méthanolique de 221.08 ± 2.36 mg EAG/g. Dans l'étude d'Abdelkader et *al.* (2014) la quantité des polyphénols est de 31.15 ± 1.056 (mg EAG/100 g), tandis que Laušević et *al.* (2016) a obtenu une quantité de 96.36 (mg EAG/g).

Concernant les taux des flavonoïdes, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenue par Abdelkader et *al.* (2014) qui était de 0.923 mg EQ/g d'extrait méthanolique brut du sud de Tunis. Hamrouni et *al.* (2013) ont montré une valeur de 29.30 mg EQ/g de l'extrait méthanolique brut. En 2016, Laušević et ses collaborateurs ont montré que la teneur en flavonoïdes était de 29.30 mg EQ/g cette teneur est nettement inférieure à la valeur obtenue dans notre extrait méthanolique.

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, à saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau. Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes en ose et en acides phénols. Les tanins condensés (pyrocatechique ou proanthocyanidols) diffèrent des tanins hydrolysables par la structure voisine à celle des flavonoïdes et absence de la partie osidique. Ils sont non hydrolysables, en milieu acide fort et à chaud ils se polymérisent en donnant des précipités insolubles rouges bruns appelés phlobaphènes (Chen et *al.*, 2020).

Les résultats obtenus ont montré que les deux extraits sont très riches en tanins condensés ($36.816 \pm 0.052 \text{ mg/g}$) et ($25.844 \pm 1.103 \text{ mg/g}$) pour les extraits méthanolique et aqueux respectivement. La composition en tanins hydrolysables est relativement faible, les taux sont dans l'ordre ($1.49 \pm 0.011 \mu\text{g/g}$) et ($12.52 \pm 0.0009 \mu\text{g/g}$) respectivement. L'extrait aqueux est 8 fois plus riche que l'extrait méthanolique en tannins hydrolysables cela est due à la polarité du solvant, à la technique d'extraction et au degré de polymérisation des tanins. Les tanins sont difficilement solubles dans l'eau froide mais solubles dans l'eau chaude (solutions colloïdales), ils sont solubles dans l'alcool et l'acétone, insoluble dans les solvants organique apolaires (éther). Leur solubilité varie selon leur degré de polymérisation (Bule et *al.*, 2020).

Il a été rapporté que l'extrait de *Salvia officinalis L.* est riche en tanins. Jedidi et *al.* (2022) ont montré que la teneur en tanins dans l'extrait méthanolique était de ($51.30 \pm 2.57 \text{ mg TAE/g}$). Cette valeur est significativement supérieure de la valeur obtenue dans la présente étude.

Les variations dans la teneur en composés phénoliques en général dépendent du climat, la localisation géographique (Ryan et *al.*, 1999), maturité de la plante, conditions de stockage et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Poyrazoglu et *al.*, 2002). Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins hydrolysables peuvent servir comme indicateurs importants des capacités thérapeutiques des plantes médicinales (Viuda-Martos et *al.*, 2011; Jedidi et *al.*, 2022).

Dans la présente étude, nous avons pu montrer que SO est riche en composés phénoliques, en particulier, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins condensés. Ces molécules sont la principale source de la capacité antioxydante en piégeant les radicaux libres, tels que le radical hydroxyle (OH°), qui est la principale cause de la peroxydation des lipides. Les tanins peuvent se lier à

certaines enzymes productrices de radicaux libres qui forment un complexe tanin-protéine insoluble avec catalyseur ions métalliques inhibant la peroxydation des lipides (Bedwell et al., 1989).

1.3. Composition chimique de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. par CG-MS

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, qui permet la séparation des composés d'un échantillon et de la spectrométrie de masse, pour l'identification et la détection des composés en fonction de leur rapport masse sur charge. Cette technique sert à identifier les diverses composantes dans leur spectre de masse (Arpino, 2015). Chaque composant a un spectre de masse unique, ou quasi unique, que l'on peut comparer avec les bases de données et donc permet d'identifier et de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces dans un mélange (Skoog et al., 2003). Les applications de la CG-MS comprennent le dosage de médicaments ou de stupéfiants, l'analyse des extraits des plants, la médecine légale et l'identification de toutes substances inconnues. La GC-MS est d'ailleurs présentée comme étant la référence absolue des analyses des échantillons biologiques surtout en médecine légale (Skoog et al., 2003).

Les résultats de l'analyse par CG-MS de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L. est représentée dans la figure 16 (chromatogramme) ci-dessous.

Selon la figure 16. 15 composés ont été identifiés dans l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L. dont les principaux composés majoritaires : 2 sesquiterpènes : Cycloheptane, 4-méthylène-1-méthyl-2-(2-méthyl-1-propène-1-yl)-1-vinyl-(24.18%), et cycloheptane, 4-méthylène-1-méthyl-2-(2-méthyl-1-propène-1-yl)-1-vinyl-(14.99%), camphor (14.79%). Il contient également : β -Thujone (8.35%), 3,7,11,15 -Tetraméthyl-2-hexadécane-1-ol (7.4%), - Eucalyptol (7.23%), α -Caryophyllène (6.13%) et β -Caryophyllène (6.09%).

Les composés mineurs étaient Isoborneol (2.64%), Thujone (2.45%), 2-Undécane (1.53%), Cyclopentanol, 1-(méthylène-cyclopropyl)-(0.93%), Patchoulane (0.88%), patchoulane,

Les antioxydants à base de plantes sont extraits des matières premières par les solvants organiques tels que le méthanol, éthanol et même l'eau. Le méthanol est un extracteur efficace

pour une large gamme de polyphénols, donc c'est un solvant fréquemment utilisé à l'échelle de laboratoire et à l'échelle industrielle. Il est facilement accessible et à bon marché (Wang et al., 2004).

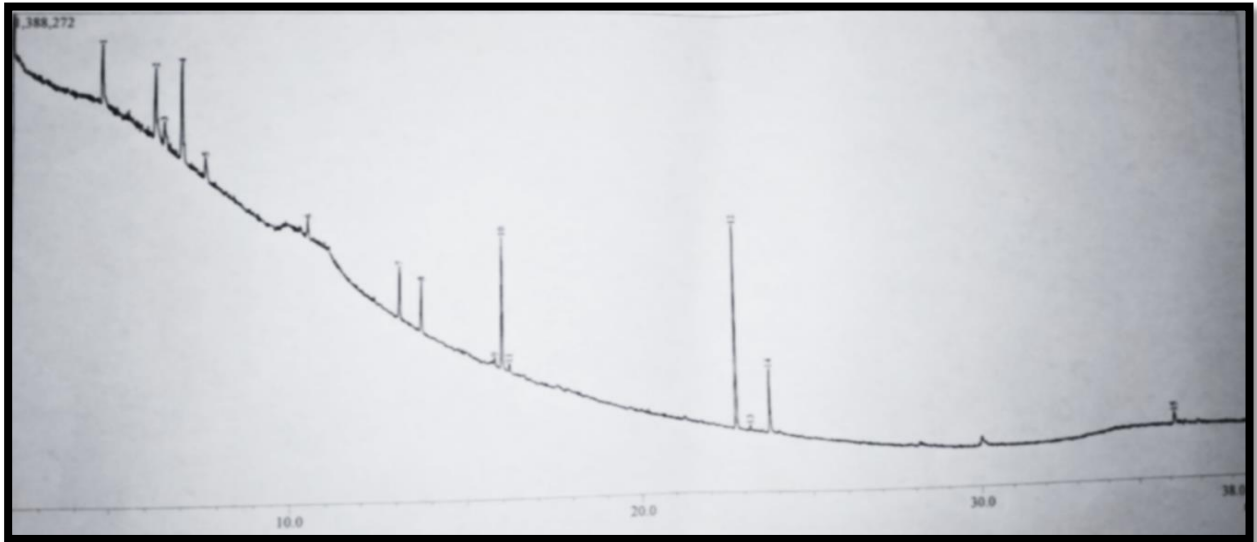


Figure 16. Chromatogramme de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L..

Les résultats de l'analyse par CG-MS des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. est représentée dans la figure 17 (chromatogramme) ci-dessous.



Figure 17. Chromatogramme des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L..

Dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. 35 composés ont été identifiés dont les composés majoritaires : Eucalyptol (41.44%), isoborneol (20.15%), Camphene (8.62%), (-)- β -Pinene (7.84%) d'où le chemotype de cette huiles essentielles.

Les composés mineurs étaient .beta.-Myrcene (4.13%), Borneol (3.07 %), (+)-4-Carene (2.38%), Bornyl acetate (1.70%), Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, acetate (1.56%), .alpha-Phellandrene (1.50%), Thujone (0.99%), Caryophyllene (0.77%), Pinocamphone (0.58%), α -Terpinene (0.37%), Myrtenol (0.24%), .alpha.-Caryophyllene (0.22%), Andrographolide (0.12%), (-)-Myrtenyl acetate (0.09%), 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, Estragole (0.07%).

La composition chimique des huiles essentielles est influencée par de nombreux facteurs : le procédé d'extraction utilisé, période de récolte et cycle végétatif, la partie de la plante utilisée, ... Toutes les étapes de traitement allant de la récolte de la matière première végétale au stockage de l'huile essentielle peuvent également induire des variations dans la concentration des composés ou même l'apparition de nouvelles molécules. Mais la composition d'une huile essentielle dépend avant tout d'une série de facteurs propre à la plante et à son environnement de culture (Duraffourd et Lapraz, 2002).

2. Activité anti-oxydante des extraits et des huiles essentielles

2.1. Effet anti-radicalaire contre le radical libre DPPH°

L'évaluation du pouvoir anti-radicalaire de la sauge à différent concentration repose sur le calcul du pourcentage de réduction du radical libre DPPH°. Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH° ayant une couleur violette en un composé jaune ; dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Talbi et *al.*, 2015).

La figure 18 montre les variations de l'effet de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations contre le radical libre DPPH°. Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons déterminé pour chaque échantillon, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH° ou EC50 à partir des équations de régressions linéaires.

Le tableau 06 montre les valeurs d'EC50 de chaque extrait (méthanolique, aqueux et les huiles essentielles) et l'acide ascorbique.

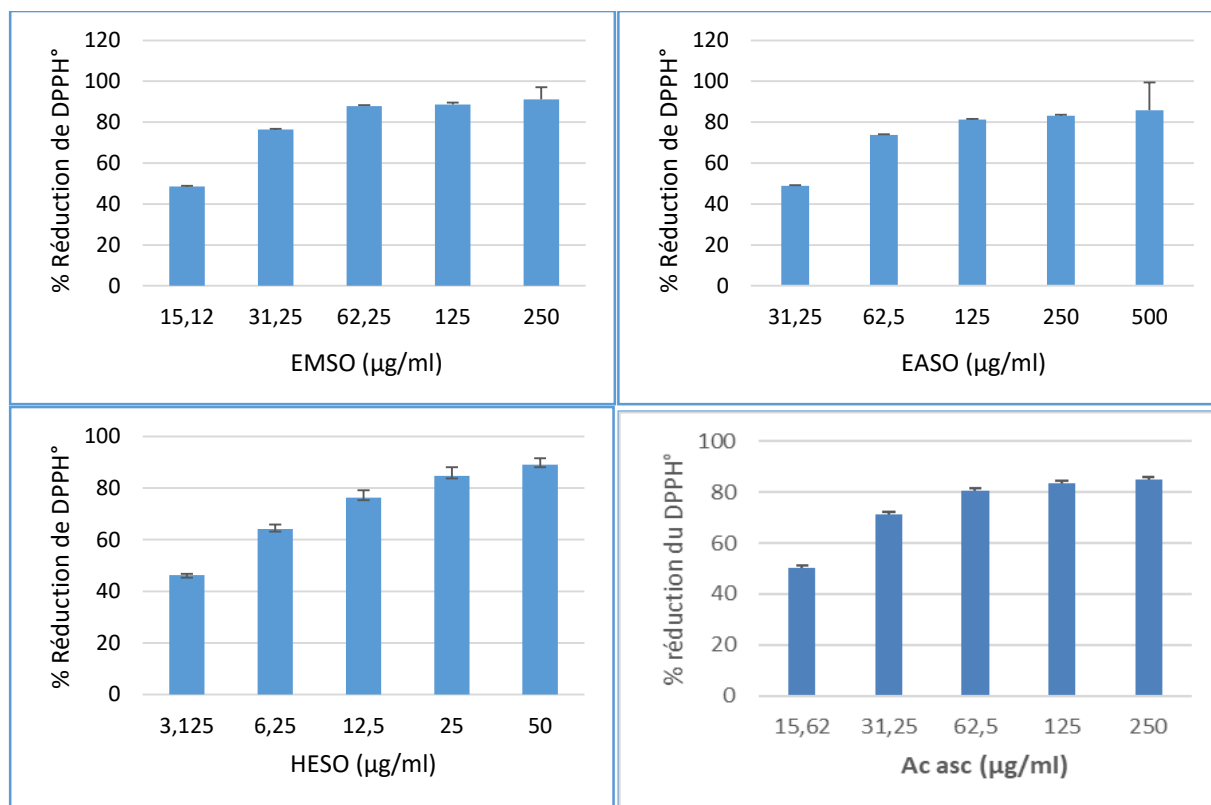


Figure 18. Pourcentage de réduction du radical libre DPPH° par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations (µg/ml).

Tableau 06. EC50 de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le radical libre DPPH°.

DPPH°	EMSO	EASO	HESO	AC ASC
EC50 (µg/ml)	66.87±1.12 **	44.034±2.08 ns	9.1±0.51 ***	45.08±1.02

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*., EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis*) Test de student : (P> 0.5), différence non significative ns. (p< 0.05), différence significative * . (p< 0.01), différence très significative **. (p<0.001), différence très hautement significative ***.

Les résultats obtenus ont révélé que les quatre échantillons possèdent une activité anti-radicalaire très puissante et concentration- dépendante.

À la concentration de 250 µg/ml, les pourcentages de réduction du DPPH° sont de l'ordre de 91.07%, 83.15% et 98.01% avec l'extrait méthanolique, aqueux et l'acide ascorbique respectivement. A 50µg/ml, l'HESO présente un pourcentage de réduction de 89.04%. D'après l'étude de Shamnas et al. (2014), le pourcentage de réduction du DPPH° est de 98.98% avec l'EMSO contre 97.13% obtenu avec l'acide ascorbique et ce à la concentration de 200 µg/mL.

Les EC50 sont de l'ordre de 66.87 µg/ml, 44.034 µg/ml, 9.1 µg/ml µg/ml pour l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et les huiles essentielles respectivement contre 45.08 µg/ml obtenu avec l'acide ascorbique. Ce qui montre que l'effet de l'extrait aqueux est comparable ($P>0.5$) à celle de l'acide ascorbique et l'extrait méthanolique est moins efficace. Alors que l'huile essentielle est 5 fois plus efficace que l'acide ascorbique et l'extrait aqueux, et 7 fois plus efficace que l'extrait méthanolique.

Ces résultats sont comparables à ceux rapportées par Mekhaldi et *al.* (2014) qui montrent que l'efficacité de l'acide ascorbique était supérieure de EMSO et des huiles essentielles de la sauge avec des valeurs d'EC50 (µg/ml) 2.73, 27.53 et 62.65 respectivement. Cependant on assiste à quelques différences en comparant nos résultats avec ceux de Martin et *al.* (2015) qui montrent que tous les extraits de *Salvia officinalis L.* possédaient une bonne efficacité à piéger le radical DPPH° avec des EC50 de 18.3 à 32.97 µg/mL d'extrait hydro-méthanolique et 75.33 µg/ml pour la décoction.

L'étude de Laušević et *al.* (2016) a montré que l'EC50 de l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis L.* était de 16.93 (mg/ml). Cette valeur est supérieure à la nôtre. L'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis L.* est de 86% pour la concentration 100 µg/mL, avec une EC50 de 29.69 µg/mL. L'EC50 étaient 13.5µg/ml pour l'extrait méthanolique de la sauge et 14.9 µg/ml pour l'extrait aqueux. (Lima et *al.*, 2007).

Grzegorzcyk et *al.* (2007) ont montré que les EC50 étaient : comprise entre 18.4 et 81.7 µg/ml pour les extraits méthanolique par contre 61.8 µg/ml pour l'extrait acetonique. Les valeurs EC50 de MESO et d'acide ascorbique se sont avérées être de 85.64 µg/ml et 86.58µg/ml respectivement d'après Shamnas et *al.* (2014).

2.2. Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Les variations de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène des extraits de la sauge officinale, et de l'acide ascorbique à différentes concentrations sont représentées dans la figure 19 ci-dessous.

Les résultats montrent que le pouvoir réducteur du peroxyde d'hydrogène augmentait de façon concentration-dépendante avec les extraits de la sauge et avec la molécule de référence, acide ascorbique.

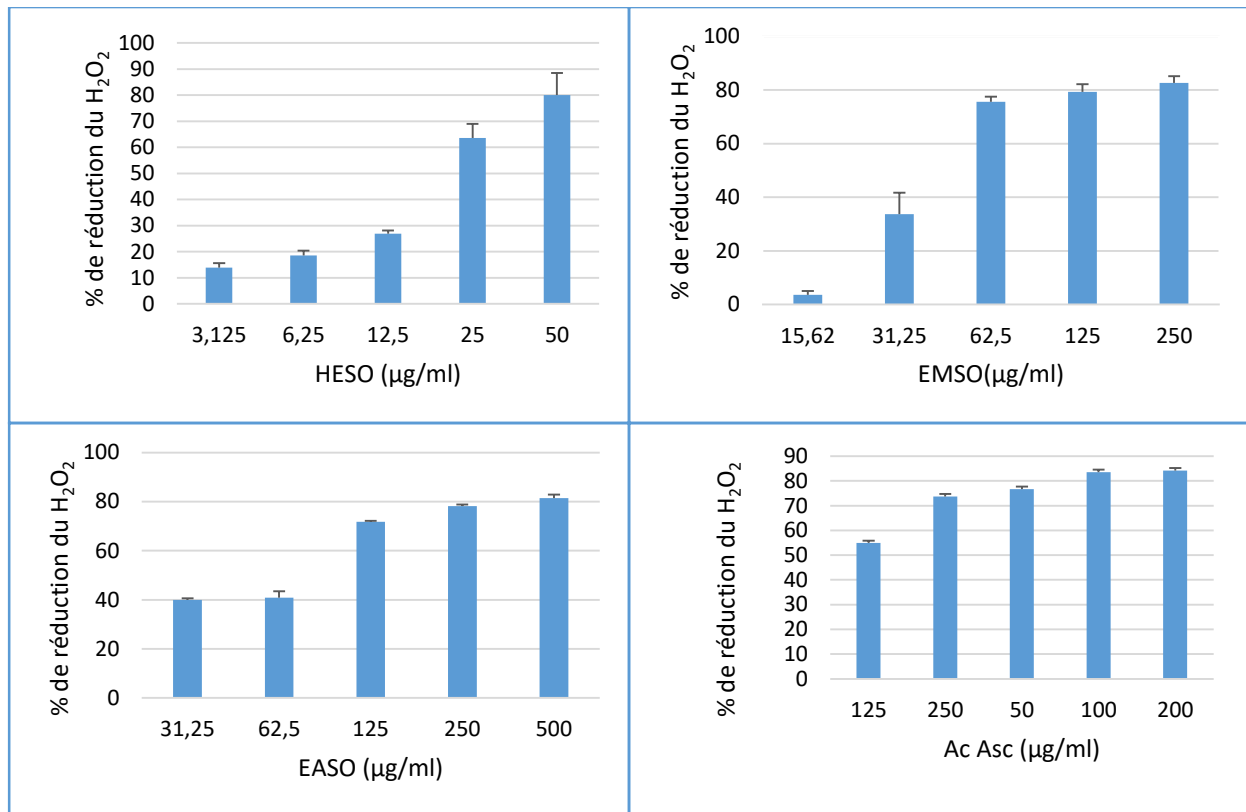


Figure 19. Pourcentage de réduction du H₂O₂ par l'EMSSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations.

Le tableau 07 regroupe les EC50 des extraits de *Salvia officinalis L.* et d'acide ascorbique.

Tableau 07. EC50 de l'EMSO, de l'EASO, l'HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre l'H₂O₂.

H ₂ O ₂	EMSO	EASO	HESO	AC ASC
EC50 (µg/ml)	41,32±0.6 **	63,38±0.52 *	19,64±1.64 ***	110±3.09

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*, EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis*) Test de student : comparaison avec l'acide ascorbique : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative *. ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***.

Salvia officinalis L. montre une bonne activité antioxydante : les pourcentages de réduction sont de l'ordre de 82.62% et 78.11% pour les extraits méthanolique et aqueux à 250µg/ml respectivement. 84.16% avec l'acide ascorbique à 200 µg/ml et 80.02% avec les huiles essentielles à 50 µg/ml.

L'EC50 est inversement liée à la capacité antioxydante des extraits, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50%. Plus-la valeur d'EC50 est basse, plus l'activité antioxydante augmente (Barkat et Laib, 2011 ; Hebi et Eddouks, 2016).

Nos résultats montrent que les extraits de sauge et l'huile essentielle sont plus efficaces que l'acide ascorbique.

Les EC₅₀ de l'extrait méthanolique, extrait aqueux et des huiles essentielles sont 41.32 µg/ml ; 63.38 µg/ml et 19.64 µg/ml respectivement contre (110 µg/ml) obtenue avec l'acide ascorbique. Les extraits présentent des EC₅₀ très significativement inférieurs ($p < 0.01$) à celle de l'acide ascorbique. La diminution d'EC₅₀ de l'HESO est très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Si nous classons nos extraits selon le meilleur effet nous obtiendrons l'ordre suivant : les huiles de *Salvia officinalis L.*, l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et enfin l'acide ascorbique.

D'après Shamnas et al. (2014). L'EMSO a démontré une activité potentielle de piégeage de H₂O₂ par rapport à l'acide ascorbique. Le pourcentage d'activité de piégeage de H₂O₂ à une concentration de 250 µg/mL d'EMSO et d'acide ascorbique a été de 84.19 et 89.95 %, respectivement. Les valeurs EC₅₀ ont été calculées à 114.79 µg/mL et 105.33 µg/mL pour le MESO et l'acide ascorbique respectivement, ce qui confirme nos résultats.

2.3. Activité anti-radicalaire contre le radical cation ABTS^{o+}

L'ABTS est utilisé pour évaluer la capacité anti-oxydante de la sauge. Les résultats de ce test sont présentés dans la figure 20 et les EC₅₀ dans le tableau 08 ci-dessous.

Les résultats montrent que le pourcentage de réduction du radical ABTS^{o+} augmente avec l'augmentation de la concentration d'extraits *Salvia officinalis L.* Les résultats ont révélé que les quatre échantillons possèdent une activité anti-radicalaire concentration- dépendante. Cette activité antioxydante pourrait être, en partie, attribuée à ses niveaux élevés en composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes connus par leur forte activité antioxydante *in vitro* et *in vivo*.

Les EC₅₀ sont de l'ordre de 150 µg/ml, 220.72 µg/ml et 67.97 µg/ml pour l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et les huiles essentielles respectivement contre 97.71 µg/ml obtenu avec l'acide ascorbique. L'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique est similaire à celle de l'acide ascorbique. En comparant les EC₅₀ de l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et les huiles essentielles à celle de l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité anti-radicalaire (antioxydant) des extraits méthanolique et aqueux est inférieure à celle de l'acide ascorbique tandis que celle des huiles essentielles était supérieure.

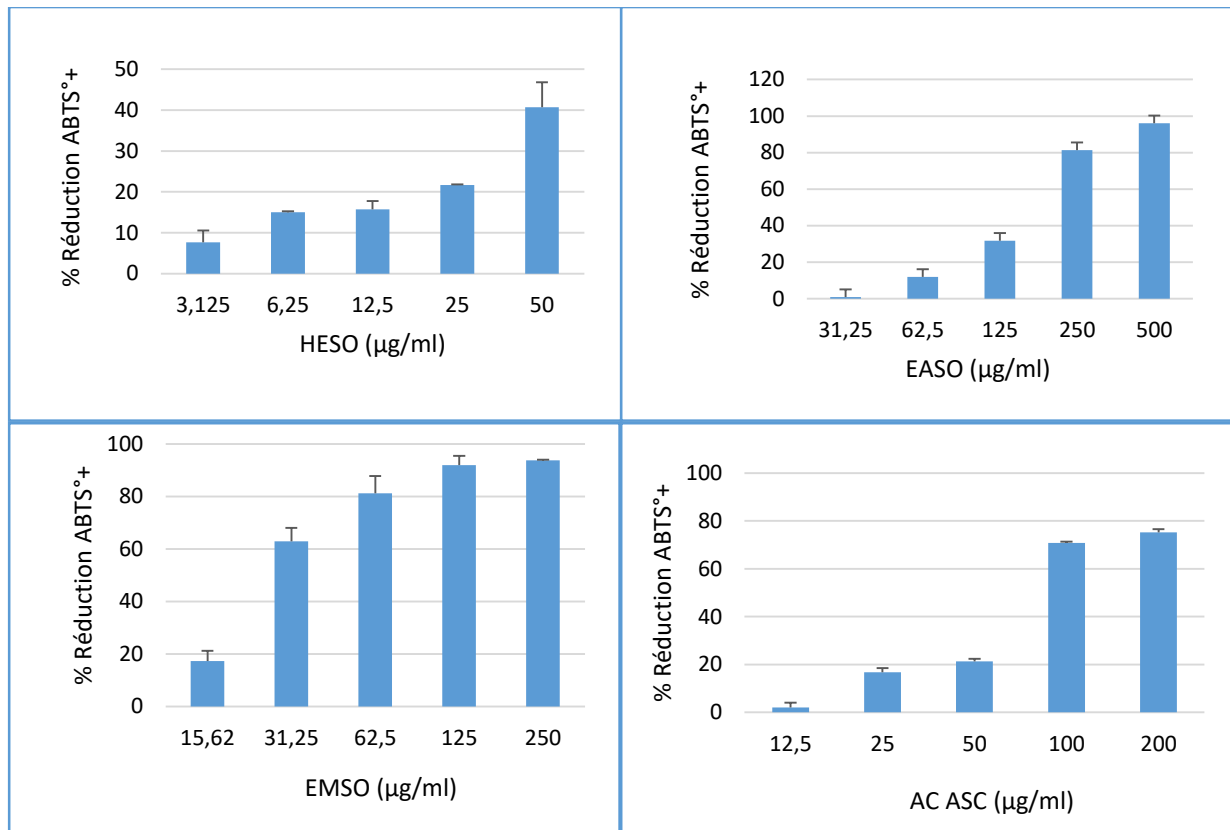


Figure 20. Pourcentage de réduction du radical libre ABTS^{•+} par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentrations.

Tableau 08. EC50 de l'EMSO, de l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre l'ABTS^{•+}.

ABTS ^{•+}	EMSO	EASO	HESO	AC ASC
EC50 (µg/ml)	150±0.3 ***	220.72±1.3 ***	67.97±1.03 *	97.71±0.87

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*, EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis*) Test de student : comparaison avec l'acide ascorbique : (P> 0.5), différence non significative ns. (p< 0.05), différence significative *. (p< 0.01), différence très significative **. (p<0.001), différence très hautement significative ***.

Les HESO est 3 fois plus efficace que l'extrait aqueux, et 2 fois plus par rapport à l'extrait méthanolique. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par (Tundis et al., 2020 ; Jedidi et al., 2021). L'étude Jedidi et al. (2021), suggère que la capacité de piégeage d'ABTS^{•+} de divers extraits sauge est due à sa richesse en composants bioactifs, il existe une corrélation positive entre l'activité antioxydant et les taux de polyphénols et de flavonoïdes.

2.4. Détermination du pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Li et al., 2007). Les résultats des pouvoirs réducteurs de l'EMSO, EASO, HESO et de l'acide ascorbique à différentes concentrations, sont représentés dans la figure 21.

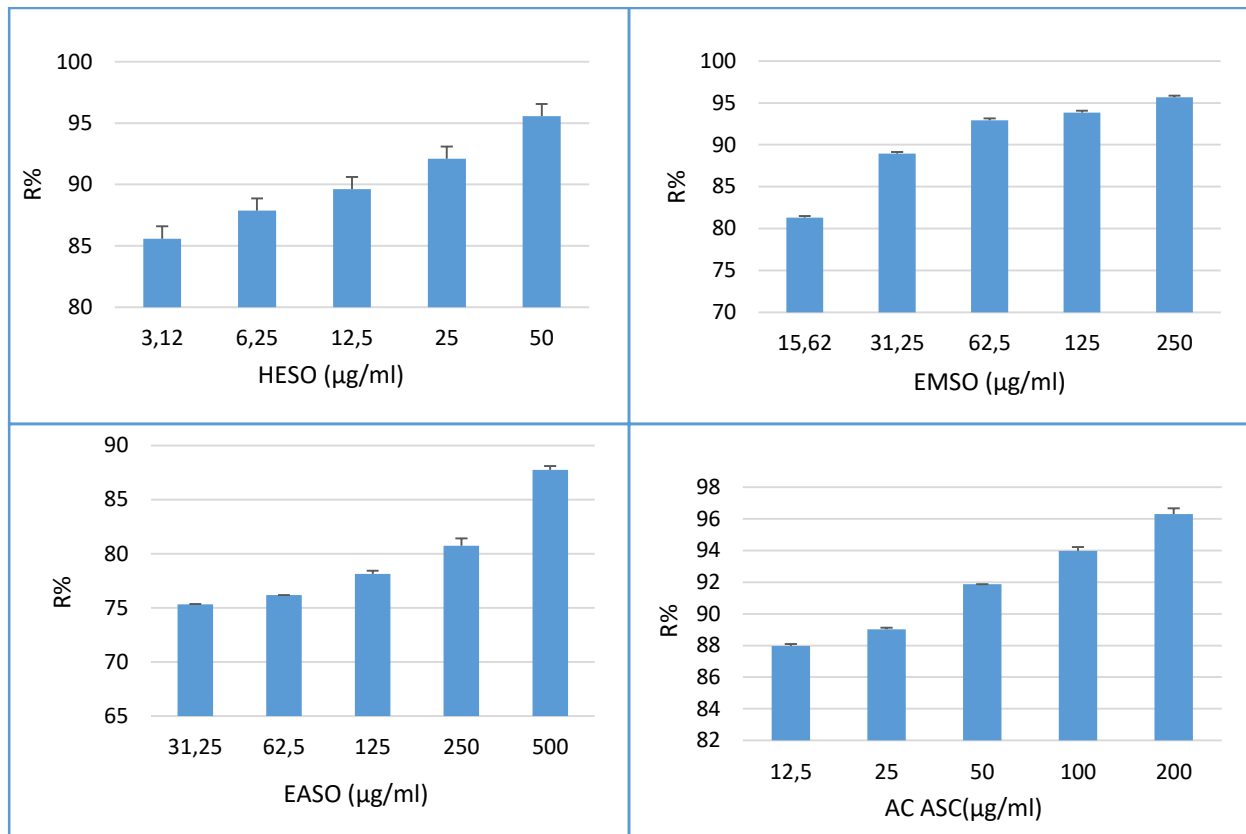


Figure 21. Pouvoir réducteur de l'EMSO, l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) à différentes concentration (µg/ml).

Le tableau 09 représente les EC50 des extraits de *Salvia officinalis* L. et d'acide ascorbique.

Tableau 09. EC50 de l'EMSO, l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le FRAP.

FRAP	EMSO	EASO	HESO	AC ASC
EC50 (µg/ml)	159.1± 3.5 ***	410±1.5 ***	143.49±1.9 ***	44±0.81

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*, EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis*) Test de student : comparaison avec l'acide ascorbique : (P> 0.5), différence non significative ns. (p< 0.05), différence significative * . (p< 0.01), différence très significative ** . (p<0.001), différence très hautement significative ***.

Le pouvoir réducteur est une méthode de mesure de la puissance des substances à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} qui est l'un des mécanismes antioxydants. C'est une technique rapide, facile et reproductible. La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité anti-oxydante potentielle (Li et al., 2007).

Nos extraits présentent un pouvoir réducteur puissant et concentration dépendant. À la dose de $250\mu\text{g/ml}$, le pouvoir réducteur est de 95.96% et 80.72% avec l'EMSO et l'EASO respectivement contre 96.30% obtenu avec l'acide ascorbique à $200\mu\text{g/ml}$. L'HESO présente un pouvoir réducteur de 95.59% à $50\mu\text{g/ml}$. Ce qui montre que l'huile essentielle est plus efficace que les extraits, il est efficace à faibles concentrations.

Les résultats ont montré que les huiles essentielles présentent un important pouvoir réducteur avec une EC_{50} de $143.49\pm 1.9\mu\text{g/ml}$ par rapport aux extraits méthanolique et aqueux qui présentent une capacité de réduction du fer moyenne avec une EC_{50} de $159.1\pm 3.5\mu\text{g/ml}$ et $410\pm 1.5\mu\text{g/ml}$. Contre celle obtenus avec l'acide ascorbique $44\pm 0.81\mu\text{g/ml}$. L'extrait méthanolique est deux fois plus efficace que l'extrait aqueux. L'extrait aqueux est 9 fois moins efficace que l'acide ascorbique.

Nos résultats ont montré que les extraits et l'huiles essentielles de sauge sont moins puissants que celui de l'acide ascorbique. Ceci est justifié par l'augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) des EC_{50} des extraits et de l'huile essentielle par rapport à celle de l'acide ascorbique. Si nous classons nos extraits selon le meilleur effet, nous obtiendrons l'ordre suivant l'acide ascorbique, les huiles essentielles, l'extrait méthanolique, et enfin l'extrait aqueux.

Ce pouvoir réducteur des extraits de sauge pouvait être attribué à la teneur totale en composés phénoliques des extraits, et leur richesse en molécules à pouvoir antioxydant détecté par CG-MS dans nos extraits. De nombreuses études ont rapporté le pouvoir réducteur de *Salvia officinalis L.* (Wojdyło et al., 2007 ; Kozics et al., 2013; Hadjila, 2016 ; Bahadoran et al., 2022 ; Jedidi et al., 2022).

2.5. Pouvoir réducteur de radical libre OH°

Le radical hydroxyle est capable de réagir avec une large gamme de molécules trouvées dans les cellules vivantes, comme les sucres, les acides aminés, lipides et les nucléotides, par échange d'électron, addition sur les doubles liaisons ou arrachement d'un atome d'hydrogène (Bahadoran et al., 2022). La figure 22 montre le pourcentage de réduction du radical libre OH° par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différents concentrations ($\mu\text{g/ml}$).

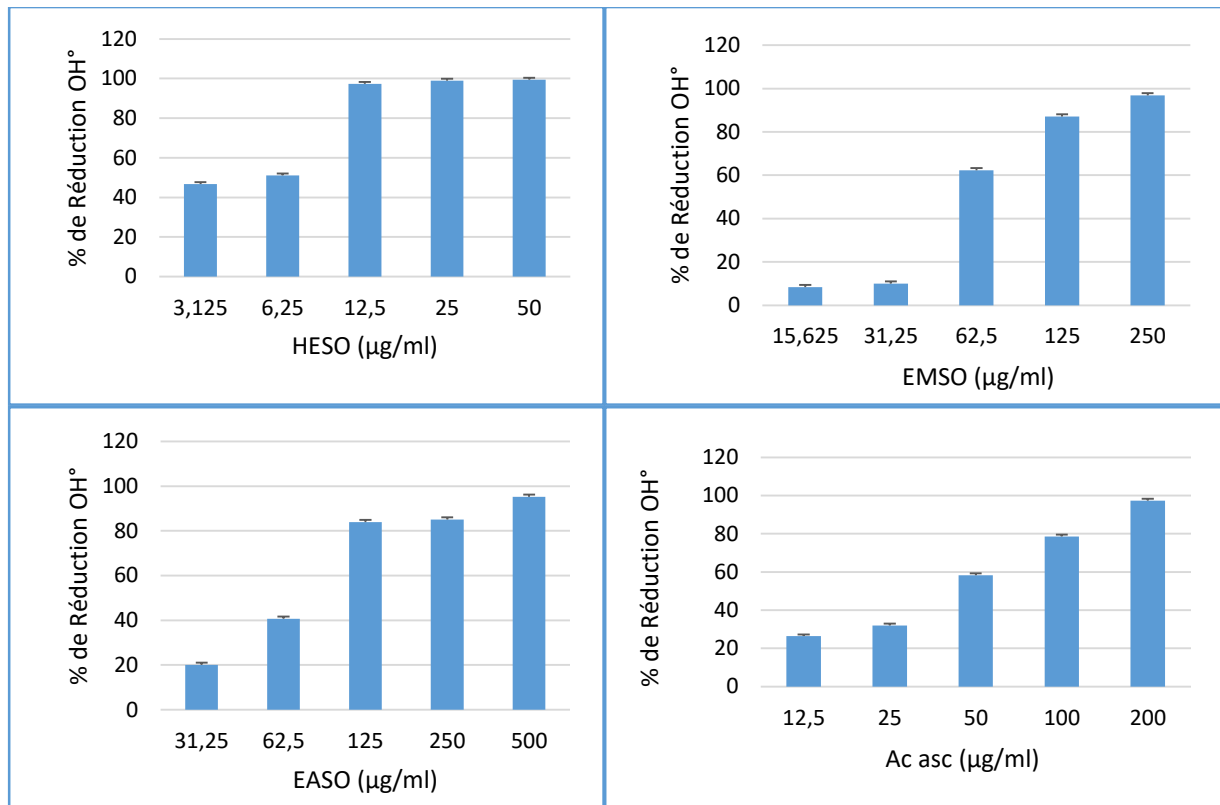


Figure 22. Pourcentage de réduction du radical libre OH° par l'EMSO, l'EASO, l'HESO et l'acide ascorbique (AC ASC) à différents concentrations (µg/ml).

Le tableau 10 montre les valeurs d'EC50 de chaque extrait (méthanolique, aqueux et les huiles essentielles) et l'acide ascorbique.

Tableau 10. EC50 de l'EMSO, l'EASO, HESO et de l'acide ascorbique (AC ASC) contre le radical OH°.

OH°	EMSO	EASO	HESO	AC ASC
EC50 (µg/ml)	178.35±4.6 ***	411.25±6.1 ***	9.1±0.02 ***	54.82

(EMSO : Extrait méthanolique de *Salvia officinalis*, EASO : Extrait aqueux de *Salvia officinalis*, HESO : Huiles essentielles de *Salvia officinalis*) Test de student : comparaison avec l'acide ascorbique : (P > 0.5), différence non significative ns. (p < 0.05), différence significative *. (p < 0.01), différence très significative **. (p < 0.001), différence très hautement significative ***.

Nos extraits présentent un pouvoir chélateur des radicaux OH° puissant et concentration dépendant. À la dose de 250µg/ml, le pouvoir chélateur est de 96.83% et 85.13% avec l'EMSO et l'EASO respectivement contre 97.30% obtenu avec l'acide ascorbique à 200µg/ml. L'HESO présente un pouvoir chélateur de 99.40% à 50µg/ml. Ce qui montre que l'huile essentielle est plus efficace que les extraits, il est efficace à faibles concentrations.

Comparant les EC50, l'huile essentielle est 6 fois plus efficace que l'acide ascorbique. L'EMSO est 3 fois moins efficace que l'acide ascorbique. Le meilleur effet obtenu est celui des huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* qui est un bon piègeur de radicaux hydroxyles. Ce résultat est justifié par la richesse de cette huile essentielle en molécules bioactives. La CG-MS a montré 35 composés dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* dont les composés majoritaires : Eucalyptol (41.44%), isoborneol (20.15%), Camphene (8.62%), (-)- β -Pinene (7.84%) d'où le chemotype de cette huiles essentielles.

De nombreuses études ont rapporté le pouvoir antiradicalaire de *Salvia officinalis L.* contre les radicaux hydroxyles (Shamnas et al., 2014 ; Bahadoran et al., 2022 ; Jedidi et al., 2022).

3. Activité anti-inflammatoire de *Salvia officinalis L.*

3.1. *In vitro* : test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA)

Nous avons évalué l'effet de nos extraits sur la dénaturation des protéines par le test de BSA. La dénaturation des protéines comme l'une des causes de l'inflammation a été bien documentée. Un nombre important d'anti-inflarmatoires sont connus pour inhiber la dénaturation des protéines. Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA sous l'effet de l'EMSO, l'EASO, l'HESO différentes concentrations sont résumés dans la figure 23 ci-dessous.

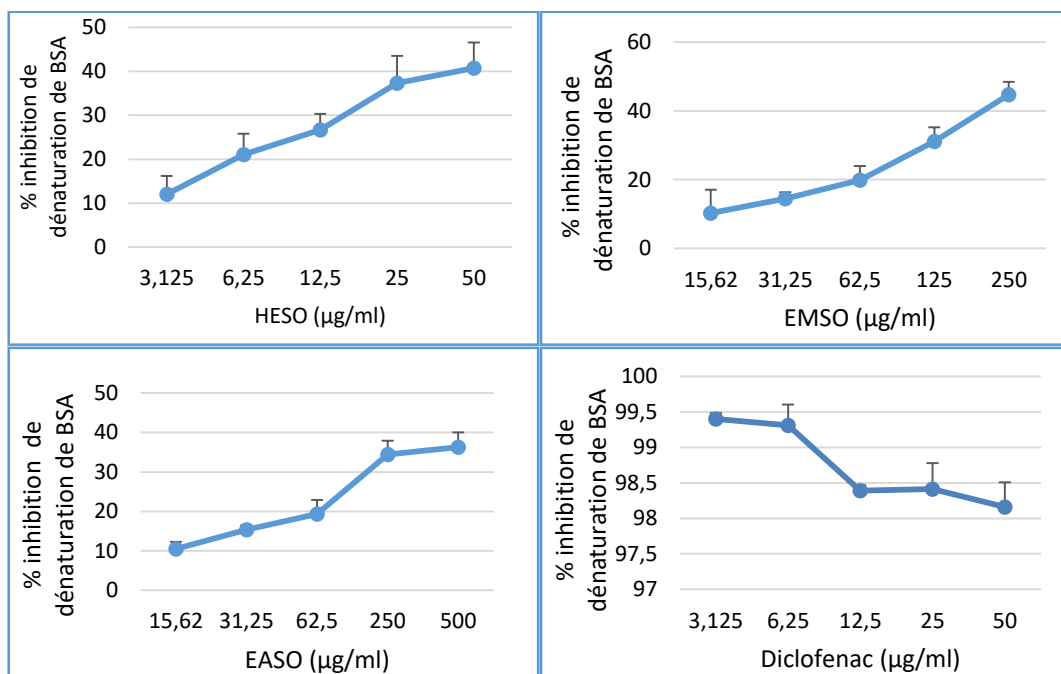


Figure 23. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA sous l'effet de l'EMSO, l'EASO, l'HESO et du DCF à différentes concentrations.

Les histogrammes montrent que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA augmentait de façon concentration dépendante pour les extraits méthanolique et aqueux et pour les huiles essentielles. Le diclofénac donne une inhibition maximale qui dépasse les 98% et ce à toutes les concentrations étudiées.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA pour les huiles essentielles du *Salvia officinalis* L. était de 40.74% contre 98.15% obtenu avec le diclofénac à la même concentration (50µg/ml). Nos extraits sont moins efficaces que le diclofénac, à 250µg/ml, l'EMSO et l'EASO présente une inhibition de 40.75% et 39.34% respectivement.

La dénaturation des protéines un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaires et secondaires ainsi que leurs fonctions biologiques; ce qui peut conduire à la production d'auto-antigènes (Sivaraj et al., 2017 ; Truong et al., 2019). Le mécanisme de la dénaturation peut impliquer une altération de la liaison électrostatique, hydrogène, hydrophobe ou disulfure (Kar et al., 2012). La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (Mirke et al., 2020).

La dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes de maladies inflammatoires, ainsi que des maladies auto-immunes telles que l'arthrite (Umapathy et al., 2010). Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation d'une protéine signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Osman et al., 2016). La production d'auto-antigène dans certaines maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines, à la lyse membranaire et à l'action des protéinases. On peut donc dire que la dénaturation des protéines tissulaires est un marqueur des maladies inflammatoires (Al Noman et al., 2016).

D'après les résultats précédents, on peut affirmer que les extraits de la sauge étaient capables de contrôler la dénaturation des protéines et donc d'inhiber le processus inflammatoire.

En tant que tels, les principaux médicaments utilisés pour la prise en charge des conditions inflammatoires en milieu clinique (anti-inflammatoires non stéroïdiens) auraient la capacité d'inhiber la dénaturation des protéines (Henneh et al., 2018) en plus de leur capacité à empêcher la production des prostaglandines endogènes en bloquant l'enzyme COX. Alors que, la capacité de l'extrait végétal à empêcher la dénaturation des protéines le rend éventuellement utile pour le développement de remèdes anti-inflammatoires (Hmidani et al., 2019).

De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de *Salvia officinalis L.* sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines. L'étude de Paun et al. (2017), ont montré que les extraits de *Salvia officinalis L.* sont capables d'inhiber la dénaturation des protéines dans les maladies inflammatoires. Les résultats ont montré que le diclofénac sodique et les extraits testés inhibaient la dénaturation des protéines induite par la chaleur d'une manière dépendante de la concentration (Paun et al., 2017).

L'IC50 des extraits a montré une puissante activité inhibitrice pour *Salvia officinalis L.* (IC50 5.0µg/ml). Cependant, l'inhibition de la dénaturation était inférieure à celle de diclofénac sodique (0.108 µg/ml). Un candidat qui peut inhiber la dénaturation de la protéine peut être un agent antiinflammatoire approprié.

L'étude de Serrano et al. (2020) a montré que des différentes espèces de la famille des Lamiacées inhibaient la dénaturation des protéines induite par la chaleur, ce qui suggère que ces extraits pourraient avoir une activité anti-inflammatoire (Serrano et al., 2020).

3.2. Activité anti-inflammatoire *in vivo* de *Salvia officinalis L.*

L'expérience a été réalisée sur un modèle de l'œdème aiguë de la patte des souris induit par la carragénine. La carragénine est un mucopolysaccharide sulfaté provenant d'une Rhodophyceae (Dirosa, 1972). L'injection de cette substance provoque la libération des médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. L'œdème induit par cet agent pathogène est considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés (Morris, 2003). Cette technique a été utilisée en raison de sa simplicité d'exécution et de sa rapidité d'induction (Chatter et al., 2013).

Nous avons testé sur ce modèle l'effet d'une dose unique de 50 mg/kg par voie orale de l'EMSO, l'extrait aqueux et de l'HESO pendant une heure de traitement. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de diclofénac (50 mg/kg) et à ceux du contrôle ayant reçu la carragénine à 1%.

La figure 24 montre l'évolution de volume de l'œdème induit par la carragénine en absence et en présence de traitement par le diclofénac, l'extrait méthanolique et aqueux et les huiles essentielles du *Salvia officinalis L.*

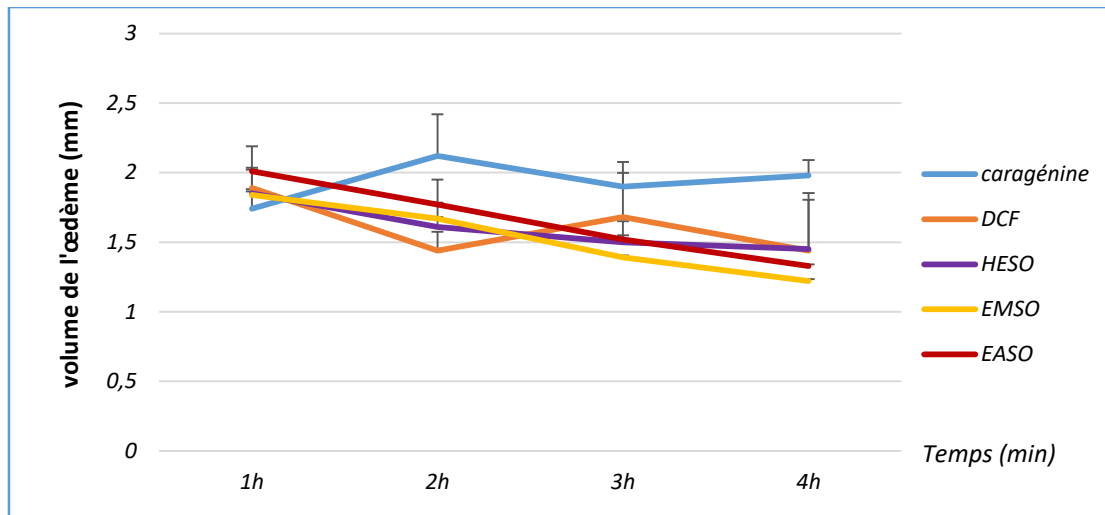


Figure 24. Effet de DCF, l'EMSO, l'EASO, l'HESO (50mg/kg) sur le volume de l'œdème induit par la carragénine (1%) chez la souris (mm).

Nos résultats, montrent que l'injection de la carragénine à 1% entraîne une augmentation très significative du volume de l'œdème chez tous les lots 1h après l'injection, la circonférence de la patte passe de 1.74 mm après 1 h pour atteindre son maximum au bout de 2 h avec une valeur de 2.12 mm chez les souris traitées uniquement par la carragénine.

L'administration de diclofénac comme anti-inflammatoire de référence à la dose de 50 mg/kg induit une diminution significative du diamètre de la patte des souris. L'épaisseur de l'œdème passe de 1.89 mm après 1 h à 1.44 mm après 4 h contre 1.02 mm enregistrée chez le témoin.

L'administration des extraits de la sauge à la dose de 50 mg/kg par voie orale a induit une diminution significative de l'épaisseur de l'œdème après une heure du traitement. Elle passe de 1.84 mm après 1 h à 1.22 mm après 4 h pour l'extrait méthanolique et de 2.01 mm après 1 h à 1.33 mm après 4 h pour l'extrait aqueux et de 1.85 mm après 1 h à 1.45 mm après 4 h pour les huiles essentielles. Si on procède à une comparaison entre l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux et les huiles essentielles, on note que l'extrait méthanolique possède l'effet anti-inflammatoire le plus efficace. L'extrait méthanolique, aqueux et les huiles essentielles donnent un effet meilleur comparable à celui du diclofénac.

La figure 25 montre les pourcentages d'inhibition de l'inflammation induite par la carragénine à 1% après traitement par le diclofénac (50 mg/kg), l'extrait méthanolique, aqueux et les huiles essentielles à la dose de 50 mg/kg.

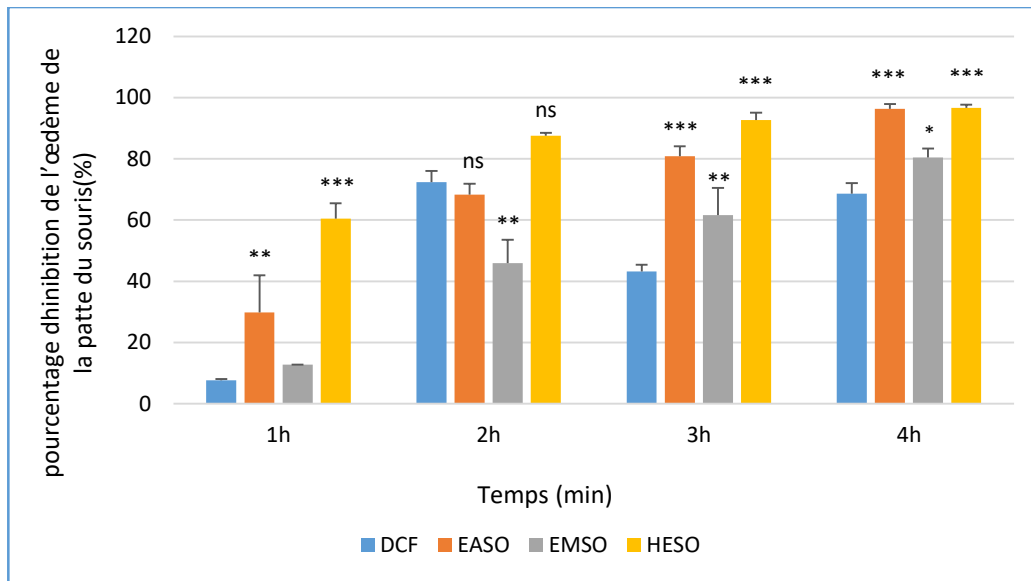


Figure 25. Pourcentage d'inhibition de l'œdème induite par la carragénine à 1% après traitement par le DCF (50 mg/kg), et en cas de prétraitement par EMSO, EASO, HESO à la dose de 50 mg/kg.

Test de student : comparaison avec l'acide ascorbique : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **: ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'administration par voie orale de diclofénac à la dose de (50 mg/kg) entraîne une diminution significative de l'œdème ($p < 0.05$) entre 1 h et 2h de traitement avec un pourcentage d'inhibition de $7 \pm 1.61\%$, $72.41 \pm 15.66\%$ respectivement. Les pourcentages d'inhibition de l'œdème chez les souris des lots traités par l'extrait méthanolique, aqueux de *Salvia officinalis L.* ou par les huiles essentielles à la dose de (50 mg/kg) montrent que les trois traitements possèdent une activité anti-inflammatoire importante; une diminution significative ($p < 0.05$) de l'œdème chez les souris traitées par l'extrait méthanolique par un pourcentage d'inhibition atteint $80.43 \pm 2.91\%$ à la 4^{ème} heure et une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) de l'œdème chez les souris traitées par l'extrait aqueux par un pourcentage d'inhibition atteint $96.32 \pm 1.55\%$ à la 4^{ème} heure qui a été de $29.80 \pm 12.17\%$ à la premier heure. Une diminution significative de l'œdème chez les souris traitées par les huiles essentielles par un pourcentage d'inhibition qui atteint $96.63 \pm 1.13\%$ a été également enregistrée.

Les AINS agissent en inhibant la cyclooxygénase (COX), qui inhibe la synthèse des prostaglandines, ce qui confère à cette classe de médicaments ses propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires (Pereira-Leite et al., 2016). Les AINS peuvent être classés comme inhibiteurs non sélectifs (inhibant COX-1 et COX-2) ou comme inhibiteurs sélectifs de la COX-2. Cependant, la plupart des médicaments anti-inflammatoires sont cliniquement efficaces

au cours de la seconde phase de l'inflammation (Olajid et al., 2000; Mehmood et al., 2016). Le diclofénac, comme produit de référence, réduit l'inflammation par l'inhibition des cyclo-oxygénases enzymes responsables de la production des prostaglandines et du thromboxane (Bamane et al., 2012).

Dans une étude, la salvigénine qui est l'un des flavonoïdes actifs existant dans la plante *Salvia officinalis L.*, a pu réduire l'œdème induit par la carragénine de manière dose-dépendante. La salvigénine a pu inhiber les prostaglandines et la production d'oxyde nitrique. Aussi elle a pu contrôler la douleur aiguë et chronique (Abadi et al., 2016). Dans l'étude menée par Shamnas et al. (2014), les résultats ont montré que l'extrait méthanolique de fleurs de *Salvia officinalis L.*, qui était riche en polyphénols, a démontré une activité antiinflammatoire significative chez les rats Wistar. Cette plante provoque une inhibition significative de la formation d'œdèmes à la 3^{ème} heure après l'injection de la carragénine.

Des études ont également montré que l'application topique d'acide rosmarinique présent dans la plante *Salvia officinalis L.* inhibe l'inflammation épidermique (Gzegorzcyk et Wysokińska, 2009; Osakabe et al., 2004).

Cependant, les études de Kempuraj et al. (2005) montrent que les flavonoïdes contenus dans les extraits des feuilles de *Salvia officinalis L.* peuvent diminuer l'élévation intracellulaire des ions Ca^{2+} d'une manière dose-dépendante, ainsi que la libération de médiateurs pro-inflammatoires tels que le TNF α . Les flavonoïdes se sont également avérés être des inhibiteurs efficaces du métabolisme de l'acide arachidonique en inhibant l'expression génique de la cyclooxygénase-1 (COX-1) et de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) (Yassine et al., 2016). Une autre caractéristique antiinflammatoire des flavonoïdes est la capacité d'inhiber la biosynthèse des eicosanoïdes. Les eicosanoïdes, tels que les prostaglandines, sont impliqués dans diverses réponses immunologiques et sont les produits finaux des voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase (Nijveldt et al., 2001).

4. Evaluation de l'effet anti-ulcérogène de *Salvia officinalis L.*

4.1. Etude macroscopique

Les différences macroscopiques et les types de lésions gastriques observés chez les souris traitées uniquement par le diclofénac à (150 mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO à (50 mg/kg), l'HESO à (50 mg/kg) ou par ranitex (20 mg/kg) pendant 3 jours, sont représentées dans la figure 26.

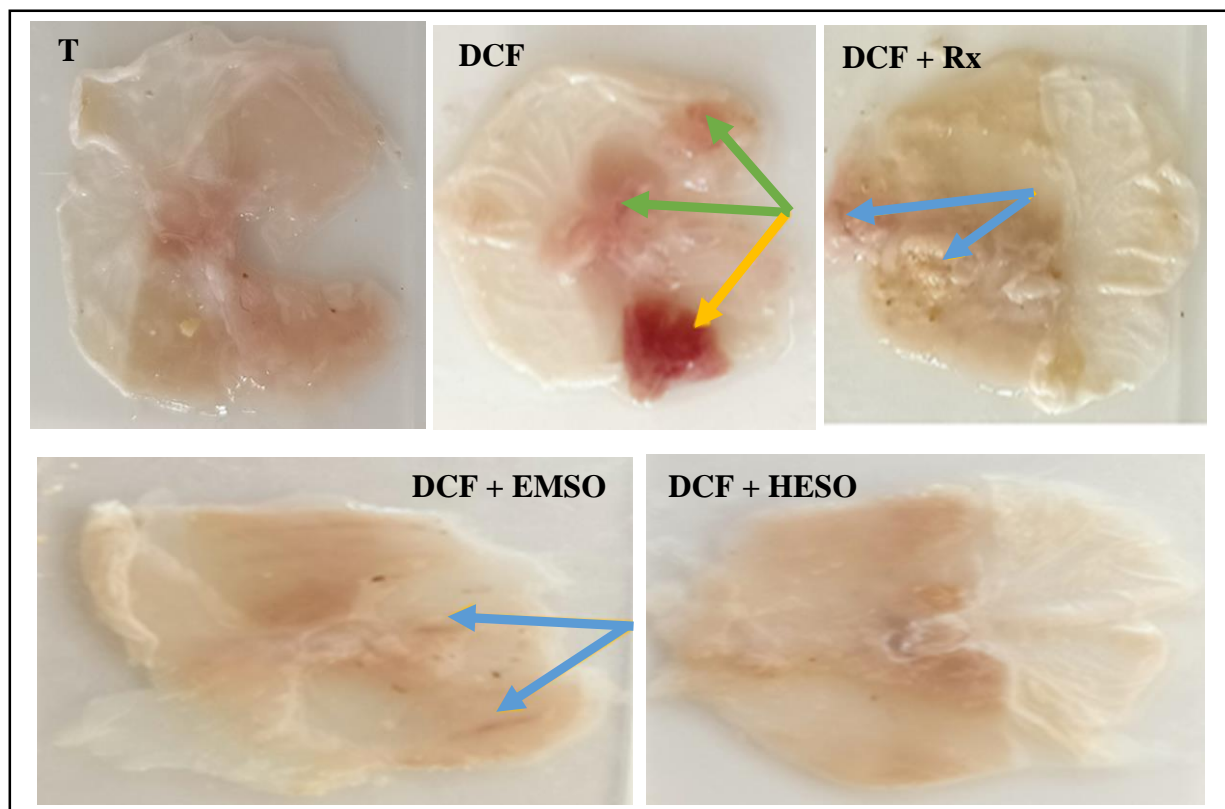


Figure 26. Macroscopie des estomacs des souris (T) : Témoins traités par le véhicule. (DCF) : Traités par diclofénac seul 150mg/kg. (DCF+Rx) : Prétraités par diclofénac 150 mg/kg + ranitex 20 mg/kg à mg/kg. (DCF+EMSO) : Prétraités par EMSO à 50 mg/kg/j. (DCF+HESO) : Prétraités par l'HESO à 50mg/kg.

Macroscopiquement, de nombreuses lésions profondes (la flèche jaune), des ulcérations et inflammation (les flèches vertes) de la muqueuse gastrique au niveau de la portion glandulaire ont été enregistrées chez les souris traitées par le diclofénac seul (DCF) à (150 mg/kg), par rapport aux estomacs des souris traitées par le véhicule, le témoin (T), où la muqueuse gastrique présente un aspect normal et sain, ces résultats montrant l'effet ulcérogène du diclofenac.

Le traitement par l'EMSO et l'HESO et ranitex à (50mg/kg) a montré une bonne protection gastrique malgré la présence de quelques lésions superficielles (les flèches bleues) qui restent limitées à une petite portion de l'estomac.

Chez les souris prétraités par l'EMSO à 50 mg/kg (DCF+EMSO), une réduction nette des lésions gastriques par rapport à celles signalées sous l'effet du diclofénac seul (DCF), ces lésions étaient superficielles, et peu nombreuses. Chez les souris prétraitées par l'HESO à 50 mg/kg (DCF+HESO), une protection totale contre l'ulcère induit par le diclofénac. Chez les souris prétraités par la ranitex à 50 mg/kg (DCF+Rx) des lésions superficielles assez bien limitées et peu nombreuses sont enregistrées, par rapport au groupe ulcéré (DCF).

Les estomacs des groupes des souris ulcéreux traités par les extraits de *Salvia officinalis L.* ont donc exhibé une protection et une nette réduction des lésions gastriques vis-à-vis des dommages induits par diclofénac par rapport au lot traité par le ranitex (Rx).

Les indices ulcéreux et le pourcentage de gastroprotection ont été déterminés en mesurant le nombre de lésions ulcéreuses.

4.2. Paramètres gastriques

L'ulcère se traduit par la réduction de la production du mucus (Barros et *al.*, 2008; Metowogo et *al.*, 2009), associée à une diminution des taux des prostaglandines qui sont des facteurs gastro-protecteurs importants (Bafna et Balaraman, 2004; Rozza et *al.*, 2012). Pour mettre en évidence l'effet gastroprotecteur de *Salvia officinalis L.*, quelques paramètres gastriques ont été évalués.

4.2.1. Indice d'ulcère et pourcentage de protection

Après observation macroscopique, la détermination du nombre et du grade des lésions observées, nous a permis de calculer l'indice d'ulcère et le pourcentage de protection sous l'effet des différents traitements.

Le tableau 11 représente l'indice d'ulcère et pourcentage de protection chez les souris traitées par le diclofénac seul ou en cas de prétraitement par l'EMSO, l'HESO (50mg/kg) ou ranitex (20mg/kg) pendant 3 jours.

Tableau 11. Indice d'ulcère et pourcentage de protection chez les souris traitées par le diclofénac seul ou en cas de prétraitement par l'EMSO, l'HESO (50mg/kg) ou ranitex (50mg/kg) pendant 3 jours.

	T	DCF	DCF + Rx	DCF +EMSO	DCF + HESO
Indice d'ulcère (IU)	0	1.8± 0.74	1.26± 0.46 **	0.3± 0.2 ***	0
% de protection	100	0	26.21 ±2.70	74.67±3.35	100

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative *. ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***.

Le traitement par le DCF a provoqué des lésions de la muqueuse gastrique se traduisant par une augmentation très significative de l'indice l'ulcère 1.8 ± 0.74 par rapport au groupe témoin, cependant le prétraitement par l'EMSO à 50 mg/kg a réduit de manière hautement significative ($p < 0.001$), la sévérité des lésion gastrique dont l'indice de l'ulcère est de 0.3 ± 0.2 avec un taux de protection de $74.67 \pm 34.35\%$ par rapport de groupe diclofénac 0%. Le prétraitement par l'HESO (50 mg/kg) a réduit l'indice d'ulcère de manière hautement significative ($p < 0.001$), à 0 contre 1.8 ± 0.74 observé sous l'effet du traitement par diclofénac seul avec un taux de protection 100%. L'effet de HESO est comparable à celui de EMSO avec au taux de protection 100%. Le ranitex à 20mg/kg utilisé comme médicament de référence a montré une réduction très significative de l'indice d'ulcère atteint 1.26 ± 0.46 reflétant une protection $26.21 \pm 2.70\%$.

4.2.2. Productions de mucus

La production de mucus gastrique a été évaluée dans le cas de l'ulcère gastrique induit par le diclofénac (DCF) en présence et en absence de l'EMSO, de l'HESO et de ranitex (Rx). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 27 ci-dessous.

Suite aux résultats obtenus dans cette expérience, nous avons enregistré une réduction très significative ($p < 0.01$) de la quantité de mucus chez les souris traitées par le DCF. Cette quantité est de 0.042 g contre 0.055 g chez les souris témoins. Le prétraitement par l'EMSO ou par l'HESO (50mg/kg) a conduit à une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) de la production de mucus, qui atteint 0.07 et 0.106 g respectivement. Le prétraitement par ranitex (Rx) a provoqué une augmentation de la production de mucus de façon non significatif à un poids de 0.06 g par rapport aux souris traitées par le DCF seul. Ces résultats sont comparables avec l'étude de Jedidi et al. (2020).

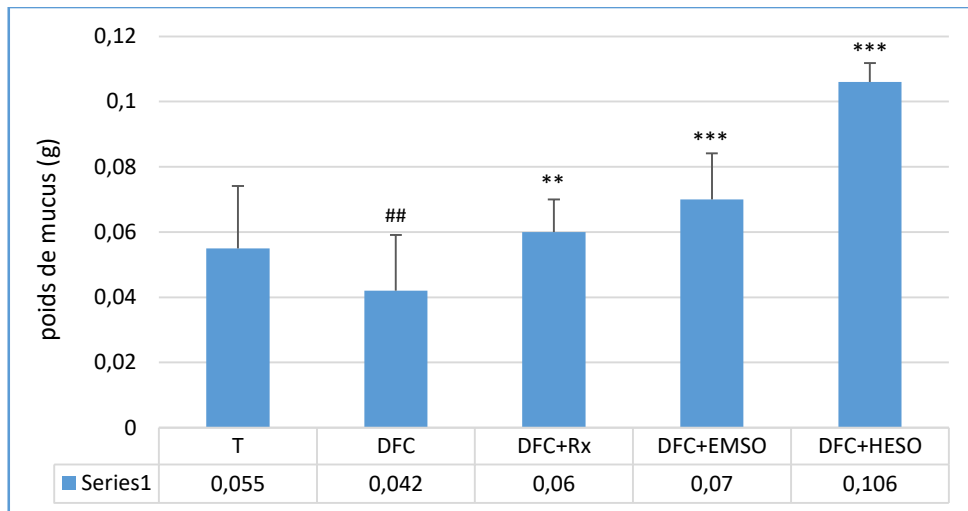


Figure 27. Production de mucus chez les souris traitées par le diclofénac seul ou en cas de prétraitement par l'EMSO, l'HESO (50mg/kg) ou ranitex (20mg/kg) pendant 3 jours.

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

4.3. Evaluation du stress oxydant gastro-intestinal

4.3.1. Le glutathion (GSH)

Le glutathion réduit (GSH), un tripeptide thiol omniprésent, est un antioxydant protecteur intracellulaire et extracellulaire vital, qui joue un certain nombre de rôles clés et/ou cruciaux dans le contrôle des processus de signalisation, détoxifiant certains xénobiotiques et métaux lourds, ainsi que d'autres fonctions. C'est un tripeptide composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycine. Les concentrations intracellulaires et dans le sang total de GSH se situent dans la gamme milimolaire, tandis que la concentration plasmatique se situe dans la gamme micromolaire et représente environ 0.4 du GSH sanguin total. Le GSH est synthétisé dans la cellule par la γ -glutamylcystéine synthétase (γ -GCS) et la glutathion synthétase. La formation de γ -glutamylcystéine catalysée par γ -GCS est la première étape limitant de la synthèse de novo du GSH et est inhibée par la rétroaction par le GSH, un mécanisme qui est au cœur de la régulation des concentrations cellulaires de GSH. Ainsi, la cystéine est un substrat limitant la vitesse de la synthèse de novo du GSH (Zitka et al., 2012).

Le tableau 12 ci-dessous représente le taux de GSH dans la fraction cytosolique gastrique et intestinal.

Tableau 12. Variation des taux du GSH gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

	T	DCF	DCF+Rx	DCF +EMSO	DCF + HESO
GSH (mM/mg) Intestins	0.02±0.005	0.01±0.002 ##	0.019±0.009 **	0.029±0.002 **	0.03±0.019 **
GSH (mM/mg) Estomac	0.024±0.002	0.016±0.001 ##	0.03±0.005 ***	0.026±0.006 ***	0.031±0.002 ***

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

D'après les résultats obtenus, les souris traitées par le DCF présentent une diminution de 33.33% du taux de GSH gastrique qui atteint 0.016 ± 0.001 mmol/mg de protéines contre, 0.024 ± 0.002 mmol/mg de protéines enregistrés chez le témoin. Le taux de GSH augmente de façon hautement significative ($p < 0.001$) chez les souris prétraitées par ranitex, l'HESO et l'EMSO avec des valeurs (0.03 ± 0.005 mmol/mg de protéines), (0.031 ± 0.002 mmol/mg de protéines) et (0.026 ± 0.006 mmol/mg de protéines) respectivement par rapport aux souris traités avec seulement du diclofénac. Les pourcentages de l'augmentation sont dans l'ordre de 38.46%, 48.38% et 46.66% pour l'extrait méthanolique, les huiles de *Salvia officinalis L.* et ranitex respectivement.

De l'autre côté les résultats obtenus au niveau des intestins montrent une diminution de 50% des taux de GSH sous l'effet du traitement par le diclofénac qui atteint 0.01 ± 0.002 mmol/mg de protéines contre 0.02 ± 0.005 mmol/mg de protéines enregistrés chez le témoin. Le taux de GSH augmente de façon très significative chez les souris prétraitées par ranitex et les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* avec des valeurs (0.019 ± 0.0009 mmol/mg de protéines) et (0.03 ± 0.019 mmol/mg de protéines) respectivement; et de façon hautement significative ($p < 0.001$) chez les souris prétraitées par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (0.029 ± 0.002 mmol/mg) par rapport aux souris traités par le diclofénac seul.

Les pourcentages d'augmentation sont dans l'ordre de 65.51 % ; 66.66% et 47.36% pour l'extrait méthanolique, les huiles de *Salvia officinalis L.* et ranitex respectivement. Les résultats obtenus sont comparables à ceux de (Mayer et al., 2009).

4.3.2. Le malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit final de la peroxydation lipidique et un sous-produit du thromboxane à la synthèse. De plus, ce n'est pas seulement un biomarqueur fréquemment mesuré du stress oxydatif, mais sa forte réactivité et sa toxicité soulignent le fait que cette molécule est plus qu'un simple biomarqueur. De plus, le MDA s'est avéré être une substance mutagène. Cela dit, il est évident qu'il existe un intérêt majeur pour l'analyse hautement sélective et sensible de cette molécule dans diverses matrices (Giéra *et al.*, 2012).

Le tableau 13 et la figure 28 ci-dessous représentent les variations des taux du MDA cytosolique gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac seul (150 mg/kg), ou en cas de prétraitement par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (50 mg/kg), les huiles de *Salvia officinalis L.* (50mg/kg) ou ranitex (20 mg/kg) pendant 3 jours.

Tableau 13. Variation des taux du MDA cytosolique gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50 mg/kg), HESO (50 mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

Taux MDA mmoles/mg	T	DCF	DCF + Rx	DCF + EMSO	DCF + HESO
Intestins	0.767 ± 0.22	2.026 ± 0.45 ###	0.637 ± 0.04 ***	0.922 ± 0.174 ***	0.747 ± 0.04 ***
Estomac	1.095 ± 0.32	2.328 ± 0.49 ###	1.109 ± 0.26 **	0.50 ± 0.10 ***	0.865 ± 0.181 ***

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence très hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

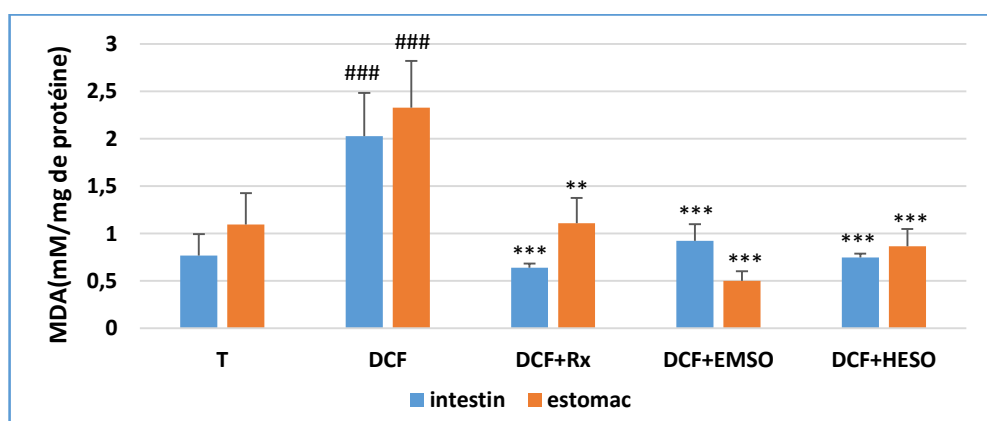


Figure 28. Variation des taux du MDA cytosolique gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50 mg/kg), HESO (50 mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

D'après les résultats obtenus à partir de dosage de la fraction cytosolique d'estomac, les souris traitées par le diclofénac présentent une augmentation très significative ($p < 0.01$) de 52.96% des taux du MDA qui atteint 2.328 ± 0.49 mmoles/mg de protéines contre 1.095 ± 0.32 mmoles/mg de protéines chez les souris témoins. Le taux de MDA diminue de façon hautement significative ($p < 0.001$) chez les souris prétraitées par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (0.50 ± 0.10 mmoles/mg), les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* (0.865 ± 0.181 mmoles/mg) et ranitex (1.109 ± 0.26 mmoles/mg) par rapport aux souris traitées par le diclofénac seul. Les pourcentages de diminution sont dans l'ordre de 78.52%, 62.84% et 59.96% pour l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.*, les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* et ranitex respectivement.

D'autre part les résultats obtenus par le dosage de la fraction cytosolique de l'intestin montre que les souris traitées par le diclofénac présentent une augmentation très significative ($p < 0.01$) de 62.14% des taux du MDA qui atteint 2.026 ± 0.45 mmoles/mg de protéines contre 0.767 ± 0.22 mmoles/mg de protéines chez les souris témoins. Le taux de MDA diminue de façon hautement significative ($p < 0.001$) chez les souris prétraitées par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (0.922 ± 0.174 mmoles/mg), les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* (0.747 ± 0.04 mmoles/mg) et ranitex (0.637 ± 0.04 mmoles/mg) par rapport aux souris traitées par le diclofénac seul. Les pourcentages de diminution sont dans l'ordre de 54.49%, 63.12% et 68.55% pour l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.*, les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* et ranitex respectivement.

L'inhibition de la peroxydation lipidique lors de l'administration de EMSO et HESO, est due à son effet protecteur est peut-être dû à la captation des molécules du MDA par les principes actifs ou bien à l'inhibition des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (Kebba, 2006).

4.3.3. La superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) représente l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant. Elle assure l'élimination de l'anion superoxyde O_2^- par réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Belge, 2016 ; Stephenie et al., 2020).

Le tableau 14 ci-dessous représente les valeurs de l'activité enzymatique de la SOD dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac seul ou le prétraitement par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.*, les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* et ranitex.

Tableau 14. Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans le tissu gastrique et intestinal, après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg), et en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) et ranitex (Rx) (20mg/kg).

SOD (UI/mg)	T	DCF	DCF + Rx	DCF + EMSO	DCF + HESO
Intestins	297.30±38.69	438.51±50.66 ###	450.77±15.54 ns	439.70±13.55 ns	508.13±5.29 **
Estomac	706.33±160.69	649.12±180.66 #	652.90±497.16 ns	475.31±241.47 **	889.61±0 ***

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

Une réduction significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique gastrique a été enregistrée chez les souris traitées par le diclofénac, elle atteint 649.125±180.66 UI/mg de protéines contre 706.332±160.69 UI/mg de protéines chez les souris témoins. Avec un pourcentage de réduction de 8.09%. Cette réduction est peut-être due à la destruction de cette enzyme par les radicaux libres issus du métabolisme du diclofénac.

Cependant, l'activité de la SOD a augmenté de façon très significative dans le groupe recevant les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* (889.61±0 UI/mg de protéines), avec une augmentation non significative pour le groupe qui reçoit le ranitex (652.90±497.16 UI/mg de protéines). L'EMSO a réduit significativement l'activité de cette enzyme. Alors que le traitement par les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* a induit une augmentation hautement significative de l'activité de la SOD gastrique par rapport au groupe traité par le DCF seul. Le pourcentage d'augmentation est dans l'ordre de 37.04%.

Les résultats obtenus de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique intestinale montre une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) dans le groupe qui reçoit le diclofénac seul atteint (438.515±50.16 UI/mg de protéines) par rapport au groupe témoin (297.306±38.69 UI/mg de protéines) et une augmentation non significative pour le groupe qui reçoit le ranitex (450.775±15.54 UI/mg de protéines) et le groupe qui reçoit l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (439.702±13.55 UI/mg de protéines). Une augmentation hautement significative de l'activité de la SOD de l'ordre de 15.87% est enregistrée sous l'effet du traitement par l'HESO. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Mayer et al., (2009). L'augmentation de l'activité de la SOD sous l'effet des différents traitements, est peut être due à l'induction directe de cet enzyme par les polyphénols de la plante ou bien à leur effet anti-radicalaire qui diminue la consommation des enzymes antioxydants.

4.3.4. La catalase (CAT)

La catalase est l'une des premières lignes de défenses, il présente également un certain nombre de caractéristiques inhabituelles. Elle a l'une des chiffres de rotation les plus élevés de toutes les enzymes. Elle est essentielle pour neutraliser le peroxyde d'hydrogène nocif à la fois dans la nature et dans les diverses industries telles que la laiterie, le textile et la pharmacie (Sepasi, 2018).

Le tableau 15 et la figure 29 ci-dessous représentent le taux de CAT dans la fraction cytosolique gastrique et intestinal.

Tableau 15. Variations de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le tissu gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

CAT (UI/mg)	T	DCF	DCF + Rx	DCF + EMSO	DCF + HESO
Intestins	0.003±0.002	0.017±0.033 ##	0.003±0.002 ***	0,004±0.003 ***	0.002±0.0007 ***
Estomac	0.029±0.014	0.02±0.007 ##	0.02±0.019 ns	0.013±0.007 **	0.027±0.0032 *

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative * . ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

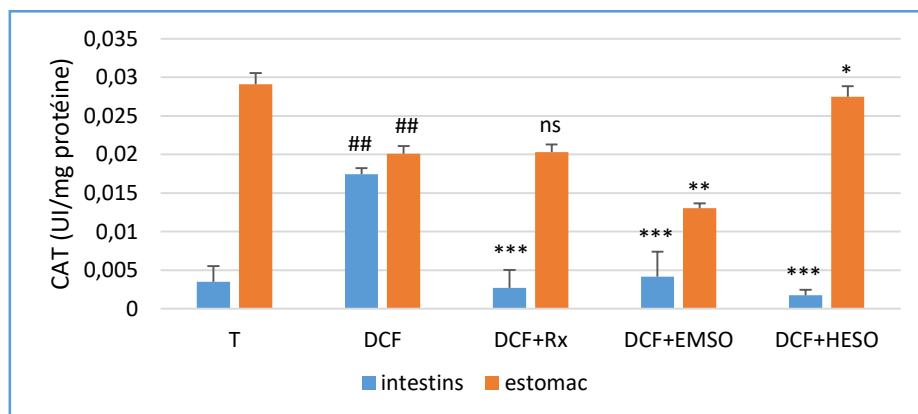


Figure 29. Variation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le tissu gastrique et intestinal après traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

Dans cette étude, une induction de l'activité de la CAT cytosolique gastrique et intestinale a été enregistrée chez des souris ayant reçu le DCF seul (0.02±0.007 UI /mg de protéines) et (0.017±0.033 UI /mg de protéines) par rapport au témoin (0.029 ± 0.14 UI /mg de protéines).

Il s'agit d'une réaction adaptative de la cellule vis-à-vis du stress induit par le DCF, la CAT s'occupe de l'élimination du peroxyde d'hydrogène et des hydroperoxydes lipidiques issus de la métabolisation du DCF.

Une diminution de l'activité de la CAT gastrique par rapport au groupe traité par le diclofénac seul (0.02 ± 0.007 UI/mg de protéines) a été enregistré dans les groupes prétraités avec ranitex, l'EMSO et les HESO.

Au niveau gastrique, une induction de l'activité de la CAT cytosolique a été enregistrée chez des souris recevant les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. (0.027 ± 0.0032 UI/mg de protéines) par rapport au groupe traité par le diclofénac seul (0.02 ± 0.007 UI/g de protéines). Ceci est peut-être expliqué par la capacité des composants des huiles essentielles à activer l'enzyme ou à induire sa biosynthèse et sa régénération.

Ce résultat est peut être due à la capacité des terpènes de l'huile essentielle à piéger les radicaux libres conduisant de ce fait à conserver le taux et l'activité des enzymes antioxydantes. Les terpènes et les polyphénols présentent un effet inducteur des mécanismes anti-oxydants et inhibiteur des mécanismes pro-oxydants au niveau des tissus. Nos résultats sont renforcés par ceux de (Mayer et al., 2009).

4.3.5. La glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est un antioxydant important qui décompose le peroxyde d'hydrogène en eau dans les mitochondries et parfois dans le cytosol. La plupart du temps, son activité est dépendante du sélénium, il peut être lié au sélénium ou non lié au sélénium. Le rôle principal de la GPx est de protéger la cellule contre le stress oxydatif (Aslankoç et al., 2019).

Le tableau 16 et la figure 30 ci-dessous représentent les valeurs de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac seul le prétraitement par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L., les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. et ranitex.

Tableau 16. Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

GPx (µmolGSH/g)	T	DCF	DCF + Rx	DCF + EMSO	DCF + HESO
Intestins	0.44 ± 0.003	1.77±0.008 ###	0.76±0.001 ***	0.69 ± 0.0001 ***	1.36±0.008 **
Estomac	2.2 ± 0.007	3.01±0.001 ###	2.76±0.009 *	1.85±0.005 ***	1.08±0.005 ***

Test de student : comparaison avec le DCF : (P> 0.5), différence non significative ns. (p< 0.05), différence significative *. (p< 0.01), différence très significative **. (p<0.001), différence hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

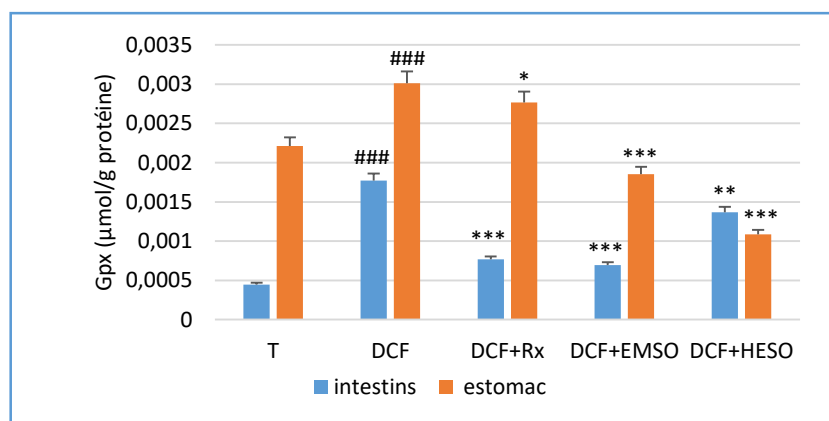


Figure 30. Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le tissu gastrique et intestinal après le traitement par le diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

Une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique de la GPx cytosolique intestinal a été enregistrée chez les souris traitées par le DCF seul (1.77±0.0008 µmol GSH/g de protéine) par rapport aux souris témoins avec une activité de (0.44±0.0003 µmol GSH/g de protéine). Cependant, une diminution hautement significative (p<0.001) a été enregistrée chez les souris prétraités par extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* (0.69±0.0001 µmol GSH/g de protéine), et chez les souris prétraités par les huiles essentielles (1.36±0.0008 µmol GSH/g de protéine) et avec ranitex (0.76±0.001 µmol GSH/g de protéine).

Une augmentation significative (p<0.05) de l'activité enzymatique de la GPx cytosolique gastrique a été enregistré chez les souris traitées par le DCF seul (3.01±0.001µmol GSH/g de protéine) par rapport aux souris témoins avec une activité de (2.2±0.007µmol GSH/g de protéine). Suite au stress induit par le DCF, la Gpx s'occupe de l'élimination du peroxyde d'hydrogene et des

hydroperoxydes lipidiques issus de métabolisme du médicament. Cependant, une diminution hautement significative a été enregistrée chez les souris prétraitées par les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. ($1.08 \pm 0.005 \mu\text{mol GSH/g}$ de protéine), et par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L. ($1.85 \pm 0.005 \mu\text{mol GSH/g}$ de protéine).

4.3.6. La glutathion S-transférase (GST)

Les loci codant pour les enzymes glutathion- S -transférase (GST) comprennent une grande famille de super gènes situés sur au moins sept chromosomes. La fonction des enzymes GST a traditionnellement été considérée comme étant la détoxification des électrophiles par conjugaison au glutathion. Une grande variété de substrats électrophiles endogènes (par exemple des sous-produits de l'activité des espèces réactives de l'oxygène) et exogènes (par exemple des hydrocarbures aromatiques polycycliques) ont été identifiés (Richard et al., 2001).

Le tableau 17 et la figure 31 ci-dessous représentent les valeurs de l'activité enzymatique de la GST dans le tissu gastrique et intestinal après le prétraitement par l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L., les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. et ranitex.

Tableau 17. Variation de l'activité enzymatique de la GST cytosolique gastrique et intestinal après une dose de diclofénac absolu seul (150mg/kg) ou en cas de prétraitement par l'EMSO (50mg/kg), l'HESO (50mg/kg) ou par ranitex (Rx) (20mg/kg).

GST (UI/ mg)	T	DCF	DCF + Rx	DCF + EMSO	DCF + HESO
Intestins	0.050 ± 0.01	0.051 ± 0.02 ns	0.048 ± 0.01 ns	0.051 ± 0.03 ns	0.053 ± 0.006 ns
Estomac	0.387 ± 0.32	0.041 ± 0.09 ###	0.062 ± 0.67 *	1.313 ± 0.43 ***	0.720 ± 0.19 ***

Test de student : comparaison avec le DCF : ($P > 0.5$), différence non significative ns. ($p < 0.05$), différence significative *. ($p < 0.01$), différence très significative **. ($p < 0.001$), différence hautement significative ***. # comparaison avec le témoin.

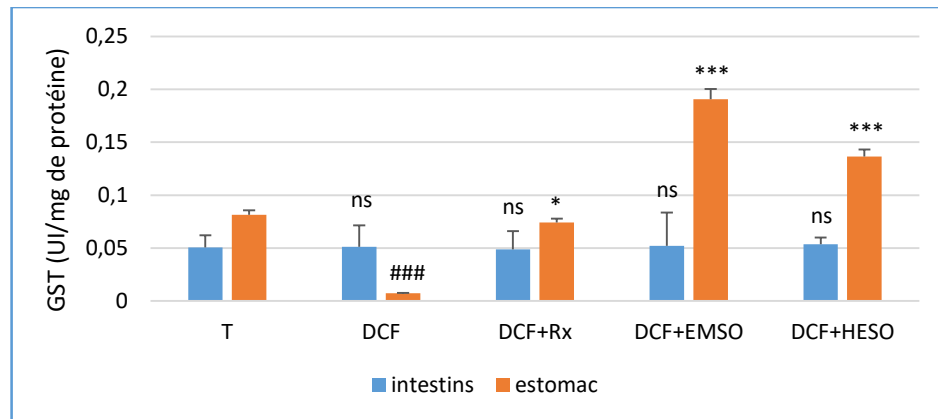


Figure 31. Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus gastriques (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.

À partir des résultats obtenus on a remarqué une diminution hautement significative de l'activité de la GST cytosolique gastrique chez les souris traitées par le diclofénac seul ($0.041 \pm 0.09 \mu\text{mol GSH/mg de protéine}$) en comparaison avec les souris témoins ($0.387 \pm 0.32 \mu\text{mol GSH/mg de protéine}$). Par contre une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) a été enregistrée chez les souris prétraités par extrait méthanolique de *Salvia officinalis L.* et les huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*, ces activités sont dans l'ordre ($1.313 \pm 0.43 \mu\text{mol GSH/mg de protéine}$) et ($0.720 \pm 0.19 \mu\text{mol GSH/mg de protéine}$). Nos résultats sont comparables à ceux de (Mayer et al., 2009). Au niveau du tissus intestinal, aucun changement significatif n'a été enregistré sous l'effet des différents traitements que ce soit médicamenteux ou par les extraits de la sauge.

L'augmentation de l'activité de la GST au niveau gastrique sous l'effet des différents traitements, est probablement due à l'induction directe de cet enzyme par les polyphénols et les terpènes de la plante ou bien, à l'induction de leur expression génique (kebsa, 2006).

4.4. Etude histologique microscopique

Après observation macroscopique et le calcul des paramètres gastriques nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau des estomacs et des intestins des lots traités par le DCF et les extraits de *Salvia officinalis L.*

Les figures 32 et 33 ci-dessous montre l'observation microscopique des coupes histologiques de l'estomac et l'intestat chez les lots témoin et traités.

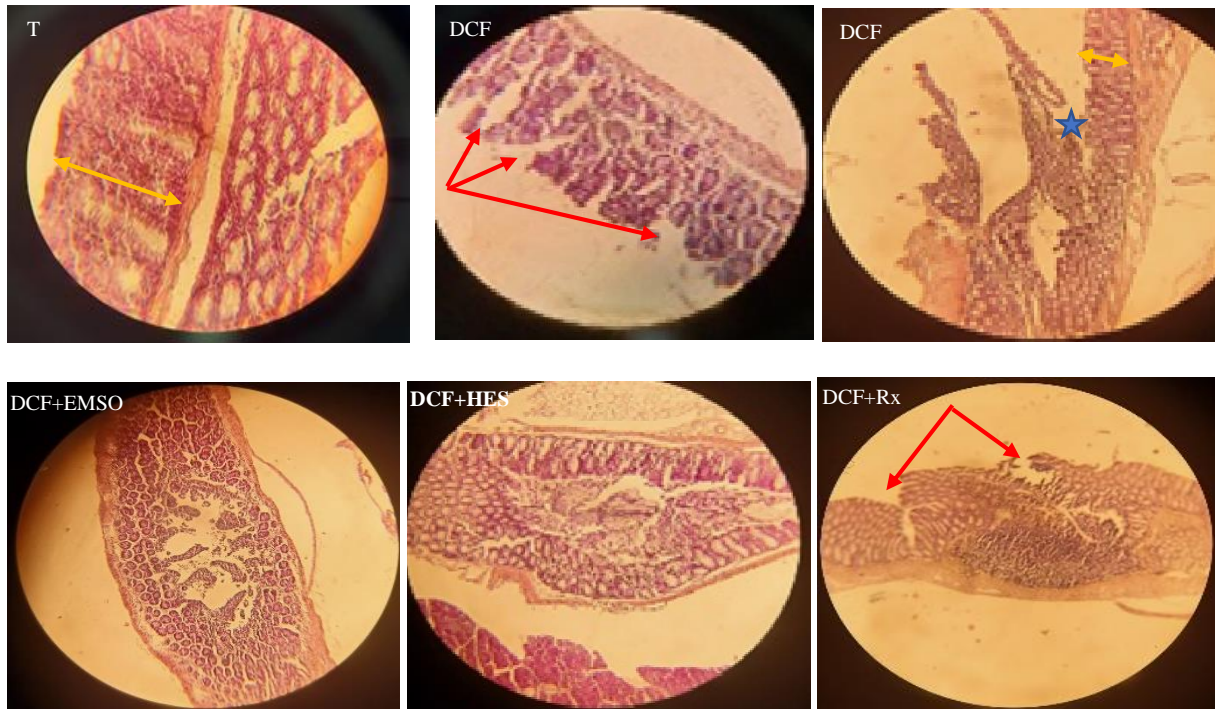


Figure 32. Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus gastriques (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.

→ Nécrose, ← Épaisseur de la muqueuse gastrique, ★ Dénudation de l'épithélium de revêtement.

Chez le témoin, la muqueuse gastrique a révélé une architecture normale et saine (T). Cependant, l'examen histopathologique des estomacs du groupe traité par le diclofénac a montré des dommages gastriques étendus : réduction de l'épaisseur de la muqueuse gastrique (la flèche jaune), une dénudation de l'épithélium de revêtement associée à des changements dégénératifs (étoile bleu) ou nécroses (DCF) (les flèches rouges).

Par contre, le prétraitement par l'extrait méthanolique à 50 mg/kg (DCF+EMSO), et les huiles essentielles (DFC+HESO) à 50 mg/kg ou ranitex (E) a offert une atténuation considérable de ces anomalies avec conservation de l'épaisseur de la muqueuse gastrique. Dans le tissu prétraité par Ranitex (DCF+Rx) des foyers nécrotiques persistents (la flèche rouge).

Ces résultats montrent clairement l'effet gastroprotecteur de *Salvia officinalis L.*. Ces résultats sont comparables à ceux de Jedidi et *al.* (2020), qui rapportent l'effet protecteur et dose-dépendant de l'extrait méthanolique de SO, au niveau de la muqueuse gastrique.

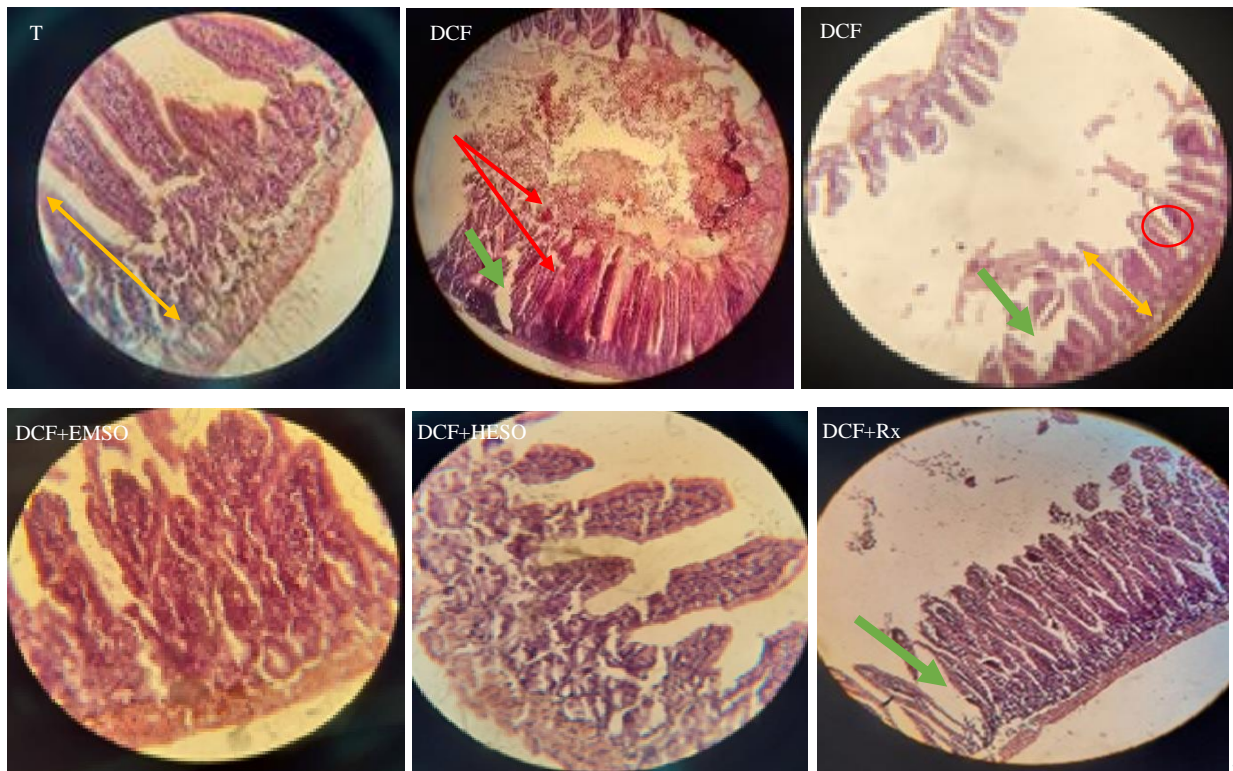
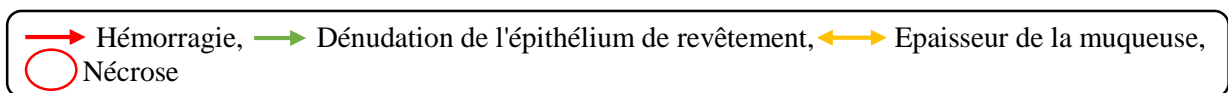


Figure 33. Coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des tissus intestinaux (X100) : (T) : Témoin (DCF) : traité par le diclofénac seul (DCF+HESO) : prétraités par les huiles essentielles (DCF+EMSO) : prétraités par et l'extrait méthanolique (DCF+Rx) : prétraités par ranitex.



Au niveau intestinal, l'intestin du témoin a révélé une architecture normale et saine (T). Cependant, l'examen histopathologique des intestins du groupe traité par le diclofénac a montré des dommages sévères : réduction de l'épaisseur de la muqueuse (la flèche jaune), une dénudation de l'épithélium de revêtement (la flèche verte), des associées à des changements dégénératifs ou nécroses (le cercle rouge) (DCF).

Par contre, le prétraitement par l'extrait méthanolique à 50 mg/kg (DCF+EMSO), et les huiles essentielles (DFC+HESO) à 50 mg/kg ou ranitex (E) a offert une atténuation considérable de ces anomalies avec conservation de l'épaisseur de la muqueuse intestinale. Dans le tissu prétraité par Ranitex (DCF+Rx) des foyers nécrotiques persistent.

Ces résultats montrent clairement l'effet protecteur de *Salvia officinalis* L. Elle présente une activité anti-radicalaire, anti-inflammatoire et un bon effet gastropsecteur et anti-ulcérogène contre l'ulcère gastrique induit par le Diclofenac.



*Conclusion et
Perspectives*

Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'effet anti-oxydant, anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des extraits et des huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*, et a montré que ces extraits sont doués d'un fort potentiel anti-oxydant, anti-inflammatoire et anti-ulcéreux, ce qui justifie son usage traditionnel. De cette étude nous pouvons ressortir les points suivants :

L'étude phytochimique a montré que les extraits méthanolique et aqueux sont riches en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés.

- L'évaluation quantitative des composés polyphénoliques a révélé la présence de quantités importantes de flavonoïde dans l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique dépassants les 250 mg/g. Le taux de tanins condensés est de 25.844 mg/g et 36.816 mg/g pour l'extrait aqueux et méthanolique respectivement.
- Sur le volet chimique, l'analyse CG-MS a identifié 35 composés dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* et 15 composés dans l'extrait méthanolique.
- L'huile essentielle comporte: Eucalyptol, Camphene, beta.-Myrcene, Borneol, (+)-4-Carene, Thujone, Pinocamphone, α -Terpinene, Myrtenol.
- Parmi les composants de l'extrait méthanolique : β -Thujone, Eucalyptol, Caryophyllene, Isoborneol, α -Thujone, Cycloheptane, camphore.

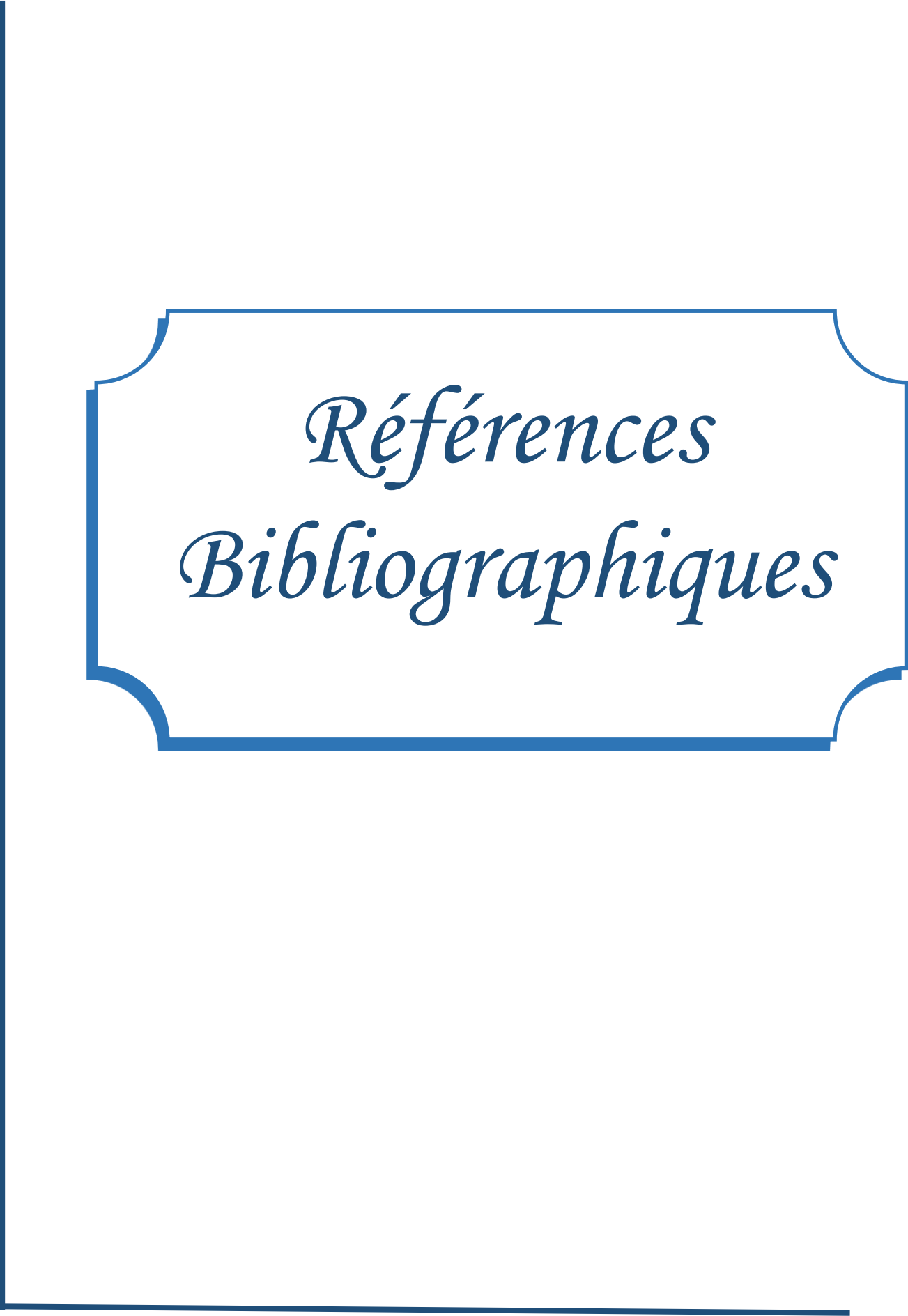
L'évaluation de l'activité anti-oxydante : a montré que nos extraits présentent des propriétés anti-radicalaires concentration dépendante et plus puissantes que celle de l'acide ascorbique, déterminé par les tests : DPPH[°], FRAP, OH[°], ABTS^{°+} et H₂O₂.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire : a montré que nos extraits présentent une forte activité anti-inflammatoire *via* l'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) et l'inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine au niveau de la patte chez les souris, et donnent un effet préventif plus puissant que celui du diclofenac.

L'évaluation de l'effet anti-ulcérogène : a montré que l'extrait méthanolique et les huiles essentielles à la dose de 50 mg/kg montrent un effet anti-ulcérogène très puissant contre l'ulcère gastroduodéal induit par le diclofénac chez la souris. Ils préviennent les lésions gastriques provoquées par le diclofenac, améliorent la production du mucus et renforcent les capacités anti-oxydantes enzymatiques (CAT, SOD, GPx et GST) et non enzymatiques (GSH) responsables de l'inhibition de la peroxydation lipidique et la réduction des dommages gastroduodéaux causés par le diclofénac.

Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail contient des molécules chimiques très intéressantes qui peuvent être purifiées et employées pour la prévention de l'ulcère gastroduodéal et pour d'autres applications thérapeutiques. L'extrait de la sauge constituerait donc une source avantageuse de médicament traditionnelle, très accessible et qui reviendrait moins cher aux populations.

Avec peu de moyens mis à notre disposition nous avons fourni ce modeste travail qui nécessite des études supplémentaires pour mieux élucider les mécanismes moléculaires impliqués dans l'effet anti-inflammatoire et anti-ulcérogène de nos extraits.



*Références
Bibliographiques*

~A~

1. **Abad, NAA, Nouri, MHK, Tavakkoli F. 2011.** Effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on vincristine-induced neuropathy in mice. *Chin J Nat Med.* 9: 354e358.
2. **Abadi, SS, Moin A, Veerabhadrapa GH. 2016.** Review Article: Fabricated Microparticles: An Innovative Method to Minimize the Side Effects of NSAIDs in Arthritis. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 33(5):433-488.
3. **Abdelkader, M., Ahcen, B., Rachid, D. et Hakim, H. 2014.** Phytochemical study and biological activity of sage (*Salvia officinalis* L.). *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(11), 1231-1235.
4. **Abu-Darwish, M., Cabral, C., Ferreira, I., Gonçalves, M., Cavaleiro, C., Cruz, M., Salgueiro, L. 2013.** Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: assessment of safety in mammalian cells and its antifungal and anti-inflammatory potential. *BioMed research international.*
5. **Ajaikumar, KB, Asheef M, Babu BH, Padikkala J. 2005.** The inhibition of gastric mucosal injury by *Punicagranatum* L. (pomegranate) methanolic extract. *J Ethnopharmacol.* 4; 96(1-2):171-6.
6. **Alhakmani, F., Kumar, S et Khan, S. A. 2013.** Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine.* Vol.3, N°.8, pp.623-627.
7. **Alihosseini, F. 2016.** "Plant-based compounds for antimicrobial textiles, antimicrobial textiles". Woodhead Publishing. 155-195.
8. **Alloun, K. 2013.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.). Thèse de doctorat.
9. **Aloui, Z., Messaoud, C., Haoues, M., Neffati, N., Bassoumi Jamoussi, I., Essafi-Benkhadir, K. & Karoui, H. 2016.** Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* essential oils trigger apoptosis and cell cycle arrest in *Leishmania infantum* promastigotes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*
10. **Altindal, D., et Altindal, N. 2016.** Sage (*Salvia officinalis*) Oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety.* Academic Press.
11. **Al-Mijalli, SH, Assaggaf H, Qasem A, El-Shemi AG, Abdallah EM, Mrabti HN, Bouyahya A. 2022.** Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. *Adv Pharmacol Pharm Sci.* Jun 15; 2022:2844880.
12. **Amiour, S. D., Alloui-Lombarkia, O., Bouhdjila, F., Ayachi, A., et Hambaba, L. 2014.** Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 12(2), 135-142.
13. **Ancerewicz, J., Migliavacca, E., Carrupt, P. A., Testa, B., Brée, F., Zini, R., ... & Le Ridant, A.1998.** Structure–property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(1), 113-120.

14. **Arpino, P. 2015.** Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse II. Research Gate. p.1491 – 3.
15. **Asfaw, A, Lulekal E, Bekele T, Debella A, Debebe E, Sisay B. 2022.** Medicinal plants used to treat livestock ailments in Ensaro District, North Shewa Zone, Amhara Regional State, Ethiopia. BMC Vet Res. 22; 18(1):235.
16. **Aslankoç, R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Savran EŞ, Yılmaz B. 2019.** The Role Of Antioxidant Enzymes İn Oxidative Stress - Superoxide Dismutase (Sod), Catalase (Cat) And Glutathione Peroxidase (Gpx). Med J SDU; 26(3): 362-369.
17. **A'cimović, M.; Pezo, L.; Cabarkapa, I.; Trudić, A.; Stanković ~ Jeremić, J.; Varga, A.; Lončar, B.; Šovljanski, O.; Tešević, V. 2022.** Variation of *Salvia officinalis* L. Essential Oil and Hydrolate Composition and Their Antimicrobial Activity. Processes.

~B~

18. **Bafna, PA et Balaraman, R. 2004.** Anti-ulcer and antioxidant activity of DHC-1, a herbal formulation. Journal of ethnopharmacology. 90:123-127.
19. **Bahadoran, S, Teymouri Y, Hassanpour H, Mohebbi A, Akbari MR. 2022.** Effect of sage (*Salvia officinalis* L.) extract in antioxidant status and intestinal morphology of pulmonary hypertensive chickens. Vet Med Sci.11. doi: 10.1002/vms3.804.
20. **Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., et Zupancic, A. 2001.** Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. Journal of ethnopharmacology, 75(2-3), 125-132.
21. **Barkat, M et Laib, I. 2011.** Composition chimique et activite antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Vol.6, pp.46-54.
22. **Barnig, C. 2016.** Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique. Revue Française d'Allergologie, 56(1), 38–42.
23. **Barros, MP., Lemos M., Maistro EL., Leite MF., Sousa JP., Bastos JK et Andrade SF. 2008.** Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian green propolis. Journal of Ethnopharmacology.120: 372-377.
24. **Barton, G. M. 2008.** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. The Journal of clinical investigation, 118(2), 413-420.
25. **Bassène, ML, Diouf ML, Dia D, Mbengue M, Halim A, Diallo S, Thioubou MA, Cissé MM.2012.** La ligature élastique des varices œsophagiennes à Dakar (Sénégal) [Esophageal variceal band ligation in Dakar, Senegal]. Med Sante Trop. Apr-Jun;22(2):166-9. French.
26. **Bedwell, DM, Strobel SA, Yun K, Jongeward GD, Emr SD. 1989.** Sequence and structural requirements of a mitochondrial protein import signal defined by saturation cassette mutagenesis. Mol Cell Biol.9(3):1014-25.

27. **Behradmanesh, S, Derees F, Rafieian-Kopaei M. 2013.** Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J Renal Inj Prev.* 2(2):51-4. doi: 10.12861/jrip. 18. PMID: 25340127; PMCID: PMC4206016.
28. **Belge, C, Quarck R, Delcroix M. 2016.** Letter by Belge et al Regarding Article, "Mitomycin-Induced Pulmonary Veno-Occlusive Disease: Evidence From Human Disease and Animal Models". *Circulation.* Apr 5;133(14):e591.
29. **Bendif, H. 2017.** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiacée: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanussubsp. Coloratus* (Boiss. et Reut.) Greuter et Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord et Fourr, thèse de doctorat, l'école normale supérieure de KOUBA-Alger, département des sciences naturelles, biotechnologie végétale, P. 26.
30. **Benjilali, B. 2005.** Le matériel végétal et l'extraction. In : *Huiles essentielles, de la plante à l'extraction. Manuel pratique.* Edition université de Québec à Chicoutimi, 61-78p.
31. **Ben khedher, M, R., Hammami, M., Arch; J., Hislop, D.C., Eze, D., Wargent , E.T., Képczynska, M.a., Zaibi, M.S. 2018.** Preventive effects of *Salvia officinalis* leaf extract on insulin resistance and inflammation in a model of high fat diet-induced obesity in mice that responds to rosiglitazone. *Peer J*, 6, e4166.
32. **Ben khedher, M, S, Ben khedher, Ikbal chaieb, Slim Tounsi, and Mohamed Hammami. EXCLI J. 2017.** Chemical composition and biological activities of *salvia officinalis* essential oil from tunisia. *EXCLI Journal.* 16 : 160-173-ISSN1611-2156.
33. **Bidmeshkipour A., Keshavarz M., Mostafaie A., Mansouri K. & Mohammadi- Motlagh H.R. 2011.** Antitumor activity of *Salvia officinalis* is due to its anti- angiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. *Cell J.*12: 477-
34. **Boccellato, F., Woelffling S., Matsushima A L., Sanchez G., Goosmann C., Schmid M., Berger H., Morey P., Denecke C., Ordemann J et Meyer T. 2018.** Polarised epithelial monolayers of the gastric mucosa reveal insights into mucosal homeostasis and defence against infection. *British Society of Gastroenterology.* p.1-14.
35. **Bommer, S, Klein P, Suter. 2011.** A First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes. *Adv Ther.* 28(6) :490-500.
36. **Bonnaille, C., Salacs M., Vassilova E et Saykova I. 2012.** Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir des pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L). *Revue de génie industriel.* 7 : 35-45.
37. **Bony, E. 2010.** Composition chimique et propriétés anti-inflammatoires de l'huile de pulpe d'awara (*astrocaryumvulgare* m.). Thèse de doctorat, Université Montpellier 2, Sciences et Techniques du Languedoc, France. 236.
38. **Botineau, M. 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Lavoisier, Paris, 1043 P.
39. **Bouhekrit, M. 2018.** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. Et *Margotia gummifera* (Desf.) Lange. Thèse Doctorat en Sciences. Spécialité: biologie végétale.
40. **Boufadi, MY, Keddari S, Moulai-Hacene F, Chaa S. 2021.** Chemical Composition, Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Salvia Officinalis* Extract from Algeria. *Pharmacog J.* 13(2): 506-15.

41. **Boulanger, CM, Loyer X, Rautou PE, Amabile N. 2017.** Extracellular vesicles in coronary artery disease. *Nat Rev Cardiol.* May;14(5):259-272. doi: 10.1038/nrcardio.2017.7. Epub 2017 Feb 2. PMID: 28150804.
42. **Bounihi, A. 2016.** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées) (Doctoral dissertation).
43. **Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. 2010.** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*, 79, 141 –154.
44. **Bouterfas, K, Zoheir, M, Ali Latreche, Zouaoui Hazem et Nadia Bouredja. 2013.** Quantification of some polyphenols of *Marrubium vulgare* L. of Tessala mount (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods, les technologies de laboratoire -, volume 8, n°31.
45. **Bradford, MM. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry.*72: 248-254.
46. **Brunetou.J. 1999.** Pharmacognosies : Phytochimie. Plantes médicinales. Ed. TEC et Doc. Paris, 239-243.
47. **Bule, M., Khan, F., Nisar, M. F., et Niaz, K. 2020.** Tannins (hydrolysable tannins, condensed tannins, phlorotannins, flavono-ellagitannins). *Analysis of polyphenolics*, 132-146.



48. **Cazzola, C., Doublet C. 2015.** Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle. Rapport pour huiles essentielles, projet de l'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen (INSA). 13-14p.
49. **Chatter, Riahi SR., Tarhouni et Kharrat R. 2013.** Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranéenne. *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*. p.19-28.
50. **Chen, H., Liao, H., Liu, Y., Zheng, Y., Wu, X., Su, Z., et Su, Z. 2015.** Protective effects of pogostone from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*, vol.100, pp.110-117.
51. **Chen, L., Deng H., Cui H., Fang J., Zuo Z., Deng J and Zhao L. 2018.** Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 9(6): 7204-7218.
52. **Chen, X., Xi, X., Pizzi, A., Fredon, E., Zhou, X., Li, J., et Du, G. 2020.** Preparation and Characterization of Condensed Tannin Non-Isocyanate Polyurethane (NIPU) Rigid Foams by Ambient Temperature Blowing. *Polymers*, 12(4), 750-752.
53. **Claiborne, A. 1985.** Catalase activity. Dans : *CRC Handbook of methods for oxygen radical research.* Édition Greenwald R.A. p. 283-284.

54. **Cuvelier, ME, Richard H, Berset C. 1996.** Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J Am Oil Chemists' Soc.*73:645e652.

~D~

55. **Dewanto, V., Wu X., Adomk KK et Liu RH. 2002.** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50 : 3010-3014.
56. **Dirosa, M. 1972.** Biological properties of carrageenan. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 24: 89-102.
57. **Duraffourd, C., Lapraz J C. 2002.** *Traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine*, Masson, Paris.
58. **Dutartre, P. 2016.** Inflammasomes and natural ingredients towards new anti-inflammatory agents. *Molecules;* 21(11): 1492.

~E~

59. **Eidi, M, Eidi A, Zamanizadeh H. 2005.** Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 14; 100(3):310-3.
60. **El Hadri A., del Río M.A.G, Sanz J., et al. 2010.** Cytotoxic activity of a - humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. *An R Acad Nac Farm.* 76: 343-356.
61. **Elhenawy, W., Tsai C. N., etCoombes B. K. 2019.** Host-specific adaptive diversification of Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli*. *Cell host et microbe.* 25(2):301-312.
62. **Elgayed, SH, Afify EA, Amin HA, Abdellatif AAH. 2021.** Estrogenic Effect of *Salvia officinalis* Extract on Reproductive Function of Female Mice and Identification of Its Phenolic Content. *Comb Chem High Throughput Screen.* 24(10):1654-1663.
63. **Ellman GL. 1959.** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics.* 82: 70-77.
64. **El-Feky, A. M., Aboulthana, W. M. 2016.** *Etudes Phytochimiques et biologiques de sage (Salvia Officinalis.L).*

~F~

65. **Fellah, S. et Romdhane, Mehrez & Abderrabba, Manef. 2006.** Extraction et etude des huiles essentielles de la *salvia officinalis*.l cueillie dans deux regions differentes de la tunisie. *J. Soc. Alger. Chim.* 16.

66. **Fang W., Lin X., Wang J., Liu Y., Tao H., & Zhou X. 2016.** Asperpyrone-type bis-naphthoy-pyrones with COX-2-inhibitory activities from marine-derived fungus *Aspergillus niger*. *Molecules*, 21(7): 941.
67. **Farias, JHC., Reis AS., Araujo MAR et Araujo MJMA. 2014.** Effects of stingless bee propolis on experimental asthma. *Evidence- Based Complementary Alternative Medicine*. p. 2-3.
68. **Flohé, L et Günzler WA. 1984.** Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*105: 114-121.
69. **Foe, F.M.C.N., Tchingang T.F.K., Nyegue A.M., Abdou J.P., Yaya A.J.G., Tchinda A.T., Oyono Essame J.L and Etoa F.X. 2016.** Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16(1): 1-12.
70. **Frohne, D., Pfander H., Anton R, 2009.** Plantes à risques. Ed., Lavoisier, Paris, 244 p.

~G~

71. **Gantner, M., Brodowska, M., Górska-Horczyzak, E., Wojtasik-Kalinowska, I., Najda, A., Pogorzelska, E., et Godziszewska, J. 2018.** Antioxidant effect of sage (*Salvia officinalis* L.) extract on turkey meatballs packed in cold modified atmosphere. *CyTA Journal of Food*, 16(1), 628-636.
72. **Garcia C.S.C., Menti C., Lambert A.P.F., et al. 2016.** Pharmacological perspectives from Brazilian *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidant, and antitumor in mammalian cells. *An Acad Bras Ciências*. 88: 281-292.
73. **Ghorbani, A., Esmailizadeh, M. 2017.** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*.
74. **Giera, M. H. Lingeman W. M. A. 2012.** Niessen, 87 Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview, *BioMolecular Analysis*, VU University Amsterdam, De Boelelaan 1083, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands.
75. **Graval, S.P. 2010.** Rôles des kinases IKK et IKK-related dans les maladies inflammatoires chroniques ; implications dans l'athérosclérose.
76. **Grzegorzczak, I., Matkowski, A et Wysokińska, H. 2007.** Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*. Vol.104, N°2, pp.536-541.

~H~

77. **Habig, WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974.** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 25;249(22):7130-9. PMID: 4436300.
78. **Hadjila, A. 2016.** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydant de l'extrait de *Salvia officinalis* (sauge). Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en agronomie. Univ. Tlemcen, PP.72.
79. **Hajjaj, G. 2017.** Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de l'*ormenis mixta* l. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V. Maroc. 216.

80. **Hamidpour, M. R. S., Shahlari, M. 2014.** Chemistry, Pharmacology, and Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. Vol.4, N°2, pp.82–88.
81. **Hamrouni-Sellami, I., Rahali, F. Z., Rebey, I. B., Bourgou, S., Limam, F., et Marzouk, B. 2013.** Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) plants as affected by different drying methods. Food and Bioprocess Technology, 6(3), 806-817.
82. **Hannoodee, S., et Nasuruddin, D. N. 2020.** Acute Inflammatory Response. In Stat Pearls [Internet]. Stat Pearls Publishing.
83. **Hassan, S. T., Švajdlenka, E., Rengasamy, K. R., Melichárková, R., et Pandian, S. K. 2019.** The metabolic profile of essential oils and assessment of anti-urease activity by ESI-mass spectrometry of *Salvia officinalis* L. South African Journal of Botany, 120, 175-178.
84. **Havsteen, H.B. 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids.
85. **Hebi M et Eddouks M. 2016.** Evaluation de l'activité anti-oxydante de *Stevia rebaudiana*. Phytothérapie. 14: 17-22.
86. **Henneh, I. T., Akrofi, R., Ameyaw, E. O., Konja, D., Owusu, G., Abane, B., et Tayman, F. 2018.** Stem Bark Extract of *Sterculia setigera* Delile Exhibits Anti-inflammatory Properties through Membrane Stabilization, Inhibition of Protein Denaturation and Prostaglandin E2 Activity. Journal of Pharmaceutical Research International, 1-11.
87. **Hmidani, A., Bouhlali, E. D. T., Khouya, T., Ramchoun, M., Filali-Zegzouti, Y., Alem, C., et Benlyas, M. 2019.** Antioxidant, anti-inflammatory and anticoagulant activities of three *Thymus* species grown in southeastern Morocco. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 5(1), 4.
88. **Horiuchi K, Shiota S, Hatano T, Yoshida T, Kuroda T, Tsuchiya T. 2007.** Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci. Biol Pharm Bull. 30:1147-1149.
89. **Hubbert M, Sievers H, Lehnfeld R, Kehrl W. 2006.** Efficacy and tolerability of a spray with *Salvia officinalis* in the treatment of acute pharyngitis - a randomised, double-blind, placebo-controlled study with adaptive design and interim analysis. European Journal of Medical Research. Jan; 11(1):20-26. PMID: 16504956.

~J~

90. **Jakovljevi, M., Joki, S., Molnar, M., Jaši, M., Babi, J., Juki, H and Banjari, I. 2019.** Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations. Plants. 8, 55 : p 3 of 30.
91. **Jedidi S., Loui F., Selmi H., rtibi1 K., dallali S., abbes C., Sebai H. 2018.** Enquête ethnobotanique sur l'utilisation traditionnelle de la sauge officinale (*Salvia officinalis* L) dans les régions de Tabarka et Ain Draham (Nord-Ouest de la Tunisie). Volume CIRS (18). Published April, 01, 2018 www.jnsciences.org E-ISSN 2286-5314.
92. **Jedidi S, Aloui F, Selmi S, Selmi H, Sammari H, Ayari A, Abbes C, Sebai H. 2022.** Antioxidant Properties of *Salvia officinalis* Decoction Extract and Mechanism of Its Protective Effects on Ethanol-Induced Liver and Kidney Injuries. J Med Food. 25(5):546-556.

93. **Jedidi S, Rtibi K, Aloui F, Sammari H, Selmi H, Rejeb A, et al. 2020.** Individual and synergistic protective properties of *Salvia officinalis* decoction extract and sulfasalazine against ethanol-induced gastric and small bowel injuries. *RSC Adv.* 2020; 59(10):35998-36013.
94. **Jedidi S, Rtibi K, Selmi S, Aloui F, Selmi H, Wannes D, et al. 2019.** Phytochemical/antioxidant properties and individual/synergistic actions of *Salvia officinalis* L. aqueous extract and loperamide on gastrointestinal altering motor function. *J Med Food.* 2019; 22(12):1235-1245.
95. **Jedidi S, Sammari H, Selmi H, Hosni K, Rtibi K, Aloui F, Adouni O, Sebai H. 2021.** Strong protective effects of *salvia officinalis* L, leaves decoction extract against acetic acid-induced ulcerative colitis and metabolic disorders in rat. *J Funct Foods* 2021 ;79 : 104406.
96. **John K.K., Shcherazade D.O.S.F. 2021.** Activité Anti-inflammatoire Et Études Phytochimiques De L'extrait Aqueux Des Écorces *Distemonanthus Benthamianus* Baill. (Caesalpiniaceae: Leguminosae-Caesalpinioideae). *European scientific Journal.* 17(7):74-93.
97. **Joubert, P. 2019.** Macéré, infusions, décoctions. Préparations biodynamiques pour le jardin et pour le potager. Bruno Del Medico Editeur.
98. **Juárez. N, Bach H, Sánchez-arreola E, bach H, hernández L. 2016.** Protective antifungal activity of essential oils extracted from *Buddleja perfoliata* and *Pelargonium graveolens* against fungi isolated from stored grains. *J Appl Microbiol.* Vol. 120(5):1264-70P.

~K~

99. **Kandil .O, Radwan .N. M, Hassan .A. B, Amer .A. M. M, El-Banna .H. A, and Amer .W. M. M. 1994.** "Extracts and fractions of *tymus capitatus* exhibit antimicrobial activities," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 44, no. 1, pp. 19–24.
100. **Kar, B., Kumar, R. S., Karmakar, I., Dola, N., Bala, A., Mazumder, U. K et Hadar, P. K. 2012.** Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* Vol.2, N°2, pp.976-980.
101. **Karoui, A., Allouche, F., Deghrigue, M., Agrebi, A., Bouraoui, A., et Chabchoub, F. 2014.** Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazolopyrimidine derivatives: anti-inflammatory agents with gastroprotective effect in rat. *Medicinal Chemistry Research*, vol.23, no.3, pp. 1591-1598.
102. **Kebsa W. 2006.** Effet de la propolis Algérienne sur le stress oxydatif mitochondrial. Thèse de magister. Mohamed Sedik Ben Yahia-Jijel. p.128-132.
103. **Keshavarz M., Mostafaie A., Mansouri K., Bidmeshkipour A., Motlagh H.R. & Parvaneh S. 2010.** In vitro and ex vivo antiangiogenic activity of *Salvia officinalis*. *Phytother Res.* 24: 1526-1531.
104. **Khan RA, Khan MR, Sahreen S, Ahmed M. 2012.** Assessment of flavonoids contents and in vitro antioxidant activity of *Launaea procumbens*. *Chem Cent J.* 2012;6(1):43.
105. **Khirdine, H. 2013.** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. thèse magister. Université M^h Hamed Bougara. p : 11-13.

106. **Khiya, Z., Hayani, M., Gamar, A., Kharchouf, S., Amine, S., Berrekhis, F., et El Hilali, F. 2019.** Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition. *Journal of King Saud University-Science*, 31(3), 322-335.
107. **Kianbakht S, Abasi B, Hashem Dabaghian F. 2014.** Amélioration du profil lipidique chez les patients hyperlipidémiques prenant de l'extrait hydroalcoolique de fruit de *Vaccinium arctostaphylos* : un essai clinique randomisé en double aveugle contrôlé par placebo. *Phytother Res.*28(3):432-6.
108. **Kiel. M. 2004.** Chimie organique, De Boeck, Paris.
109. **Koechlin-Ramonatxo, C. 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
110. **Kontogianni VG, Tomic G, Nikolic I, et al. 2013.** Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chem.* 136:120e129.
111. **Kozics K, Klusov_a V, Sran_cikov_a A, et al. 2013.** Effects of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* on oxidant-induced DNA damage and antioxidant status in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol.* 141:2198e2206.



112. **Lacour, B. et Belon, J.P. 2015.** Physiologie. Edition Elsevier Masson, France ISBN : 978-2.
113. **Lahrech K. 2010.** Extraction et analyse des huiles essentielles de menthe pulegium L. et saccocalycs satureioide. Teste d'activité antibactérienne et antifongique .121 p.
114. **Lakhdar L. 2015.** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro) thèse de doctorat. P : 163.
115. **Latruffe, N. 2017.** Natural products and inflammation. *Molecules*, 22(1), 120.
116. **Laušević Sonja Duletić, Ana Alimpić, Danica Pavlović, Petar D. Marin, Dmtar Lakušić. 2016.** *Salvia officinalis* of different origins Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of extracts, *Agro FOOD Industry Hi Tech* - vol. 27(1).
117. **Liang Y.Y., Wan X.H., Niu F.J., Xie S.M., Guo H., Yang Y.Y., Guo L.Y., Zhou C.Z. 2020.** *Salvia plebeia* R. Br.: an overview about its traditional uses, chemical constituents, pharmacology and modern applications. *Biomed. Pharmacother.* 121:109589.
118. **Liberale L, Badimon L, Montecucco F, Lüscher TF, Libby P, Camici GG. 2022.** Inflammation, Aging, and Cardiovascular Disease: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* Mar 1;79(8):837-847.
119. **Liddle I, Glass M, Tyndall JDA, Vernall AJ. 2022.** Covalent cannabinoid receptor ligands - structural insight and selectivity challenges. *RSC Med Chem.* Apr 4; 13(5):497-510.
120. **Li. L, pan. Q, Han. W, Lui. Z., Hu. X. 2007.** Schisandrin B prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity via enhancing glutathione redox cycling. *Clin cancer Res*, 13, 6753-6760.

121. **Lima, C. F., Valentao, P. C., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M et Pereira-Wilson, C. 2007.** Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-biological interactions*. Vol.167, N°2, pp.107-115.
122. **Lopresti, A. L. 2017.** *Salvia* (sage): a review of its potential cognitive-enhancing and protective effects. *Drugs in RetD*, 17(1), 53-64.

~M~

123. **Main IHM et Whittle BJR. 1975.** Investigation of the vasodilator and antisecretory role of prostaglandins in the rat gastric mucosa by use of non-steroidal antiinflammatory drugs. *British Journal of Pharmacology*. 53: 217-224.
124. **Margetts G, Kleidonas S, Zaibi NS, Zaibi MS, Edwards KD. 2022.** Evidence for anti-inflammatory effects and modulation of neurotransmitter metabolism by *Salvia officinalis* L. *BMC Complement Med Ther*. May 12; 22(1):131.
125. **Marklund S et Marklund G. 1974.** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*. 47: 469-474.
126. **Martin R, Pohlers S, Mühlshlegel FA, Kurzai O. 2017.** CO₂ sensing in fungi: at the heart of metabolic signaling. *Curr Genet*. 63(6):965-972.
127. **Martins, J.L.R., Rodrigues, O.R.L., Silva, D.M., Galdino, P.M., De Paula, J.R., Romão, W., Costa, H.B., Vaz, B.G., Ghedini, P.C. et COSTA, E.A. 2014.** Mechanisms involved in the Mnayer D. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Université d'Avignon et des pays de vaucluse. Ed 536-sciences et agrosociences.
128. **Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., et Ferreira, I. C. 2015.** Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food chemistry*, 170, 378-385.
129. **Mao YM, Zhao CN, Leng J, Leng RX, Ye DQ, Zheng SG, Pan HF. 2018.** Interleukin-13: A promising therapeutic target for autoimmune disease. *Cytokine Growth Factor Rev*; 45:9-23.
130. **Mayer Bárbara, Cristiane H B, Cristina S F, Ana C d S, A T, Heros H, Moacir G P, Gustavo A M, Melina H, Élide P d S, Michel F O, Maria C A. 2009.** Marques, Gastroprotective constituents of *Salvia officinalis* L., *Fitoterapia*, Volume 80, Issue 7.
131. **Medzhitov, R. 2010.** Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
132. **Mehmood A., Hamid I., Sharif A., Akhtar MF., Akhtar B., Saleem A., Iqbal J., Shabbir M et Ali S. 2016.** Evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of aqueous and ethanolic extracts of seeds of *Buchanania Lanzas Spreng*, in animal models. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 73: 1601-1608.
133. **Mekhaldi, A., Bouznad, A., Djibaoui, R et Hamoum, H. 2014.** Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. Vol.8, N°11.

134. **Mezdour H., Hanfer M., Menad A et Ameddah S. 2017.** Rôle du stress oxydant dans l'apparition des lésions muqueuses gastriques. *Batna Journal of Medical Sciences évolue.* 4: 145-148.
135. **Mole S. and Waterman P.G. 1987.** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II, Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia*, 72, 148-156.
136. **Morris CJ. 2003.** Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods in Molecular Biology.* 225: 115-121.

~N~

137. **Ngege T., Domgnim E., Talla E., Vernyuy T., Mbafor T., Popova M et Bankova V. 2016.** Chemical Constituents and Anti-ulcer Activity of propolis from the North-West Region of Cameroon. *Research journal of phytochemistry.*10: 45-57.
138. **Nighat S, Farhan A, Huma N, Nawab S, Arif Z, Azhar H, Ali A and MirzaT. 2013.** An Overview of Analytical Determination of Diltiazem, Cimetidine, Ranitidine and Famotidine by UV Spectrophotometry and HPLC Technique, *Journal of Chemistry.*
139. **Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.*74(4):418-25.
140. **Nostro .A, M. P. Germano, V. D'Angelo, A. Marino, and M. A. Cannatelli. 2000.** "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 30, no. 5, pp. 379–384.

~O~

141. **Oberdiaca, P., et Mineur, L. 2010.** Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains : L'estomac. *Cancer/Radiothérapie*, vol.14, P.336–339.
142. **Ocasio GA, Woolf A, Haddad LM. 2022.** Duodenal Ulcer (Nursing) In: *Stat Pearls.* Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; PMID: 33760437.
143. **Ohkawa H., Ohishi N et Yagi K. 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.* 95: 351-358.
144. **Okin D and Medzhitov R. 2012.** Evolution of inflammatory diseases. *Current biology.* 22(17):733-740.
145. **Olajide OA., Awe SO., Makinde JM., Ekhelar AI., Olusola A., Morebise O et Okpako DT. 2000.** Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Alstonia boonei* stem bark. *Journal of Ethnopharmacology.* 71(1-2): 179-186.
146. **Osman N, Mangera A, Hillary C, Inman R, Chapple C. 2016.** La vessie sous-active : détection et diagnostic. *F1000 Rés.* Jan 25; 5: F1000 Faculté Rev-102.
147. **Oussala M., Caill S., Saucier L., Lacroix M. 2006.** Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from Meat Science, 236-244.

~P~

148. **Pahwa R, Goyal A, Jialal I. 2020.** Inflammation chronique.
149. **Pahwa R, Goyal A, Jialal I. 2022.** Chronic Inflammation.
150. **Paje LA, Choi J, Lee HD, Kim J, Yu AR, Bae MJ, Geraldino PJJ. 2022.** Lee S. Phenolic acids and flavonoids from *Salvia plebeia* and HPLC-UV profiling of four *Salvia* species. *Heliyon*. 4; 8(3):e09046.
151. **Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Patil, C. R. 2019.** Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4367.
152. **Pedro D.F., Ramos A.A., Lima C.F., Baltazar F. et Pereira-Wilson C. 2016.** Chimio prévention du cancer du côlon par la consommation de thé à la sauge: diminution des dommages à l'ADN et de la prolifération cellulaire. *Phytother Vol. 30*: 298-305p.
153. **Pereira-Leite C., Nunes C., Jamal SK., Cuccovia IM et Reis S. 2016.** Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy: A Journey Toward Safety. *Medicinal Research Reviews*. 37(4): 802–859.
154. **Perlemuter, G., et Perlemuter, L. 2020.** Guide pratique infirmier. Elsevier Masson.
155. **Perlemuter G., Perlemuter L., Pitard L et Quevauvilliers J. 2011.** Antiinflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. In : *Pharmacologie et thérapeutiques*. Edition Elsevier Masson. Italie. Pp. 133-134.
156. **Perry, A J., Baxter, N J., Brennan, J W., Van Klin J. 1996.** *Flavour Frag.* 11, 213.
157. **Pinhasov A. & Kirby M. 2022.** Linking stress and inflammation – is there a missing piece in the puzzle, *Expert Review of Clinical Immunology*, 18:4, 321-323.
158. **Poyrazoglu E., Gökmen V et Artk N. 2002.** Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punicagranatum L.*) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15: 567–575.

~R~

159. **Radulescu, V., Silvia C et 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.
160. **Rakesh P et Shilpa S et Vipin K and Kanchan Kohli. 2016.** Ranitidine hydrochloride: An update on analytical, clinical and pharmacological aspect, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 8(7):70-78.
161. **Rathinam V.A and Fitzgerald K.A. 2016.** Inflammasome complexes: Emerging mechanisms and effector functions. *CellPress*. 165(4): 792–800.h
162. **Richard C Strange, Monica A Spiteri, Sudarshan Ramachandran, Anthony A Fryer. 2001.** Glutathione-S-transferase family of enzymes, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Volume 482, Issues 1–2.

163. **Rodolfo, J., Koroch, A., Simon, J., Hitimana, N. 2006.** Qualité des huiles de géranium: études de cas dans le sud et l'est de l'Afrique. *Journal de recherche sur les huiles essentielles*, septembre-octobre.
164. **Rohleder N. 2019.** Stress and inflammation - The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. *Psychoneuroendocrinology*.105:164–171.
165. **Rombi M., Robert D. 2007.** « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpem 09, avenue Albert II Mc- 98000 MONACO, 225-227.
166. **Rombi, M., Robert, D., Guedon, D., Rosier-Sala, C. and Renzacci, E. 2015.** Le dictionnaire des plantes médicinales. Monaco : Éd. Alpen.
167. **Rozza AL., Hiruma-Lima CA., Tanimoto A et Pellizzon CH. 2012.** Mophologic and Pharmacological Investigations in the Epicatechin Gastroprotective Effect. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. p. 8.
168. **Rozza, A.L., Hiruma-Lima, C.A., Takahira, R.K., Padovani, C.R., Pellizzon, C.H. 2013.** Effect of menthol in experimentally induced ulcers: Pathways of gastroprotection. *Chemicobiological inter*, 206 (2), 272–278.
169. **Ruch R.J, Cheng S.J et Klaunig J.E. 1989.** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10(6): 1003-1008.
170. **Russo A., Formisano C., Rigano D., et al. 2013.** Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food ChemToxicol*. 55: 42-47.
171. **Ryan MT., Muller H et Pfanner N. 1999.** Functionalstaging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *The Journal of Biological Chemistry*. 274 (29): 20619-20627.

~S~

172. **Sabry MM, Abdel-Rahman RF, El-Shenawy SM, Hassan AM, El-Gayed SH. 2022.** Estrogenic activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) aerial parts and its isolated ferulic acid in immature ovariectomized female rats. *J Ethnopharmacol*. 10; 282:114579.
173. **Saiah W., Halzoune H., Djaziri R., Tabani K., Koceir EA et Omari N. 2017.** Antioxidant and gastroprotective actions of butanol fraction of *Zingiber officinale* against diclofenac sodiuminduced gastric damage in rats. *Journal of Food Biochemistry*.42: 1-12.
174. **Sanmugapriya E et Venkataraman S. 2006.** Studies of hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnospotatorum* linn. Seeds on CCl4 induced acute hepatic injury in experimental rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 105: 154 -160.
175. **Stepheniea S, Ying P C, Ashok G, Norhaizan M E, Charles G, 2020.** an insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement, a School of Biological Sciences, Faculty of Science and Technology, Quest International University Perak, Jalan Raja Permaisuri Bainun, 30250 Ipoh, Perak, Malaysia, *Journal of Functional Foods*.
176. **Sepasi Hessam Tehrani, Ali Akbar Moosavi-Movahedi. 2018.** Catalase and its mysteries, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, Volume 140.

177. **Serrano C, George S. 2020.** Gastrointestinal Stromal Tumor: Challenges and Opportunities for a New Decade. *Clin Cancer Res.* Oct 1; 26(19):5078-5085.
178. **Singleton VL et Rossi JA. 1965.** Indice de Folin, polyphenols totaux. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 16: 144-158.
179. **Shamnas, M., Kumar, R., et Teotia, U. V. S. 2014.** Antioxidant and Anti-inflammatory activity of methanol extract of *Salvia officinalis* flowers. *American Journal of PharmTech Research,* 4(2), 166-175.
180. **Sharma, Y., Fagan, J., et Schaefer, J. 2019.** Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *J Pharm Phytochem,* 8, 3139-48.
181. **Silbernalg S et Lang F. 2012.** Atlas de poche de pysiopathologie. 2ème Edition. Flammarion médecine science. Paris. p.156.
182. **Sivaraj, C., Nikhishaa-Sree, R. P., Arumugam, P et Gayathri,K. 2017.** Antiinflammatory, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Essential Oil Extracted from *Salvia officinalis* L. *World Journal of Pharmaceutical Sciences.* Vol.5, N°6, pp.257-263.
183. **Skoog DA., Holler FJ et Nieman TA. 2003.** Principes d'analyse instrumentale. 1ère Edition. De Boeck Université. p. 945.
184. **Søreide K., Thorsen K., M Harrison E., Bingener J., Møller M., Yeboah MO et Søreide J. 2015.** Perforated peptic ulcer. *Emergency surgery.* 2(386): 1288–98.
185. **Strayer D S MD, PhD et Rubin E, MD. 2015.** Rubin's Pathology. Clinicopathologic foundations of medicine. 7 ème Eds. London. Tokyo. P 57.
186. **Suzuki H., Iwasaki E. et Hibi T. 2009.** Helicobacter pylori and gastric cancer. *Gastric Cancer.* 12: 79–87.
187. **Swain T. and Hillis W.E. 1959.** The phenolics constituents of *Prunus domestica* -I- the quantitative analysis of phenolics constituents. *J. Sci. Food Agric.,* 10, 63-81.

~T~

188. **Tahir M, Gebremichael L, Beyene T, Van Damme P. 2021.** Ethnobotanical study of medicinal plants in Adwa District, Central Zone of Tigray Regional State, Northern Ethiopia. *J Ethnobiol Ethnomed.* 24; 17(1):71.
189. **Taiba I, Boumahart M, Boulifa A. 2017.** Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipurétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia officinalis* L. Université des Frères Mentouri Constantine, (99). Thèse de doctorat université Toulouse iii Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques.
190. **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J et Hilali, A. 2015.** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). Vol.6, N°4, pp.1111-1117.
191. **Talia F. Malik; Karthik Gnanapandithan; Kevin Singh. 2022.** Peptic Ulcer Disease. In: Stat Pearls. Stat Pearls Publishing; Island.

192. **Taofiq O., Martins A., Barreiro M.F and Ferreira I.C. 2016.** Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trends in Food Science and Technology*. 50: 193-210.
193. **Thanh T.B., Duc L.V., Thanh H.N and Tien V.N. 2017.** *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compounds of ethanol extract from *Sancheziaspeciosa* Leonard's leaves. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*. 28(1): 79-84.
194. **Tortora, G.J., et Derrickson, B. 2018.** Anatomie et physiologie. De Boeck supérieur.
195. **Toure, D. 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de Doctorat. Organic chemistry. Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire, French.
196. **Truong A, Zaghiyan K, Fleshner P. 2019.** Anorectal Crohn's Disease. *Surg Clin North Am*. 99(6):1151-1162.
197. **Tundis R, Leporini M, Bonesi M, Rovito S, Passalacqua NG. 2020.** *Salvia officinalis* L. d'Italie : Une étude chimique et biologique comparative de son huile essentielle dans le contexte méditerranéen. *Molécules*.25(24):5826.

~V~

198. **Vandi, D., Nga, E. N., Betti, J. L., Loe, G. M. E., Ottou, P. B. M., Priso, R. J. et Mpondo, E.M. 2016.** Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal et Plant Sciences*, 30(3), 4797-4814.
199. **Viuda-Martos M., Fernández-López J et Pérez-Álvarez JA. 2010.** Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health. *A Review Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9: 635–654.

~W~

200. **Walker, J B., Sytsma, K J., Treutlein, J., Wink, M. 2004.** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *Am. J. Bot.* 91, 1115–1125.
201. **Wang ML., Wang JT et Choong YM. 2004.** A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17: 187–196.
202. **Wang, Y.-C.; Lee, C.-M.; Lee, L.-C.; Tung, L.-C.; Hsieh-Li, H.-M.; Lee-Chen, G.-J.; Su, M.-T. 2011.** Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress Contribute to the Pathogenesis of Spinocerebellar Ataxia Type 12 (SCA12). *Journal of Biological Chemistry*, 286(24), 21742–21754.
203. **Wei J., Liu R., Hu X., Liang T., Zhou Z. and Huang Z. 2021.** MAPK signaling pathway-targeted marine compounds in cancer therapy. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 147: 1-20.
204. **Winter C A., Risley EA et Nuss GW. 1963.** Carragenine-induced edema in hindpaw of rat as an assay for anti-inflammatory drug. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 141:369-373.

205. **Wojdylo Aneta a, Jan Oszmian'ski a, Renata Czemerzys 2007.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry* 105 940–949.
206. **Wolter, k. 2007.** Botanique pharmacognosie phytothérapie.1, rus Eugène et Armand Peugeot.92500 Rueil-Malmaison Cedex.
207. **Woolf A, Rehman RB, Rose R. Gastric Ulcer. 2022.** In: *Stat Pearls*. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2022 PMID: 30725813.

~Y~

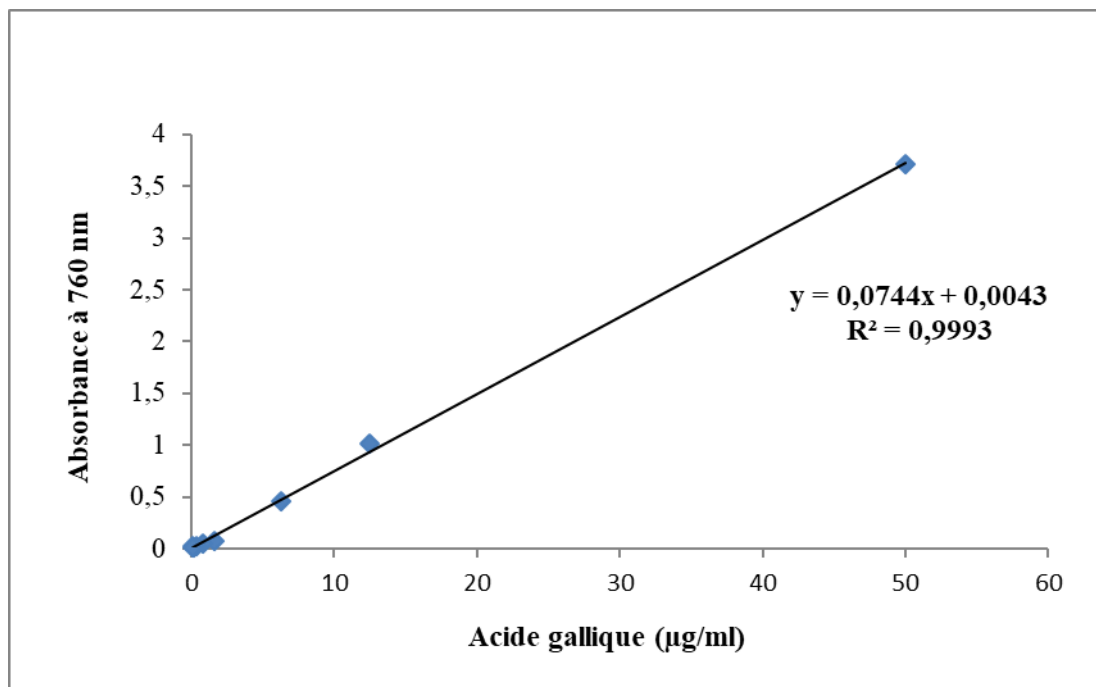
208. **Yassine, E. Z., Dalila, B., El MansouriLatifa, B. S., Lebtar, S., Sanae, A., et Abdellah, F. 2016.** Phytochemical Screening, Anti-inflammatory Activity and Acute Toxicity of Hydro-ethanolic, Flavonoid, Tannin and Mucilage Extracts of *Lavandula stoechas* L. from Morocco. *Int J Pharm Phytochem Res*, 8(1), 31-37.

~Z~

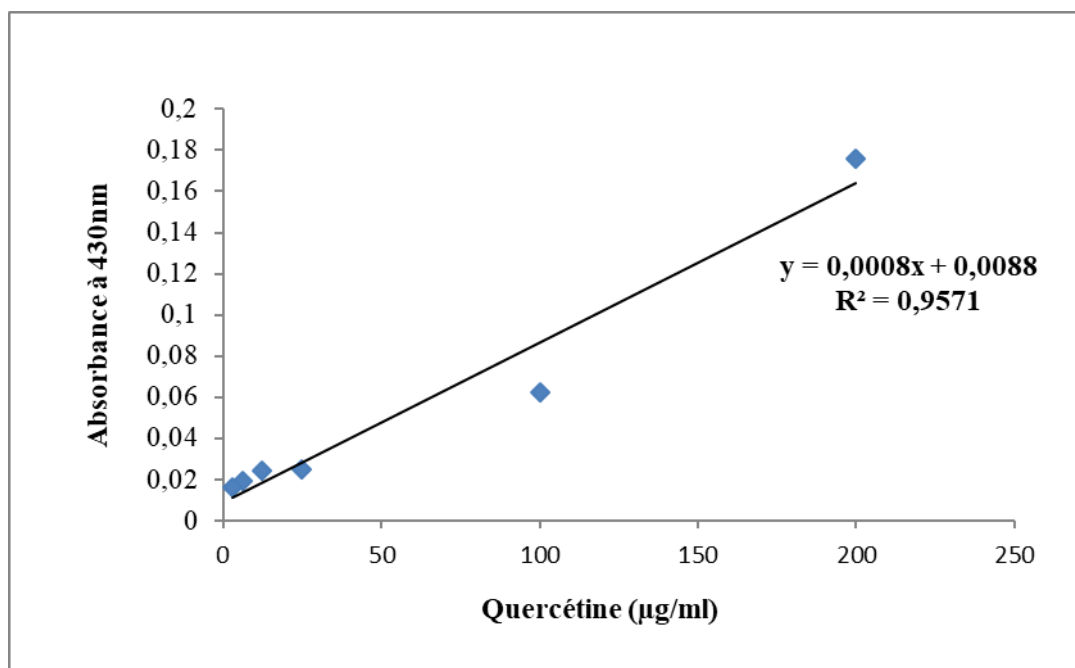
209. **Zeitoun, J.C., Chrysostalis, A et Lefevre, A. 2014.** Chapitre 7 Anatomie de l'estomac. In : *Hépatologie Gastro-entérologie Chirurgie digestive*. Paris : édition Vernazobres- Grego. P 21.
210. **Zitka O, Skalickova S, Gumulec J, Masarik M, Adam V, Hubalek J, Trnkova L, Kruseova J, Eckschlager T, Kizek R, Kizek R. 2012.** Redox status expressed as GSH: GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncol Lett* 4: 1247-1253.

Annexe

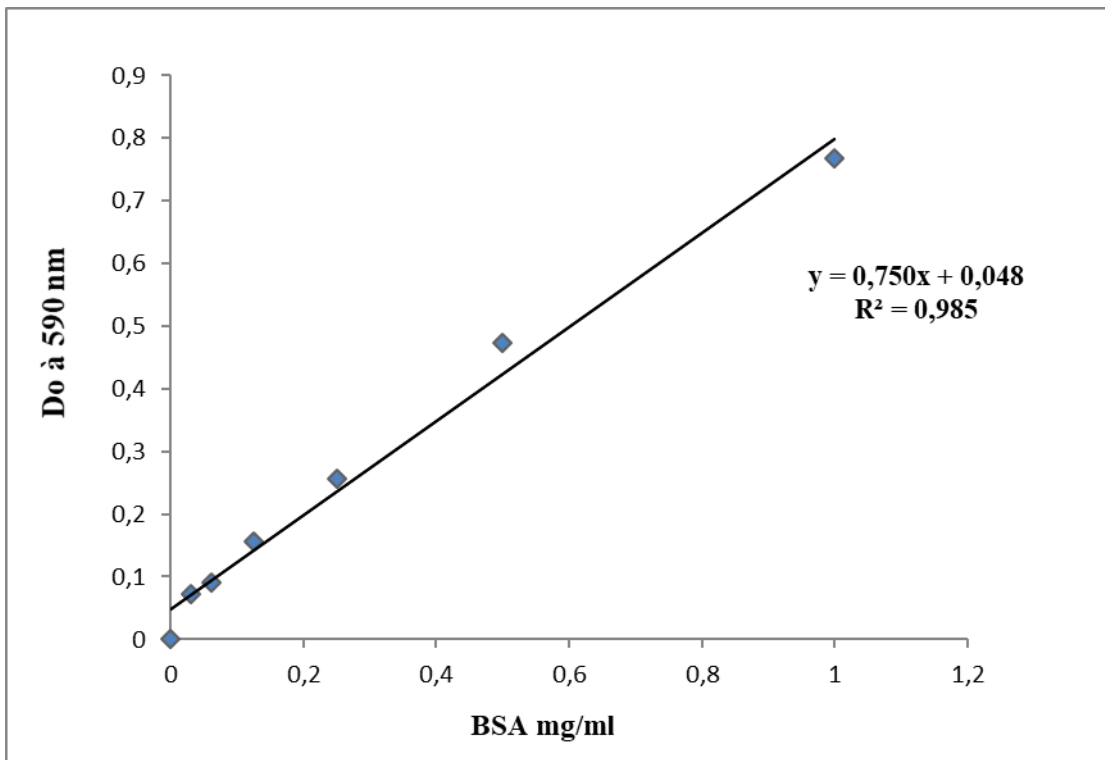




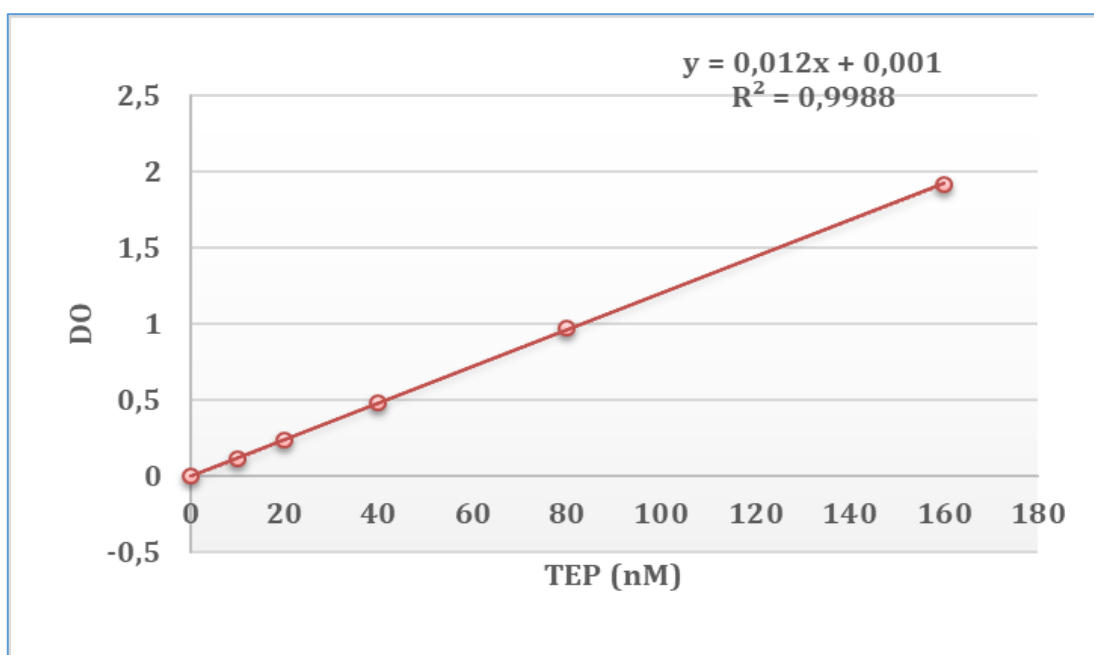
Annexe 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (pour le dosage des polyphénols).



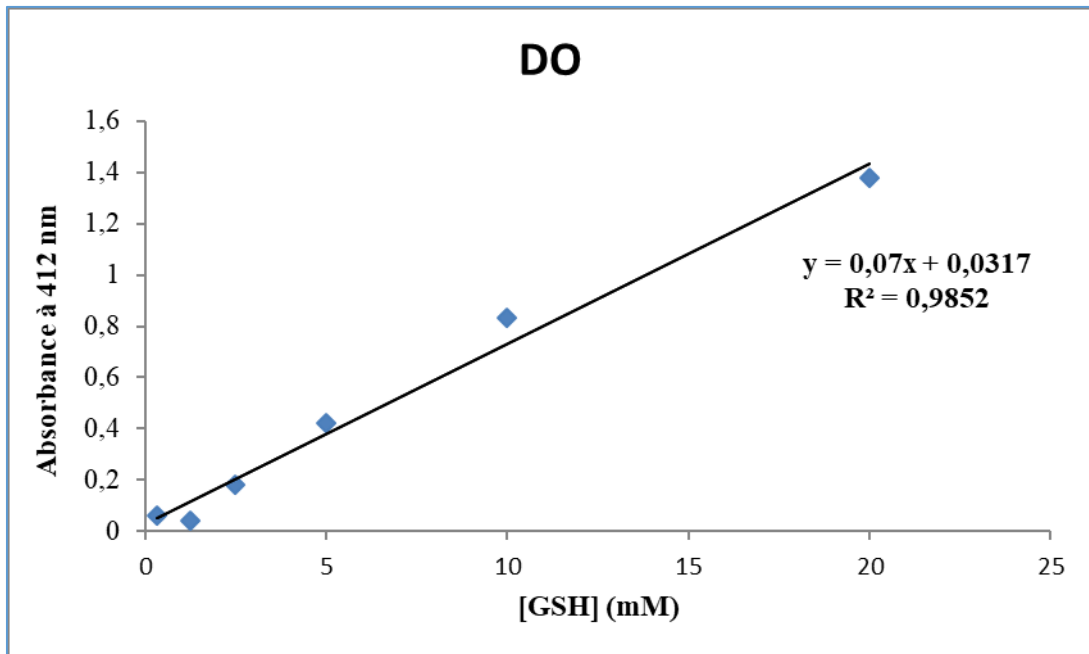
Annexe 2. Courbe d'étalonnage de la quercétine (pour le dosage des flavonoïdes).



Annexe 3. Courbe d'étalonnage des protéines (BSA comme standard).



Annexe 4. Courbe étalon du MDA (TEP comme standard).



Annexe 5. Courbe d'étalonnage de glutathion.

Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'effet antioxydant, anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des extraits et des huiles essentielles de la plante *Salvia officinalis* L. de Jijel

Résumé : L'homme s'est toujours donné les moyens de combattre les maladies en utilisant d'abord les moyens que lui offrent son environnement et en particulier les plantes. Le but de notre étude est d'évaluer l'effet antioxydant, anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des extraits méthanoliques et aqueux et des huiles essentielles de la plante *Salvia officinalis* L. de Jijel *in vitro* et *in vivo*. L'étude phytochimique a montré que les extraits méthanolique et aqueux de *Salvia officinalis* L. sont très riches en polyphénols, flavonoïdes et en tannins condensés. Ces extraits ainsi que les huiles essentielles possèdent une activité anti-radicalaire concentration dépendante contre les radicaux libres DPPH°, OH° et ABTS⁺⁺ et contre H₂O₂ et FRAP. Les résultats obtenus ont montré que les huiles essentielles sont plus efficaces que les extraits et l'acide ascorbique comme antioxydant de référence. Les extraits et les huiles essentielles de la sauge sont dotés d'une forte activité anti-inflammatoire *in vitro*, par l'inhibition de la dénaturation des protéines (Test BSA). Pour les huiles essentielles l'IC₅₀ est de l'ordre de 60.47µg/ml. *In vivo*, l'extrait méthanolique et les huiles essentielles administrés par voie orale à la dose de 50 mg/kg ont montré un effet anti-inflammatoire très puissant, le fait qu'il empêche le développement d'œdème aigu de la patte de souris induit par la carragénine pendant toutes les phases de l'inflammation. Le diclofénac à la dose de 150 mg/kg induit chez la souris un ulcère gastrique accru caractérisé par une altération des paramètres gastriques, une élévation des taux du (MDA) comme principal marqueur de la peroxydation lipidique et une diminution des systèmes de défense antioxydant (GSH, CAT, SOD, GST et GPx). Le prétraitement par les extraits de *salvia officinalis* L. à 50 mg/kg, ou par Ranitex à 20 mg/kg, entraîne une nette amélioration des paramètres gastriques et ceux du statut antioxydant au niveau de l'estomac et des intestins. L'examen histopathologique a confirmé la toxicité du diclofénac par l'apparition des altérations tissulaires sévères au niveau gastrointestinal, et l'effet cytoprotecteur de l'extrait méthanolique et d'huile essentielle par la réduction de ces dommages. Les résultats obtenus nous ont permis d'affirmer que les extraits et les huiles essentielles de la sauge présentent des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoire et anti-ulcéreuse justifiant leurs utilisations traditionnelles.

Mots clés : Inflammation, Stress oxydant, Ulcère gastroduodéal, Diclofénac, *Salvia officinalis* L., Huiles essentielles.

Abstract

Abstract: Man has always given himself the means to fight diseases by first using the means offered by his environment and in particular the plants. The purpose of our study is to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory and antiulcerogenic effect of methanol and aqueous extracts and essential oils of Jijel's *Salvia officinalis* L. plant *in vitro* and *in vivo*. The phytochemical study showed that the methanol and aqueous extracts of *Salvia officinalis* L. are very rich in polyphenols, flavonoids and condensed tannins. These extracts as well as essential oils have an anti-radical activity dependent concentration against free radicals DPPH°, OH° and ABTS⁺⁺ and H₂O₂ and FRAP. The results obtained showed that essential oils are more effective than extracts and ascorbic acid as a reference antioxidant. The extracts and essential oils of sage are endowed with a strong anti-inflammatory activity *in vitro*, by inhibition of the denaturation of proteins (BSA test). For essential oils the IC₅₀ is around 60.47µg/ml. *In vivo*, methanol extract and essential oils administered orally at 50 mg/kg showed a very strong anti-inflammatory effect, the fact that it prevents the development of carrageenan-induced acute edema of the mouse paw during all phases of inflammation. Diclofenac at 150 mg/kg induced an increased gastric ulcer in mice characterized by altered gastric parameters, elevated levels of (MDA) as the primary marker of lipid peroxidation, and decreased antioxidant defences (GSH, CAT, SOD, GST and GPx). Pretreatment with *Salvia officinalis* L. extracts at 50 mg/kg, or Ranitex at 20 mg/kg, results in a marked improvement in gastric and antioxidant parameters in the stomach and intestines. Histopathological examination confirmed the toxicity of diclofenac by the appearance of severe tissue alterations at the gastrointestinal level, and the cytoprotective effect of methanol extract and essential oil by reducing this damage. The results obtained allowed us to affirm that the extracts and essential oils of sage have antioxidant, anti-inflammatory and anti-ulcer properties justifying their traditional uses.

Key words: Inflammation, Oxidative stress, Peptic ulcer, Diclofenac, *Salvia officinalis* L., Essential oils.

المخلص

المخلص: لقد أعطى الإنسان لنفسه دائماً وسائل مكافحة الأمراض باستخدام المصادر الطبيعية التي توفرها بيئته، ولا سيما النباتات. الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير المضاد للأوكسدة، المضاد للالتهابات والمضاد للتقرح المعدي المعوي للمستخلص الميثانولي والمائي والزيت الأساسية لنبات المريمية لجيجل في المختبر وفي الجسم الحي. أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن المستخلصات الميثانولية والمائية للمريمية غنية جداً بالبولىفينول والفلافونويد والعص المكثف. هذه المستخلصات بالإضافة إلى الزيوت الأساسية لها نشاط مضاد للجذور الحرة DPPH° و ABTS° و OH° وضد H₂O₂ و FRAP. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت الأساسية أكثر فعالية من المستخلصات ومن مضاد الأوكسدة المرجعي حمض الأسكوربيك. تمتلك المستخلصات والزيوت الأساسية للمريمية نشاطاً قوياً مضاداً للالتهابات في المختبر، عن طريق تثبيط هدم البروتين (اختبار BSA). بالنسبة للزيوت الأساسية، تبلغ قيمة IC₅₀ حوالي 60.47 ميكروغرام/مل في الجسم الحي، أظهر المستخلص الميثانولي والزيوت الأساسية المتناولة عن طريق الفم بجرعة 50 مجم/كغ تأثيراً قوياً للغاية مضاداً للالتهابات يمنع تطور الانتفاخ المؤقت في رجل الفأر التي يسببها الكاراجينين. تسبب ديكلوفيناك بجرعة 150 مجم/كغ في زيادة قرحة الجهاز الهضمي في الفئران التي تتميز بتغيير في معايير المعدة كتنقص إفراز المخاط المعدي وتقص مؤشر الحماية وزيادة مستويات (MDA) كعلامة رئيسية لتأكسد الدهون وانخفاض في أنظمة الدفاع المضادة للأوكسدة (GSH, SOD, CAT, GPx و GST). يؤدي العلاج المسبق بمستخلص نبات المريمية بمقدار 50 مجم/كغ، أو باستخدام رانيتيدن عند 20 مجم/كغ، إلى تحسن ملحوظ في معايير المعدة وحالة مضادات الأوكسدة في المعدة والأمعاء. أكد الفحص المرضي للأنسجة سمية الديكلوفيناك من خلال ظهور تلف شديد في الأنسجة على مستوى الجهاز الهضمي، والتأثير الواقي للخلايا بالمستخلص الميثانولي والزيوت الأساسية عن طريق الحد من هذا الضرر. أتاحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها التأكيد على أن المستخلصات والزيوت الأساسية للمريمية لها خصائص مضادة للأوكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للقرحة تبررنا استخدامها التقليدية.

الكلمات المفتاحية : التهاب، الاجهاد التأكسدي، قرحة الجهاز الهضمي، ديكلوفيناك، المريمية، الزيوت الأساسية.