

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Immunologie appliqué

Département : Biologie

Thème : Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Salvia officinalis* (la sauge) *in vitro* et *in vivo*

Présenté par :

- ❖ GUEZGOUZ Yasmina
- ❖ RAMDANI Sawsen

Devant le jury composé de :

- | | | |
|--------------------------|---------|----------------------|
| ❖ Président : SLIMANI. A | M.A.A | Université de Guelma |
| ❖ Examineur : BOUDEN. I | M.A.A | Université de Guelma |
| ❖ Encadreur : YOUNSI. M | Docteur | Université de Guelma |

Juin 2018

Remerciements

Nous remercions en premier lieu, du plus profond de notre cœur, Allah le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage d'achever ce travail.

Nous remercions vivement Madame SLIMANI A, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire de master.

Nous exprimons nos profonds remerciements à Monsieur BOUDEN I, pour avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont à notre encadreur : Monsieur YOUNSI M, pour honoré en acceptant de diriger et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire, pour aussi sa simplicité, son attention, sa prudence et sa générosité scientifique.

Nous exprimons nos remerciements à Mme Cherifa, Ghania et Ratiba pour leurs aides.

Docteur AYARI Adel ; enseignant-chercheur dans laboratoire des écosystèmes aquatiques et terrestres, vice-doyen chargé des études et questions liées aux étudiants dans faculté de SNV université Mohamed Echerif Messaadia-Souk Ahras, pour votre soutien scientifique.

Il met aussi agréable de remercier vivement :

- Monsieur Bouden I

-Madame Bouguenoun I

-Madame Boussaâdia M

-Madame Bousnane H

*Nous remercions tout particulièrement les enseignants qui ont contribués à notre formation durant l'année théorique surtout, nos collègues et les personnels de **la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers.***

En fin, à tous ceux qui nous ont aidé, à un titre ou un autre, qu'il s'agisse de la fourniture d'information précieuses, ou de conseil.

Merci aussi à tous les personnes que nous avons du probablement oubliée...

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Mon père Abed el-hafid

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Ma mère Saida

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mes très chères frères et sœurs : AYMEN, CHAHED et ILEF pour votre soutien.

A la mémoire de ma grand-mère et mon grand père maternel, que dieu le tout puissant l'accueille en son vaste paradis.

A ma grand-mère et mon grand père paternel, pour votre conseil

A mes tantes et mes ancres

A mes amies : ABIR, ALYA, IBTESSAM, MARWA et SAFA.

Sans oublier mon binôme : YASSMINA

« Un travail ne vaut que s'il est partagé pour tout le monde ».

SAWSEN

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, Mohamed & Sassia

Pour vos mains qui ont tant travaillées

Pour votre cœur qui m'a tant donné,

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,

Pour vous qui m'avez tant aimé

A mes sœurs : Nadira et son marie, Warda et la belle Amani.

A mes frères : Sofien, Salah et ces femmes

*A mes nièces : Hamada, Saifou, Djihed, Amir, Monder et les roses de la
famille Chahd & Razanne*

A mes amies : Soraya & Faten

Ames camarades de promotion

A tous qui me connaisse de prés ou de loin

Sans oublier ma binôme : Sawsen et sa famille.

Yasmina

Liste des abréviations

A : absorbance.

Ac₂O : anhydride d'acétate.

ACTH : Adreno Cartico Topic Hormone.

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoires Stéroïdiens.

ALc : Alcaloïdes.

AlCl₃ : chlorure d'aluminium.

BSA : Sérum bovin albumine.

CHCl₃ : Trichlorométhane.

Cm : Centimetre.

COX : Cyclooxygenase.

D.O : Densité Optique.

EDTA : Acide ethylénediamino tétracétique.

ESL : Extraction Solide-Liquide.

FeCl₃ : chlorure de fer.

FNS : Formule Numération Sanguine.

g : gramme.

GRH : Globule Rouge Humain.

h : heurs.

HCl : Acide chlorhydrique.

H₃PMO₁₂O₁₃ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungestique.

H₂SO₄ : Acide sulferique.

ICAM : Intercellular Adhesion Molecule

IL : Interleukines.

ip : intra-péritonéale.

GC : Glucocorticoïdes.

GRE : Glucocorticoid Réponse Elément

LB : Les lymphocytes B

LT : Les lymphocytes T

m : metre.

mg/kg : milligramme par kilogramme.

mg EAG/gMS : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de Matière sèche.

mg EC/gMS : milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche.

min : minutes.

ml : millilitre.

ml/kg : millilitre par kilogramme.

NH₃ : Ammoniac.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

nm : nanomètre.

P : Poids.

PAF : Platelet-activating Factor

PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule

PH : Potentielle Hydrogène.

P.M : Plante médicinale.

PNN : Polynucléaire Neutrophiles.

Rdt : Rendement.

ROS : Reactive Oxygene Species.

S.o : Salvia officinalis.

Tr : tour.

Tr/min : tour par minutes.

U.V : Ultraviolet.

VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule.

W8023 : oxydes bleus de tungstène.

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

µg/ml : microgramme par millilitre.

µl : Microlitre.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....	6
Tableau 02 : Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation	7
Tableau 03 : Exemples d'anti-inflammatoires non stéroïdiens	8
Tableau 04 : Principaux glucocorticoïdes	9
Tableau 05 : Exemples des plantes médicinales anti-inflammatoires	11
Tableau 06 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des feuilles de la plante.....	29

Liste des figures

Figure 01 : Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire	3
Figure 02 : la migration trans-endothéliale des leucocytes	4
Figure 03 : Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires stéroïdiens.....	9
Figure 04 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.....	10
Figure 05 : La plante <i>Salvia officinalis</i> au niveau (a et b)	13
Figure 06 : <i>Salvia officinalis</i>	14
Figure 07 : La partie aérienne de la sauge (la tige et les feuilles).....	14
Figure 08 : Les feuilles de la sauge officinale.....	15
Figure 09 : Fleurissement du <i>Salvia</i>	15
Figure 10 : La sauge dans la région d'Oued-fragha.....	18
Figure 11 : Souris Swiss albinos	19
Figure 12 : La préparation de l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i>	21
Figure13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	23
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	23
Figure 15 : les mélanges d'essai avant et après centrifugation.....	26
Figure 16 : Administration du traitement	27
Figure 17 : Application De formole.....	27
Figure 18 : Mesure de l'œdème de la patte droite.....	28
Figure 29 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux pour l'extrait brut des feuilles de la plante.....	31
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA.....	32
Figure 21 : pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge humains (GRH).....	33
Figure. 22 : Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra-péritonéale, après l'injection de formol.....	35

Figure 23 : le taux des leucocytes chez les différents groupes testés.....	36
Figure24 : le taux des monocytes chez les différents groupes testés.....	36
Figure25 : le taux des lymphocytes chez les différents groupes testés.....	37
Figure26 : le taux des granulocytes chez les différents groupes testés.....	38

TABLE DES MATIERE

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Inflammation

I. Inflammation	2
1. L'inflammation aigue	2
1.1. La phase vasculaire	2
1.2. La phase cellulaire	3
1.3. La phase résolution	4
2. L'inflammation chronique	4
3. Les cellules effectrices de la réaction inflammatoire	5
4. Les médiateurs de la réaction inflammatoire	5
5. Implication pathologique de l'inflammation	7
6. Les anti-inflammatoires	8
6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	8
6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	9
6.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale	10

Chapitre 2 : La présentation de la plante

II. La plante	13
1. Classification de la plante	13
2. Aspect botanique de la plante	14
3. Usage thérapeutique traditionnel de la plante	16
4. Activité biologiques de la plante	16

5. Toxicité de la plante	17
--------------------------------	----

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : Matériel et Méthode

1. Matériel végétal	18
2. Matériel animal.....	18
3. Ciblage phytochimiques	19
3.1. Test des alcaloïdes	19
3.2. Test des saponosides	20
3.3. Test des flavonoïdes	20
3.4. Test des coumarines	20
3.5. Test des stérols et triterpènes	20
3.6. Test des Tanins	20
3.7. Test des glycosides	20
4. Préparation de l'extrait	21
4.1. Préparation d'extrait aqueux	21
4.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques	22
4.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	22
4.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	23
5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	24
5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines	24
5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humaines	25
6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	26
6.1. Protocole expérimentale.	26
6.1.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	26
6.1.1.1. Œdème de la patte droite induit par le formole chez la souris	26
6.1.1.2. Numération des cellules dans le sang.....	28
6.4. Analyses statistique	28

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

I. Résultats	29
II. Discussion	39
Conclusion et perspectives	41

Références bibliographiques

Résumé

Introduction :

La réponse inflammatoire est un processus habituellement bénéfique, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste, du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalies quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (Ait-idir *et al.*, 2017).

L'élimination de l'inflammation peut représenter une stratégie pour la prévention et le traitement de ces maladies. Bien que les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens actuellement utilisés traitent des désordres inflammatoires aigus, ces médicaments conventionnels n'ont pas été couronnés de succès pour guérir des désordres inflammatoires chroniques comme la polyarthrite chronique évolutive et la dermatite atopique (Kim *et al.*, 2004).

Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments (Taïba *et al.*, 2017).

La sauge est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait. Elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès, et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Taïba *et al.*, 2017).

Dans ce contexte s'inscrit notre travail de recherche dont l'objectif consiste à vérifier les effets anti-inflammatoires de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis*.

Dans ce présent travail, nous avons fixé les étapes suivantes :

- Les tests phytochimiques des feuilles de la plante (*Salvia officinalis*).
- Préparation de l'extrait brut par l'extraction Solide –Liquide (ESL).
- Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux.
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis*, par deux méthodes : l'inhibition de la dénaturation des protéines et la stabilisation de la membrane des globules rouges humains.
- Évaluation de l'effet de l'extrait de *Salvia officinalis* sur l'œdème de la patte droite chez la souris.

I. Inflammation :

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire (Nathan, 2002 ; Barton, 2008). Elle peut se développer suite à une lésion tissulaire provoquée par des facteurs physicochimiques (irradiations, brulure, traumatismes, mécanique...) ou des infections microbiennes (bactériennes, virales ou parasitaires) (Medzhitove ,2008). La fonction principale de l'inflammation est de permettre la réparation des tissus et l'élimination de l'agent agresseur (Weill *et al.*, 2003).

L'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se poursuit et devient chronique. Dans ce cas la réaction inflammatoire doit être contrôlée par les médicaments (Weill *et al.*, 2003). L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoire (Mansour, 2015).

1. L'inflammation aiguë :

C'est une réponse immédiate à un agent agresseur de courte durée (quelques semaines) (Botting et Botting, 2000).L'inflammation aiguë est caractérisée par quatre phénomènes typiques qui sont : l'œdème, la douleur, la chaleur et la rougeur. Sa guérison est spontanément ou à l'aide d'un traitement, mais elle peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010).L'inflammation aiguë se déroule en trois grandes phases :

1.1.La phase vasculaire :

La réponse vasculaire entraîne une vasoconstriction artériolaire suivie d'une vasodilatation des vaisseaux sanguins permettant l'afflux massif de sang vers le foyer inflammatoire. L'augmentation de la perméabilité des capillaires permet aux cellules sanguines de s'extravaser, ce qui explique les signes de la chaleur et de la rougeur. Une fois fixés à l'endothélium vasculaire, les polymorphonucléaires neutrophiles et les monocytes franchissent la barrière endothéliale au niveau des jonctions intercellulaires vers le site de l'inflammation (diapédèse), cela s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème (Henrotin *et al.*, 2001). La brève vasoconstriction de quelques secondes va perturber le mouvement des plaquettes dans la circulation sanguine et entraîner leur activation. La plaquette activée est capable de produire du thromboxane A2 aux propriétés agrégantes et vasoconstrictrices puissantes. Outre son rôle dans l'hémostase primaire, cette phase immédiate vasculaire a aussi pour fonction d'isoler l'agent étranger (Henrotin *et al.*, 2001 ; Stankov, 2012).

De plus, l'activation des facteurs de coagulation en présence de facteurs tissulaires aboutit à la formation de fibrine qui vient consolider le clou hémostatique formé par l'agrégation des plaquettes (Henrotin *et al.*, 2001 ;Iwalewa *et al.*,2007)(**Fig. 01**).

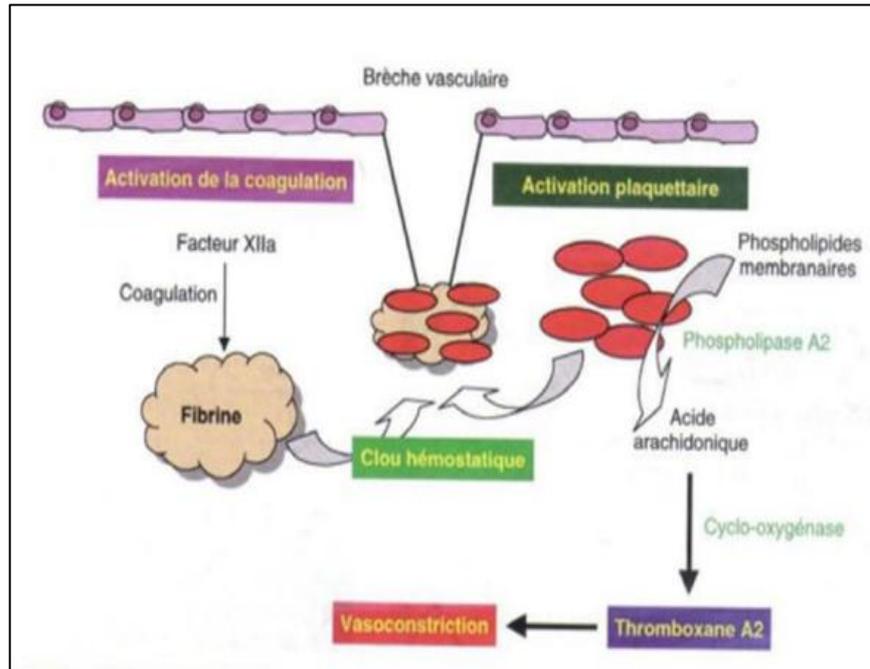


Figure 01 : Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire (Weill *et al.*, 2003).

1.2. La phase cellulaire :

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, ils sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les monocytes. (Nathan, 2002).

Les cellules endothéliales constituent les principaux acteurs cellulaires de cette étape. Celles-ci sont activées sous l'effet des médiateurs libérés à l'étape précédente, dont l'histamine libérée par les mastocytes, le PAF (platelet-activating factor), les prostaglandines, les cytokines inflammatoires (TNF, Il-1B, INF-), ou les espèces réactives de l'oxygène (Gravel, 2010 ; Hella, 2007). Les cellules endothéliales expriment des molécules d'adhésion impliquées dans le recrutement de leucocyte sanguines.

La migration du leucocyte dans le tissu conjonctif dépend du gradient de concentration en chimiokines sécrétées par les cellules phagocytaires et endothéliales présentes sur le site inflammatoire (Weill *et al.*, 2003) (**Fig. 02**).

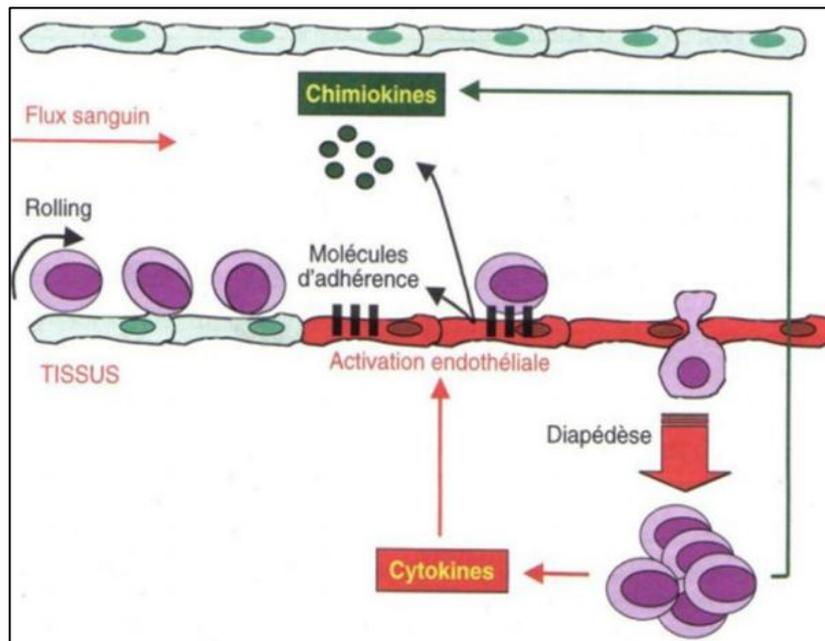


Figure 02 : La migration trans-endothéliale des leucocytes (Weill *et al.*, 2003).

1.3. La phase résolution :

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires (Weill *et al.*, 2003). Elle fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Eming *et al.*, 2007). Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules peuvent produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais se sont surtout les fibronectines et les laminines pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).

2. L'inflammation chronique :

L'inflammation chronique se développe lorsqu'une agression persiste ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes ou l'antigène ne peut être éliminé (Rankin, 2004). Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois, des années et peut même se prolonger tout au long de la vie de l'individu (Fauve et Hevin, 1998). A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaires et de tentatives de réparation sont également présents (Weill *et al.*, 2003). Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Fauve et Hevin, 1998 ; Weill *et al.*, 2003). Tandis que la présence de polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (Domobrowieng et Capron, 2007).

3. Les cellules effectrices de la réaction inflammatoires :

La réaction inflammatoire fait intervenir plusieurs types cellulaires :

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) migrent sous l'effet des chimio-attractants vers le site inflammatoire où ils phagocytent l'agent agresseur ou les débris cellulaires (Descomps-Latscha et Witko-Sarat, 1996). Ils libèrent différentes molécules tel que les protéines, les radicaux libres, les chimiokines et des cytokines pro-inflammatoires (Descamps-Latsha et Witko-Sarat, 1996). Les neutrophiles sont également impliqués dans la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007).

Les mastocytes jouent un rôle très important dans le déclenchement de réaction inflammatoire (Weillet *al.*, 2003) et la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007). Ils se caractérisent par la présence dans leur cytoplasme de très nombreuses granulations contenant des médiateurs inflammatoires comme la sérotonine, l'histamine, l'héparine et des cytokines (Williams et Galli, 2000).

Les monocytes sont des cellules mononuclées circulantes qui migrent vers le site inflammatoire et se différencient en macrophages. Ils ont pour rôle de phagocyter l'agent agresseur ou les fragments de tissus altérés (Descomps-Latscha et Witko-Sarat, 1996). Ainsi que la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007).

Les plaquettes sanguines sont indispensables à l'hémostase primaire. Elles contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrogène, le plasminogène, des protéases, plasmatiques ainsi que de la sérotonine (Steinhubl, 2007).

Les polynucléaires basophiles présentent également un cytoplasme qui contient de très nombreuses granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Ils sont des cellules phagocytaires qui interviennent principalement dans réactions allergiques (Rankin, 2004).

Les polynucléaires éosinophiles possèdent des propriétés phagocytaires (Rankin, 2004). Leur fonction principale est de s'attaquer aux parasites via le contenu de leurs granules. Elles interviennent aussi dans la modulation et la propagation de la réponse immunitaire adaptative en activent directement les lymphocytes (Hoganet *al.*, 2008).

4. Les médiateurs de la réaction inflammatoire :

Les changements locaux qui surviennent au niveau du site inflammatoire sont le résultat de la formation et/ou la libération séquentielle de médiateurs pro et anti-inflammatoires de nature divers ; amine (histamine et sérotonine), médiateurs lipidiques (prostaglandines et leukotriènes), et des cytokines de nature peptidique, protéique ou glycoprotéique (Botting et Botting, 2000) (**Tab 01**).

Tableau 01 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire
Sérotonine-	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Platelet activating factor (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la bronchoconstriction, l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : -LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité des micro- vaisseaux
LTB ₄	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandines	Essentiellement par les leucocytes	Provoquent la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la

		douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses
Facteur de Hagemann (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes
Fibrine	Présente dans le plasma, formé à partir du fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
L'IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophiles, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

5. Implication pathologique de l'inflammation :

L'inflammation est un mécanisme de défense indispensable pour l'intégrité de l'organisme. Cependant, l'implication de l'inflammation dans plusieurs pathologies humaines est bien évidente (Meziti, 2009). Le tableau 02 cite quelques exemples

Tableau 02 : Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation (Charles et al, 2010)

Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation
Asthme
Polyarthrite rhumatoïde
Artériosclérose
Arthrose
Goutte
Thyroïdite d'Hashimoto
Maladie d'Alzheimer

Lupus érythémateux disséminé Eczéma Maladie de Crohn
Maladies infectieuses dans les quelle l'inflammation contribue dans la pathologie
Hépatite C Dysenterie Tuberculose Dysenterie bactérienne
Maladies dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie
Fibrose pulmonaire idiopathique Bilharziose Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique

6. Les anti-inflammatoires :

6.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens :

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) ont été avec succès pour le soulagement de la douleur (analgésiques), la fièvre (antipyrétiques) et l'inflammation (anti-inflammatoires). Ils présentent une grande hétérogénéité chimique (**Tab 03**), mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclo-oxygénase (Bidaut-Russel, 2008).

Tableau 03 : Exemples d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (Wallace et Staats, 2004).

Classe structurale	Nom scientifique	Nom commercial
salicylates	Acétyle salicylique	Aspirine ® Dolobid ®
Dérivés d'acide propénoïque	Ibuprofène Fenoprofene calcium Flurbiprofen Ketoprofen	Ibuprofène ® Nalfon ® Ansaid ® Nalfon ®
Dérivés d'acide propénoïque	Diclofenac	Voltarene ®
Indoles	Indométacine Tolmetin Sulindac	Indocine ® Tolectine ® Clinoril ®

Cependant leur utilisation thérapeutique à long cours est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale. Ils sont généralement liés à l'inhibition des iso-enzymes cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2) par les AINS classique. Le COX-1 est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus, tandis que la COX-2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF α et interleukine1. L'apparition des AINS sélectifs du COX-2 appelé coxibs vient réduire les effets secondaires gastro-intestinaux, mais ils induisent un risque cardiovasculaire (**Fig. 03**). (Mansour, 2015)

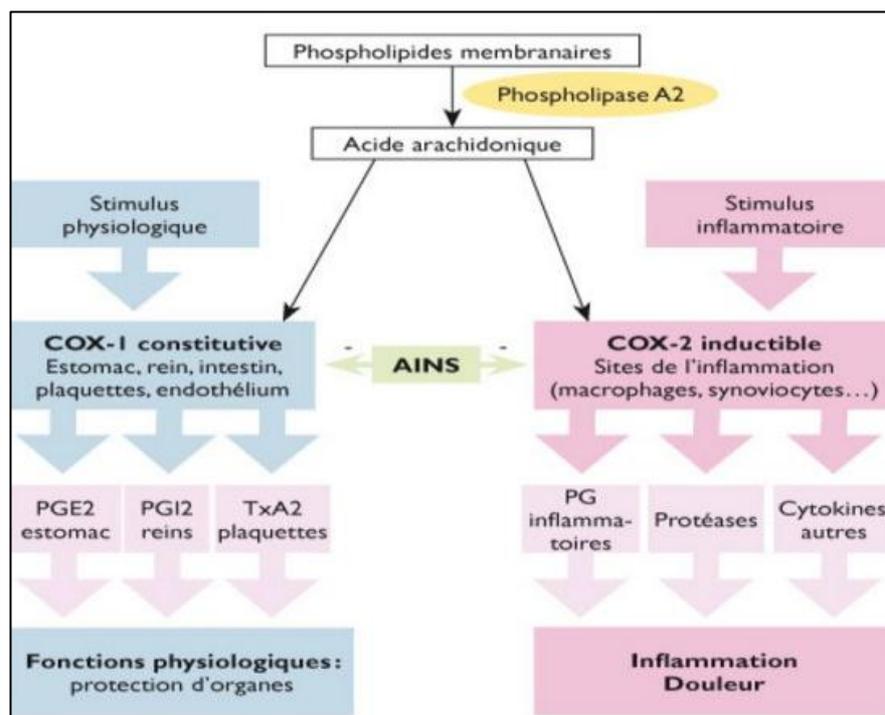


Figure 03 : Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Mansour, 2015).

6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes) :

Les médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés de cortisol (**Tab 04**), principal glucocorticoïde surrénalien, Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto immunes (Mansour, 2015). Leur mécanisme d'action est le même que celui des glucocorticoïdes endogènes. (Barnes, 1998)

Tableau 04 : Principaux glucocorticoïdes (Henzen, 2003)

Glucocorticoïde	Nom commercial
Cortisol (Hydrocortisone)	Hydrocortone®, Solu-Cortef
Cortisone	Cortison CIBA
Prednisone	PrednisonStreuli
Prednisolone	Spiricort, Ultracorten
Méthylprednidlone	Urbason, Solu-Medrol
Triamcinolone	Kenacort, Ledercort
Bétaméthasone	Celestene, Diprostene
Dexaméthasone	Fortecortin, Decadron

Les glucocorticoïdes (GC) traversent librement les membranes cellulaires, se fixent sur des récepteurs spécifiques qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires aux stéroïdes ensuite migrent vers le noyau et agissent directement sur l'ADN en se fixant sur des séquences spécifiques, dites GRE (Glucocorticoid Réponse Élément). Ce complexe intervient dans la régulation de la transcription des gènes cibles en réduisant la perméabilité capillaire, la production de facteurs chimiotactiques, la phagocytose, bloquant ainsi la libération de la sérotonine, d'histamine et de bradykinines. De plus, les GC peuvent augmenter la transcription des gènes anti-inflammatoires et inhiber l'action de certaines protéines nucléaires transactivatrices, dont le NF- κ B et la protéine activatrice-1 (AP-1), inhibant ainsi l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-2, TNF- α) ; récepteurs et molécules d'adhésion et la production de la phospholipase A2 (Barnes, 1998 ; Rhen et Cidlowski, 2005) (**Fig. 04**).

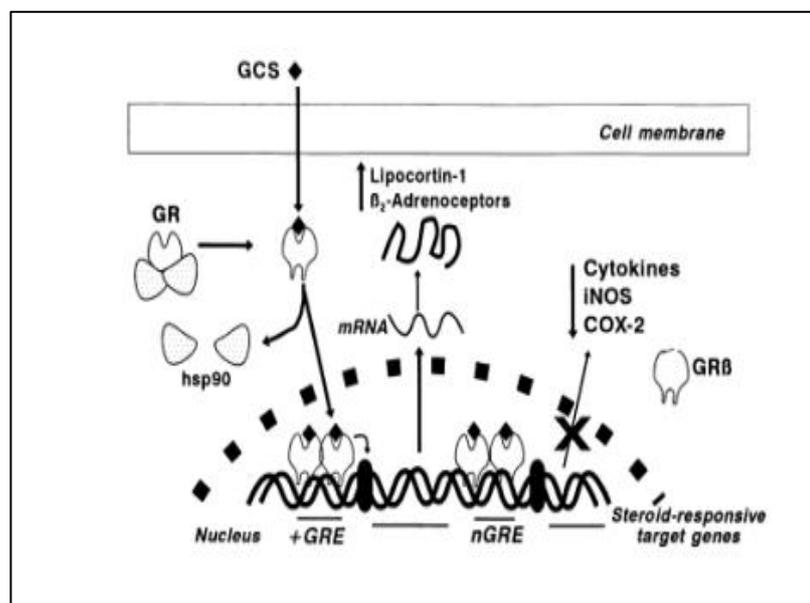


Figure 04 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces effets indésirables s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie. Divers troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aigus tel que l'hypertension artérielle, dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'euphorie avec insomnie allant jusqu'à une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastroduodénaux. Des troubles chroniques peuvent aussi se manifester tels que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Henzen, 2003).

6.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale :

Les plantes médicinales sont très utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tels que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite, l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères

gastriques et duodénaux (Setty et Sigal, 2005 ; Wiart, 2006). Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau 05.

L'activité anti-inflammatoire de ces plantes revient à leur contenance en métabolites secondaires doués d'activités biologiques ; polyphénols, stérols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides...etc. (Meziti, 2009)

Tableau 05 : Exemples des plantes médicinales anti-inflammatoires (Barnes, 1998 ; Erdemoglu *et al.*, 2003 ; Setty et Sigal, 2005).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
Zingiber officinale	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
Helleborus orientalis	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	œdèmes, douleurs rhumatismales
Urtica dioica	Urticaceae	Feuilles racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma, goutte, douleurs rhumatismales
Laurocerasus officinalis R.	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
Curcuma longa	Zingiberaceae	Graines Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
Oenothera biennis	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales, syndrome de Sjögren
Juglans regia L.	Juglandaceae	Feuilles Fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Douleurs rhumatismales, malaria

Des études menées *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'effet anti-inflammatoire d'un grand nombre de ces plantes ainsi que le mécanisme d'action de plusieurs d'entre elles. Les substances actives des plantes peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les mécanismes de transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion, l'activation du facteur nucléaire kappa-B et la production des espèces oxygénées réactives (Dujwiewja et Zeitlin, 1993).

II. La plante *Salvia officinalis* :

Salvia officinalis communément appelée la sauge (Longe, 2005 ; Khan et Abourashed, 2010), est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des Labiées (Bouaouina *et al.*, 2017)(**Fig. 5 a et b**). Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (Khiredine, 2013). Elle préfère les terrains chauds et calcaires. La sauge est cultivable jusqu'à 1800m d'altitude, elle supporte des climats et des soles très variés, au pH allant de 5 à 9. La plante adulte résiste à la température de -10°C (Hadjila, 2016).

En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont de l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations y ont été données (Alloun K, 2013). Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment « Essalma » et appelée « salbia » par les botanistes en Espagne. L'algérien indique l'expression « souek ennebi » comme synonyme de saleme (Alloun K, 2013), et les Berbères appelle « Tazourt ». En français : « grand sauge, thé d'Europe, herbe sacrée », en anglais : « sage, Great sage, Garden sage » (Zerrouki, 2017). En Turquie, *S.officinalis* est largement connu sous le nom « d'adaçayi », ce qui signifie « thé de l'ile ». Dans le levant, elle s'appelle « maramia » (Mohsen *et al.*, 2014).



a-La cité ikhwa rahabi

b-Université 8 Mai 1945 (Guelma)

Figure 05 : La plante *Salvia officinalis* au niveau (a et b) (Prise personnel).

1. Classification de la plante :

La classification de la plante selon Cronquist 1968 la sauge est appartient aux :

Règne : plante (végétal)
 Embranchement : Cormophytes
 Sous embranchement : Angiospermes
 Classe : Magnoliopsida
 Sous classe : Asteridae
 Ordre : Lamiales
 Famille : Lamiaceae
 Genre : *Salvia*
 Espèce : *Salvia officinalis* L.

2. Aspect botanique de la plante :

La famille des Lamiaceae : (*labiées*) du latin (*labia*) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghbi *et al.*, 2005 ; Couplan, 2000), comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres (Meyer *et al.*, 2004). Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (Pistrick, 2002) et ceci par la particularité de ses caractères (Meyer *et al.*, 2004).

Le genre *Salvia* : (sauge) fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (Quezel et Santa, 1963).

La sauge est un sous-arbrisseau à racine brunâtre, fibreuse qui apprécie les sols bien drainés et ensoleillés (Pauline, 2011). (**Fig.6**)



Figure 06 : *Salvia officinalis* (Prise personnel).

La tige : de 50 à 80 cm et très rameuse (**Fig.7**) (Pauline, 2011), ligneuse à la base, formant un buisson (Madi A, 2010) dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre (Bouaouina *et al.*, 2017).



Figure 07 : La partie aérienne de la sauge (Prise personnel).

Les feuilles, (**Fig.8**) assez grandes épaisses, vert blanchâtre, opposées (Madi, 2010), pétiolées, ovales, rugueuses, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège (Pauline, 2011). Leur longueur varie de 4 à 6 cm de long et mesure de 2 cm de large. Les feuilles supérieures sont sessiles et ont une extrémité plus aigüe (Chloé, 2014).



Figure 8 :Les feuilles de la sauge officinale (Prise personnel).

Les fleurs, (**Fig. 9**) bleu violacée clair en épis terminaux lâches disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieur en casque et lèvre inférieure trilobée (Madi, 2010).



Figure 9 : Fleurissement du Salvia (Prise personnel).

Les fruits, en forme de tétrakènes (Bouaouina et al, 2017), et leur mode de dissémination est barochore (Alloun K, 2013).

Organes reproducteurs :

Type d'inflorescence : Glomérules spiciformes

Répartition des sexes : Hermaphrodite

Type de pollinisation : Entomogame

Période de floraison : Mai à Aout (Alloun, 2013)

3. Usage thérapeutiques traditionnel de la plante :

Le *Salvia officinalis* ou Maramiya tire son nom du latin salvare (guérir) qui traduit son rôle ancestral en phytothérapie (Carron *et al.*, 2005). La sauge est une espèce végétale bien connue largement utilisé pour l'épicerie des aliments (Karina *et al.*, 2013), en raison de ses propriétés aromatisantes et d'assaisonnement (Ghorbani *et al.*, 2017), et dans la phytothérapie traditionnelle (Mohsen *et al.*, 2014). Les Grecs, les Romains et les Arabes l'employaient communément comme tonique et en compresse contre les morsures de serpent (Alloun K, 2013), et en 18^{ème} siècle les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme surtout au printemps (Madi, 2010).

Cependant en médecine populaire, elle était utilisée dans les ulcères, les rhumatismes, les inflammations, les vertiges, la paralysie, la diarrhée, l'hyperglycémie, la transpiration excessive, les troubles cognitifs liés à l'âge, les inflammations de la gorge (Ghorbani *et al.*, 2017) et les troubles gastriques (Rodrigues *et al.*, 2011). Elle est également indiquée contre les états des abcès et appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche (Madi A, 2010).

La partie utilisée de la plante est la partie aérienne (Ghezil *et al.*, 2016) soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle (Fellah *et al.*, 2006). Le thé de sauge a été traditionnellement utilisée pour le traitement des diperturbations gingivales et circulatoire, toux, bronchites, asthme, angine, dépression, les maladies de peau et beaucoup d'autres maladies (Mohsen *et al.*, 2014), et l'huile essentielle est aussi antiseptique, ces propriétés lui permettent d'être particulièrement utile pour soigner les troubles digestifs : digestion lente et difficile, ballonnement, fermentations intestinales (Fkih, 2007). Une décoction des racines est utilisée en cas des maladies cardiaques et lors de la ménopause, et aussi pour la cicatrisation des plaies (Bouaouina *et al.*, 2017). A côté d'une utilisation artisanale (alimentation familiale et médecine populaire), les huiles essentielles de cette plante sont utilisées, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétologie, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique (Fellah *et al.*, 2006) et également utilisée comme plante de jardin d'ornement (Mansourabadi *et al.*, 2015).

A Guelma, la sauge officinale est utilisée comme tisane principalement contre le diabète, les cheveux gris et les femmes l'utilisent comme jus et bain pour accroître leur fertilité.

4. Activité biologique de la plante :

Salvia officinalis a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines (Khenfer *et al.*, 2014), au cours des dernières années de nombreuses études ont été menées sur son utilisation traditionnelle afin de trouver des nouveaux effets biologiques. Ces études ont révélé un large éventail d'activité pharmacologiques y compris : des activités antinociceptifs, antimutagènes, antidémence, hypolipéinants, antimicrobiennes, carminatifs,

mucolytiques (Longe, 2005 ; Scholey et al, 2008 ; Khan et Abourashed, 2010 ; Albano et Miguel, 2010), antispasmodiques, astringentes, stomachiques, antioxydants (Iliora *et al.*, 2007), calmantes céphaliques, fébrifuge, dans les troubles mentaux et nerveux (Khenfer *et al.*, 2014), fongistatiques, hypoglycémiques (Esam *et al.*, 2010). Cette espèce présente plusieurs autres activités biologiques dont une activité antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire, antivirale. Elle a également des effets sur les problèmes cardiovasculaires (Hammoudi, 2015). La sauge pallie des troubles de la ménopause comme les bouffées de chaleur et les vertiges (Annie Botrel, 2001), il ya des produits disponibles sur le marché pour la ménopause qui contient la sauge comme Phytorigin®, Vitaflor®, Ergyflvone®...etc (Chloé, 2014). Les huiles essentielles de *Salvia* ont été utilisées dans le traitement d'un large éventail de maladies comme celles du système nerveux, de la circulation cardiaque et sanguine, du système digestif, des maladies métaboliques et endocriniennes (Mohsen *et al.*, 2014), aussi des essais cliniques modernes ont montrés que l'huile essentielle de sauge peut améliorer la mémoire, et s'est révélée prometteuse dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. L'extrait de feuilles inhibe également l'activité de la lipase pancréatique et supprime les triglycérides sériques (Esam *et al.*, 2010).

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

5. Toxicité de la plante :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (concentration) concernant principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation (Khenfer *et al.*, 2014). L'huile essentielle de *Salvia officinalis* qui contient jusqu'à 50% de thuyone (une neurotoxique) dont son excès peut provoquer des convulsions (Hammoudi, 2015). Néanmoins, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour) (Alloun, 2013).

I. Matériel biologique :

1. Matériel végétal :

La plante *Salvia officinalis* (*S.o*), étudiée dans cette approche provient de la willaya de Guelma (Algérie). La cueillette des échantillons de la sauge a été faite au moins de février 2018 dans la région d'Oued-fragha (**Fig.10**). Les feuilles de la plante ont été nettoyée et séchée à l'abri de la lumière du soleil et à une température ambiante pendant 15 jours puis moulue jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de couleur verte. La poudre est préparée juste avant l'extraction.



Figure 10 : La sauge dans la région d'Oued-fragha. (Prise personnel)

2. Matériel animal :

Les expériences ont été réalisées sur des souris femelles de souche Swiss albinos (**Fig.11**), de poids compris entre 26g et 40 g fournis par l'institut pasteur d'Alger. Les souris ont été réparties au hasard en 5 lots homogènes de 5 souris.



Figure 11 : Souris Swiss albinos (prise personnel).

3. Criblage phytochimique :

Des tests en tube sont réalisés sur les poudres végétales afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions phytochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

3.1. Test des alcaloïdes (Alc) :

Le réactif de Mayer

- Réactif de Mayer composition :

Iodure de potassium (KI) 25g, chlorure mercurique (HgCl_2) 6,8g, eau distillée (1000 ml).

10g de plante mise en poudre, est pesé puis mélangé à 50ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est ensuite filtré puis on y ajoute NH_3 jusqu'à un pH : 8 à 9, on fait ensuite l'extraction par CHCl_3 (3fois), on évapore CHCl_3 , on ajoute à l'extrait sec 2ml HCl (1%), puis on ajoute 3 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc ou une phase trouble indique la présence des alcaloïdes. (Benzahi *et al.*, 2001)

3.2. Test des saponosides :

2g de poudre de la plante est mélangé à 80 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre, l'extrait est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (Benzahi *et al.*, 2001).

3.3. Test des flavonoïdes :

10g de la plante, mise en poudre (p), est pesé puis mélangé à 100 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est macéré durant 24 h, après filtration on ajoute NH₄OH au filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune claire implique la présence des flavonoïdes (Benzahi *et al.*, 2001).

3.4. Test des coumarines :

On évapore 10 ml de l'extrait Ether di éthylique, l'extrait sec est repris dans 2 ml d'eau. Le mélange obtenu est ensuite partagé dans deux tubes à essais (l'un servira de référence). Au contenu de l'autre, nous avons ajouté 0.5 ml de NH₄OH (10%). Nous avons bien mélangé et observé la fluorescence sous UV. La présence des coumarines est indiquée par une fluorescence dans le tube (Benzahi *et al.*, 2001).

3.5. Test des stérols et triterpènes :

5g de plante, mise en poudre, a été mis dans 20 ml de chloroforme. Après filtration la solution obtenue est répartie entre deux tubes à essais (l'un servira de référence). On ajoute d'abord anhydride d'acétate (Ac₂O) ; ensuite nous avons ajouté 1 ml d'H₂SO₄ au fond du tube sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des triterpènes. C'est la réaction de Libermann-Buchard (Benzahi *et al.*, 2001).

3.6. Test des Tanins (Ta) :

10g de plante, mise en poudre, on extrait par l'alcool éthylique 50%, puis on filtre, on ajoute au filtrat quelques gouttes FeCl₃ (1%). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre (Benzahi *et al.*, 2001).

3.7. Test des glycosides :

5g de plante, mise en poudre, on y ajoute 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2% dans l'éthanol, on chauffe à reflux durant 2h, après filtration et lavage par l'éthanol, on met le filtrat dans l'eau chaude. Dans un tube à essai, on ajoute à 2 ml du filtrat gouttes de la liqueur de Fehling, on chauffe, la réduction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (Himour *et al.*, 2016).

La présence des principales classes phytochimiques est classée comme suit :

+ : présence certaine.

- : absence.

4. Préparation de l'extrait :

4.1. Préparation de l'extrait brut par Extraction Solide – Liquide (ESL)

Dans cette partie de travail, nous avons tenté d'extraire les composés phénoliques totaux. Une quantité de poudre végétale est mise en contact avec le solvant d'extraction qui a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés. Un extrait de l'eau chaude (Infusé) pour se rapprocher des préparations traditionnelles (extrait aqueux).

Le volume de solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la totalité de l'extraction. Les ratios optimums solides : liquides, les plus souvent trouvés dans la littérature, sont généralement situés entre 1/10 et 1/50 (mg/ml) (Michel, 2011). On a choisi le ratio 1/10 (mg/ml) dans la présente étude.

L'extrait aqueux préparé selon la méthode de Ferreira et ses collaborateurs (2006). Brièvement, après séchage dans un endroit sec, à l'abri de la lumière du soleil, la plante est broyée entièrement puis pesée (142g). La matière végétale obtenue est mise à bouillir sous agitation avec chaleur pendant 35 minutes dans l'eau distillée (142g/ 1420ml), le décocté obtenu est refroidi puis filtré par papier filtre, et le filtrat obtenu évaporé dans un rota vapeur (65°C, 43rpm, pression 800) (**Fig.12**).



Figure 12 : La préparation de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* (Prise personnel).

➤ Calcul de rendement en extrait sec

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{P3}} \times 100$$

P1 : Poids de la boîte pétri avec extraits après évaporation.

P2 : Poids de la boîte pétri vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

4.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques :

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes d'extrait sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués.

4.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols totaux l'extrait brut a été déterminée au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu suivant la méthode décrite par Awah et ses collaborateurs (2012). Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{23}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972). L'intensité de cette couleur renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Une prise de 125 μl de l'extrait dilué (selon le solvant) est mélangée avec 500 μl d'eau distillée et 125 μl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 125 μl de $\text{CO}_3(\text{Na})$ 2 à 7% est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par l'eau distillée à 3ml. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance (A) est effectuée à une longueur d'onde de 760nm.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 10, 20, 30, 60, 130, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS). (Fig. 13)

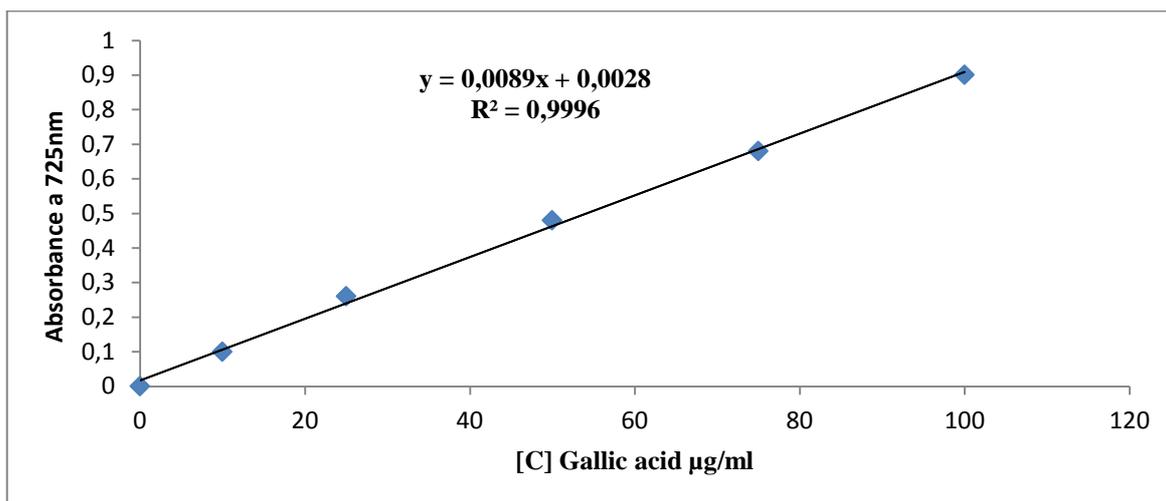


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

4.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux :

La teneur en flavonoïdes totaux l'extrait brut a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par (Barros *et al.*, 2011). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes (Fl) par le trichlorure d'aluminium et la soude, entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm.

Une prise de 500µl d'extrait convenablement dilué est mise dans un tube en présence de 2 ml d'eau distillée additionnée de 150µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂, 5%). Après 6min d'incubation à température ambiante, 150µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 10%) sont ajoutés au mélange. On apporte à ce dernier 2ml d'une solution de soude (NaOH, 4%) après 6min de repos puis on ajuste le volume final à 5 ml avec l'eau distillée. L'intensité de la couleur rose est mesurée à 510 nm après 15 min d'incubation. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée dans les mêmes conditions. (**Fig.13**)

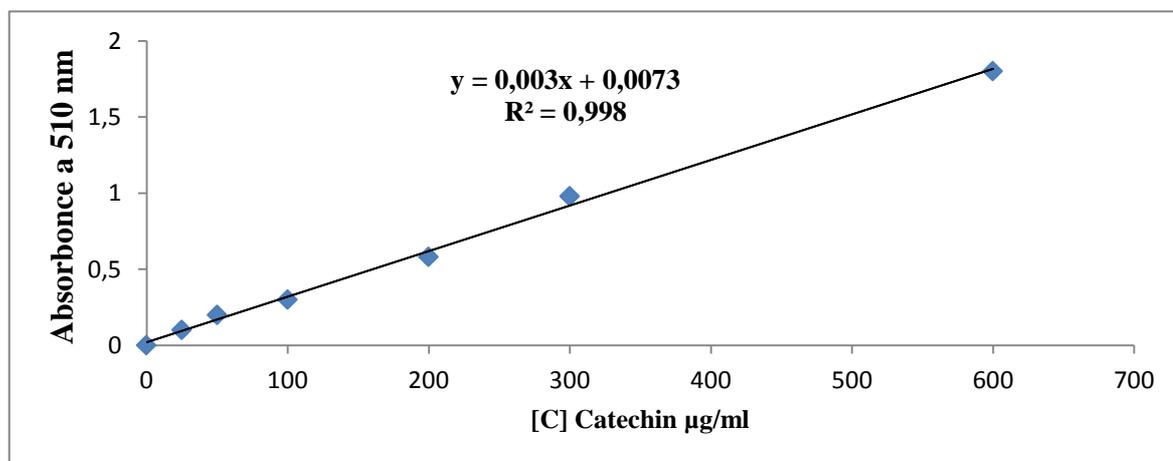


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

La teneur en flavonoïdes totaux d'extrait est alors exprimée en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines :

L'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait aqueux de la plante médicinale (P.M) *Salvia officinalis* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (**Fig.14**), la méthode consiste à préparer les solutions suivantes (Ghosh *et al.*, 2015) :

- **Solution d'essai (0.5ml)** composé de 0,45ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0.5% w/v et 0,05ml de différents extraits de la plante avec des concentrations varier (500, 1000, 1500 μ g/ml).
- **Solution contrôle (0.5ml)** composé de 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 0.5% w/v et 0.05ml d'eau distillé.
- **Solution contrôle produit (0.5ml)** composé de 0.45ml d'eau distillé et 0.05ml de différents extraits de la plante avec des concentrations variées (500, 1000, 1500 μ g/ml).
- **Solution standard (0.5ml)** composé de 0.45ml de la solution aqueuse de BSA 0.5% w/v et 0.05ml de la solution standard diclofénac sodium avec des concentrations variées (500, 1000, 1500 μ g/ml).



Figure 14 : Les quatre solutions utilisées d'inhibition de la dénaturation des protéines (Prise personnel).

Les échantillons ont été incubés à 37°C pendant 20min, ensuite la température était augmentée jusqu'à 57°C pendant 3min, après refroidissement des tubes, 205ml de la solution phosphate buffer saline (pH 6,3) à été ajoutée aux solutions (Ghosh *et al.*, 2015).

L'absorbance a été observée par spectrophotomètre UV-visible à 255nm et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = (100 - (\text{A solution d'essai} - \text{A contrôle produit} / \text{DO solution contrôle})) \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humaines :

L'activité anti-inflammatoire in vitro d'extrait *Salvia officinalis* été effectuée selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humaines (Admam *et al.*, 2017).

➤ Préparation des réactifs Alsevers solution

2g dextrose, 0.8g citrate de soduim, 0.05g d'acide citrique et 0.42g chlorure de soduim ont été dissous dans l'eau distillée. Le volume finale a été préparé jusqu'à 100ml avec l'eau distillée.

➤ Saline hypotonique

0.36g chlorure de soduim dissous dans 100ml d'eau distillée.

➤ Saline isotonique

0.85g chlorure de soduim dissous dans 100ml d'eau distillée.

➤ Tampon phosphate (PH 7.4 ; 0.15M)

2.38g d'hydrogènephosphate disoduim, 0.19g de dihydrogène phosphate de potassium et 8g chlorure de soduim ont été dissous dans 100ml d'eau distillée.

➤ Préparation de la suspension des globules rouges humaines (HRBC)

Le sang a été recueilli auprès d'un volontaire humain en santé qui n'avait pas pris de NSAIDS pendant 2 semaines avant l'expérience et a été mélangé avec un volume égal de la solution Alsevers stérilisée. Cette solution de sang a été centrifugée à 3000 tr/min à 10min et les cellules emballées ont été séparées. Les cellules emballées ont été lavées avec une solution d'isosaline et une suspension à 10% v/v a été préparée avec l'isosaline (Mohammed Munawar *et al.*, 2015).

Les solutions suivantes ont été utilisées :

- **Solution d'essai :** composé de 1ml tampon phosphate, 2ml solution saline hypotonique, 0.5ml d'extrait végétal de concentration variée (250, 500, 800et 1500 µg/ml) et 0.5ml des globules rouges humaines à 10% v/v cellules.
- **Solution contrôle :** composé de 1ml de tampon phosphate et 2ml d'eau et 0.5ml de globules rouges humains 10% v/v dans une solution saline isotonique.

- **Solution standard** : composé de 1ml de tampon phosphate, 2ml de solution saline hypotonique, 0.5 de la solution standard diclofénac soduim (250, 500, 800 et 1500µg/ml) et 0.5ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.

Tous les mélanges d'essai ont été incubés à 37°C pendant 30min, puis centrifugé à 3000tr/min pendant 20min (**Fig.15**). Le liquide surnageant a été séparé et la teneur en hémoglobine a été estimée par un spectrophotomètre à 560nm. Le pourcentage d'hémolyse a été estimé en supposant que l'hémolyse produite dans le contrôle était 100% (Admam *et al.*, 2017). Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane HRBC a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de protection} = (100 - (\text{DO solution d'essai} / \text{DO Solution contrôle})) \times 100$$

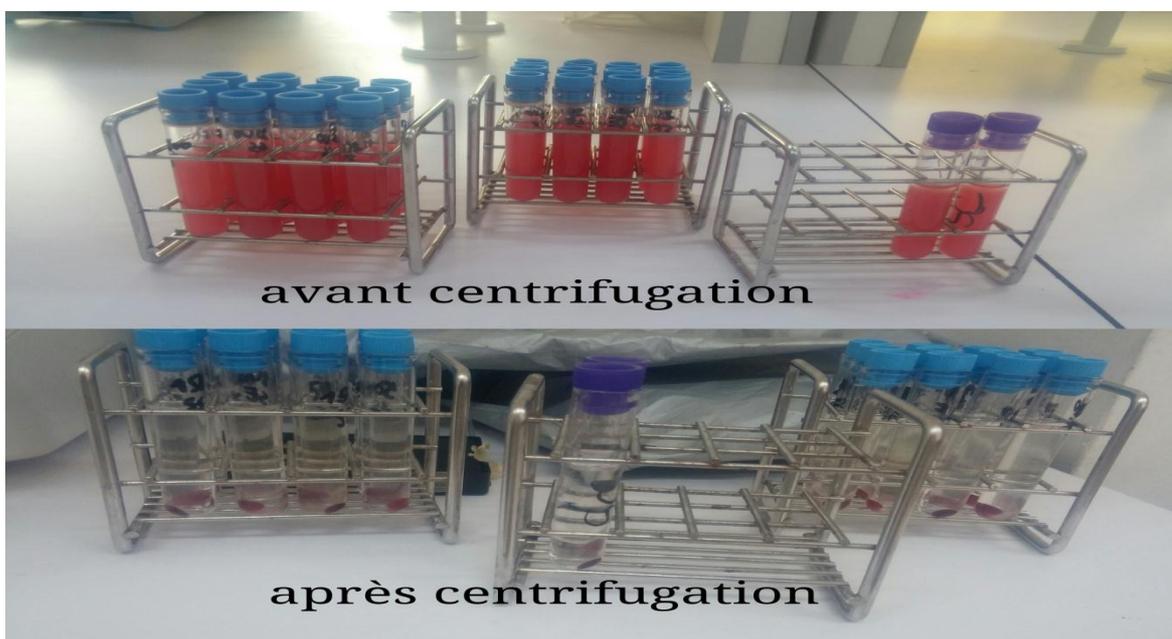


Figure 15 : les mélanges d'essai avant et après centrifugation (prise personnel).

6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo :

6.1. Protocole expérimentale :

6.1.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

6.1.1.1. Œdème de la patte droite induit par le formol chez la souris :

L'œdème est provoqué par l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de formol à 3%. Selon laquelle l'inflammation est induite par injection de formol au niveau de la voûte plantaire de la patte droite de la souris (**Fig.17**). L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par le Pied à coulisse digitale ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire (Rahmani *et al.*, 2016) (**Fig.18**). Pour chaque essai de l'activité anti-inflammatoire, cinq lots de cinq souris ont été utilisés. Ces souris ont été mises à jeun, 17 heures avant l'essai.

- Lot témoin contrôle : Les souris de ce lot reçoivent la solution véhicule (eau physiologique) par voie intra-péritonéale (ip), 30 min avant l'injection de formol (25 ml/kg ; 3%) dans la voûte plantaire de la patte droite de la souris.

- Lot témoin : Les souris de ce lot sain ne reçoivent aucune solution.

- Lot référence : Les souris de ce lot ont été traités par voie (ip) avec un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique, 30 min avant l'injection de la formole. L'administration de l'anti-inflammatoire se fait à raison de 25mg/kg.

- Lot essai 01 : L'extrait à tester est administré aux souris par voie (ip) à raison de 150 mg/kg ; 30 min avant l'injection de formol (**Fig.16**).

- Lot essai 02 : L'extrait à tester est administré aux souris par voie (ip) à raison de 300 mg/kg ; 30 mn avant l'injection de formol (**Fig.16**).

Le suivi de l'évolution de l'œdème se fait par mesure des deux pattes : une patte traitée P(t) et une patte non traitée P(nt), et ceci à 0, 30, 60, 120, 180 mn après injection du formol.

L'activité anti-inflammatoire des produits testés et son évolution ont été estimés par la détermination des pourcentages moyens d'inhibition de l'œdème, calculés suivant la formule.

$$\% \text{ d'inhibition} = ((Vt-V0) \text{ témoin} - (Vt-V0) \text{ traité}) / (Vt-V0) \text{ témoin} \times 100$$

- V0 représente le volume de la patte à t=0 (avant injection du formol).

- Vt représente le volume de la patte à un temps t quelconque.



Figure 16 : Administration du traitement

Figure 17 : Application du formole

(Prise personnel)



Figure 18 : Mesure de l'œdème de la patte droite. (Prise personnel)

6.3.1.2. Numération des cellules dans le sang :

La capacité de l'extrait de *Salvia officinalis* à stimuler les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire est évaluée en effectuant une FNS (Formule Numération Sanguine).

Après 4h de traitement, les souris sont sacrifiées (afin de récolte le maximum de sang), et le sang est récupéré dans des tubes à EDTA, et analysé dans un laboratoire d'analyse médicales. La FNS permet de donner le taux des éléments figurés du sang y compris les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire (globules blancs, granulocytes, monocytes et lymphocytes).

6.4. Analyse statistique :

Les résultats des tests effectués in vivo sont exprimés en Moyenne \pm SEM par un logiciel (Graph Pad. Prism. V 7.03). La différence entre le contrôle et les différentes doses est déterminée par le test one way ANOVA pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).

I. Résultats :

1. Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait aqueux préparés partir de feuilles de *Salvia officinalis* L. (**Tab 06**)

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Tableau 06 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre des feuilles de la plante

Recherche de	Feuilles
Alcaloïdes	++
Saponosides	+++
Tanins	++
Stérols et triterpènes	++
Coumarines	+++
Flavonoïdes	+++
Glycosides	-

Réaction fortement positive : +++

Réaction faiblement positive : +

Réaction moyennement positive : ++

Réaction négative : -

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé des feuilles de *Salvia officinalis*, mentionnés dans le tableau 06 ; montré que cette plante contient des flavonoïdes, des coumarines, des stérols et triterpènes, des tanins

dans les feuilles avec des intensités variables, et l'absence des glycosides sels. Ce qui confirme les travaux de (Taïba *et al.*,2017) qui a été révélé la présence des tanins, saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes dans l'extrait butanolique et éthanolique. La richesse de cet extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle comme un agent antioxydant, analgésique et anti inflammatoire.

2. Rendement en extrait sec :

L'extrait aqueux de *S.o* a été préparé selon la méthode traditionnelle de Ferreira et ses collaborateurs (2006), qui consiste à faire bouillir la poudre de la plante pendant 20 min dans de l'eau distillée. La poudre de la plante a été utilisée au lieu de la plante entière pour permettre une extraction plus efficace. Toutefois l'eau n'est pas le solvant idéal pour plusieurs constituants bioactifs des plantes. Elle permet d'extraire préférentiellement les composés polaires. A température élevée, l'eau peut aussi extraire quelques composés amphiphiles. L'utilisation de l'extrait aqueux en médecine traditionnelle est expliquée par la simplicité de l'extraction et de l'innocuité de l'eau, et en plus l'eau est le solvant qui permet une bonne extraction des différentes familles de molécules chimiques. Le rendement qui a été déterminé par rapport à 142g de matériel végétal sec est 14,08 %.Un rendement relativement supérieur à celui obtenu par Bouharb et ses collaborateurs (2014) qui estimé le rendement de l'extraction à 2,33 %.

3. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Fig. 19**).

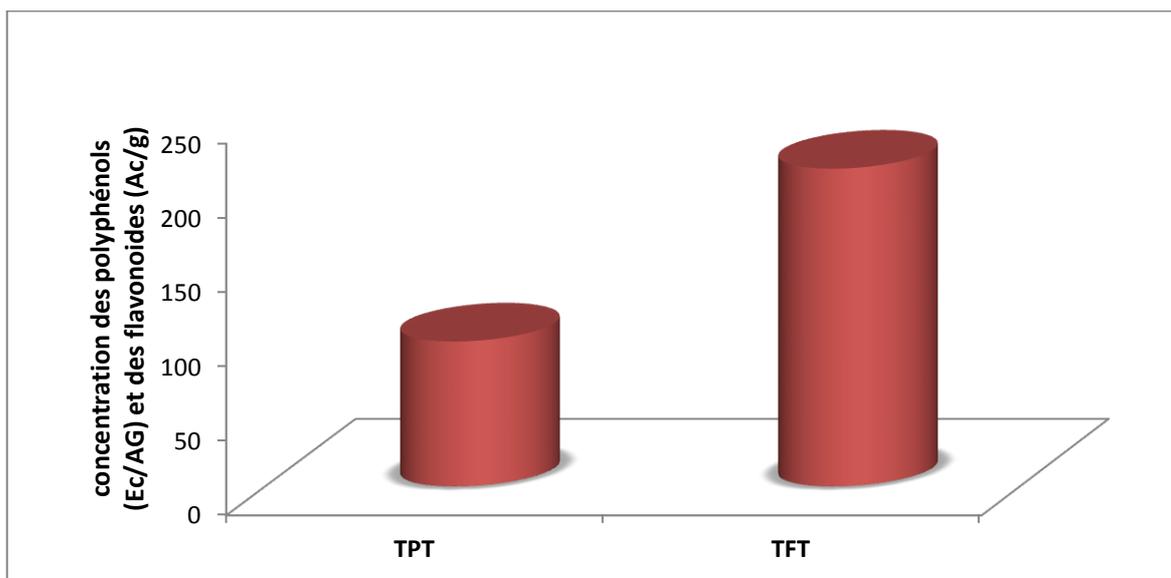


Figure 19 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux pour l'extrait brut des feuilles de la plante.

Une différence hautement significatif ($P < 0,001$) a été enregistré de la teneur des polyphénols totaux entre présent travaille et le travail de Madi (2010) avec l'extrait méthanoïque.

Les résultats montrent que le teneur en polyphénols totaux varie considérablement entre les deux travaux de *So*. Ce travaille possède la teneur la plus élevée, avec une valeur de 97,99 mg EAG/g de matière végétale sèche. Cependant l'autre travaille de l'extrait méthanoïque 16,64 mg EAG/g.

4. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique. La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait bruts des feuilles et fruits de *Salvia officinalis* qui est exprimé en mg équivalent de catéchine (EC) par gramme de matière végétale sèche (**Fig. 19**).

Une différence hautement significatif ($P < 0,001$) a été enregistré de la teneur des flavonoïdes totaux entre présent travaille et le travail de Madi (2010) avec l'extrait méthanoïque.

Les résultats montrent que le teneur en flavonoïdes totaux varie considérablement entre les deux travaux de *So*. Ce travaille possède la teneur la plus élevée, avec une valeur de 213,67 mg EC/g de matière végétale sèche. Cependant l'autre travaille de l'extrait méthanoïque 1,7061 mg EQ/g.

5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines :

Le Figure 20 montre les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA) de l'extrait brut de *Salvia officinalis*.

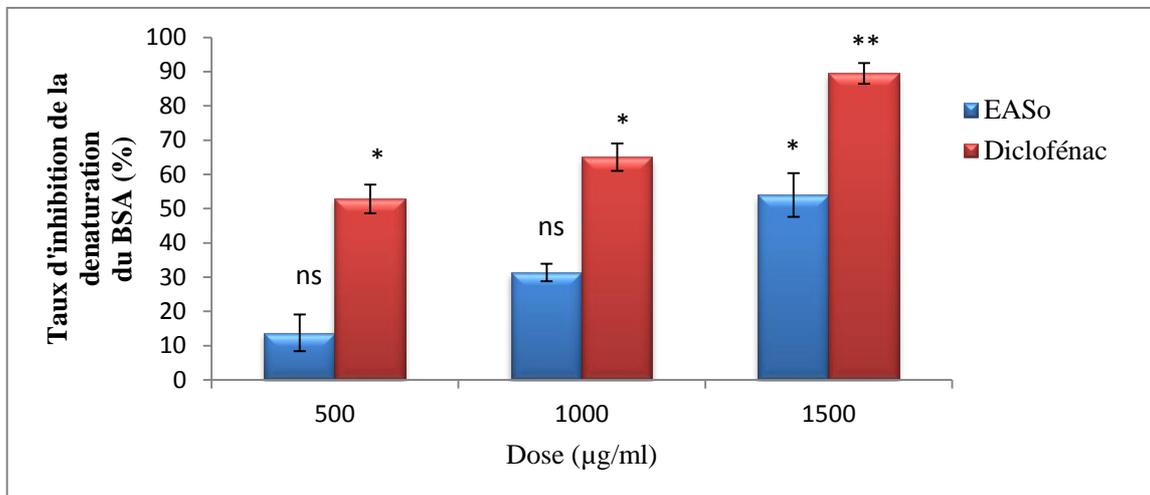


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA .Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

D'après les résultats nous avons observé un rapprochement de l'inhibition de la dénaturation de BSA.

Une inhibition significative ($P < 0,05$) a été enregistrée avec l'extrait de *So* à la dose 1500µg/ml qui est estimé par 53,99 %. Cependant la Diclofenac sodium inhibe hautement significativement ($P < 0,01$) de dénaturation à la même concentration.

Le pourcentage d'inhibition a été 13,74 %, 31,37 %, 53,93 % pour l'extrait aqueux de *S.o* à les doses de 500, 1000, 1500µg/ml respectivement.

Le Diclofenac sodium à dose 500, 1000, 1500µg/ml a été utilisé comme molécule de référence, les pourcentages d'inhibition étaient respectivement 52,83 %, 65,03 %, 89,49%.

Ces résultats montrent que l'effet anti-inflammatoire de l'extrait a été inférieur à celui de Diclofenac.

Taïba *et al.*, (2017) ont montré que l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* à concentration de 100 et 200 mg/ml a un effet inhibiteur de 78,85 % et 92,10 %, et le Diclofenac à concentration de 0,25 et 0,5 mg/ml à un pourcentage d'inhibition de 70,43 % et 78,60 %.

5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humaines :

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait brut de *Salvia officinalis* qui compte sur le pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge humains (GRH) est représentée dans le Figure 21.

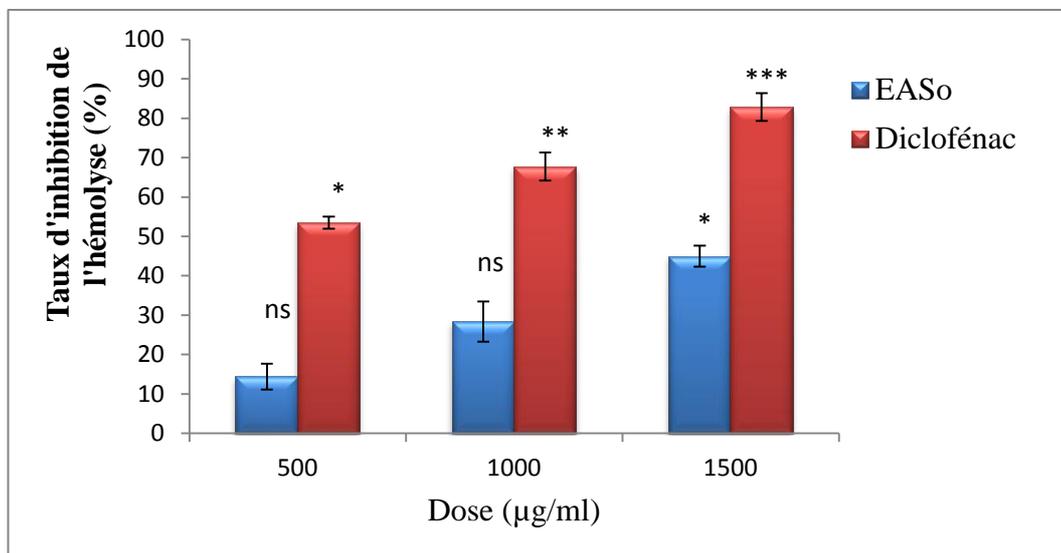


Figure 21 : pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge humains (GRH). Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

D'après les résultats enregistré un rapprochement d'inhibition de l'hémolyse. Une inhibition significative ($P < 0,05$) a été enregistrée avec la concentration 1500µg/ml de l'extrait aqueux de *S.o* qui estimé par le pourcentage 44,99 %. Cependant la Diclofenac sodium inhibe hautement significative ($P < 0,001$) qui estimé par la même concentration.

Les pourcentages d'inhibition été 14,41%, 28,37%, 44,99% pour l'extrait aqueux de *So* à les doses de 500, 1000, 1500µg/ml respectivement.

Le Diclofenac sodium à dose 500, 100, 1500µg/ml a été utilisé comme référence, les pourcentages d'inhibition étaient respectivement 53,46%, 67,75%, 82,83%.

Ces résultats montrent que l'effet anti inflammatoire de l'extrait à été inférieur à celui de Diclofenac.

6. Activité Anti-inflammatoire in vivo :

6.1. Effet de l'extrait aqueux de *So* sur l'œdème de la patte droite :

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des feuilles de la plante *Salvia officinalis*. Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème de la patte de souris induit par le formol à 3%. Il est testé sur ce modèle l'extrait aqueux, à la dose de 150 et 300 mg/kg en administration par intra-péritonéale. Les résultats obtenus ont

été comparés à ceux d'un médicament la Diclofenac qui est un anti-inflammatoires non stéroïdiens et à ceux du contrôle physiologique. Le formol entraîne une augmentation significative du volume de la patte de souris 3,91- 4,17 4,32- 3,97mm respectivement à 1h, 2h, 3 heures.

6.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH) :

➤ Groupes standards :

Pour le groupe standard, l'administration du Diclofenac à une dose de 25 mg/kg de p.c. présente une inhibition significative ($p < 0,05$) de l'œdème de la patte de souris à la première heure à la deuxième heure et une inhibition hautement significative ($p < 0,001$) à partir de troisième heure jusqu'à la fin (troisième heure) (**Fig. 22**).

➤ Groupe traité par l'extrait aqueux *Salvia officinalis* (150 mg /kg) :

L'administration intra-péritonéale de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* à la dose de 150 mg/kg présente une activité inhibitrice de l'œdème de la patte des souris, cette activité augmente progressivement jusqu'à la troisième heure de l'expérimentation, une inhibition significative ($p < 0,05$) au troisième heure. Sa valeur est (25%) (**Fig. 22**). De plus, aucune différence significative ($p < 0,05$) est notée entre les valeurs du pourcentage d'inhibition de l'augmentation du volume des pattes pendant la première et la deuxième heure respectivement.

➤ Groupe traité par l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* (300mg /kg) :

A la dose de 300 mg/kg l'effet inhibiteur de l'extrait de *Salvia officinalis* administré par intra-péritonéale se manifeste dès la première heure qui suit l'injection du formol avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de (21.5%) cette activité augmente progressivement jusqu'à la troisième heure (31%) et enregistre une inhibition significative ($p < 0,05$) (**Fig. 22**).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *S.o* réduit de façon appréciable l'œdème induit par le formol .la richesse de plante en différents constituants chimiques peut justifier cette activité(Rahmani *et al.*, 2016).

Esam et ses collaborateurs (2010), ont montré que l'inhibition de l'œdème induit par la carragénine de la patte des rats Wister de l'extrait aqueux et butanol de *So* étaient significativement ($p < 0.05$) différents du groupe témoin.

Rahmani et ses collaborateurs (2016), travailler sur l'extrait aqueux de *Limoniastrum feei* par la même méthode et ont montré que *L. feei* possède une activité

anti-inflammatoire ; parce que la dose de 25 mg/kg montre respectivement un pourcentage d'inhibition de $20 \pm 0.007\%$, et de $33.33 \pm 0.01\%$, et $69 \pm 0.03\%$, et de $85 \pm 0.04\%$.

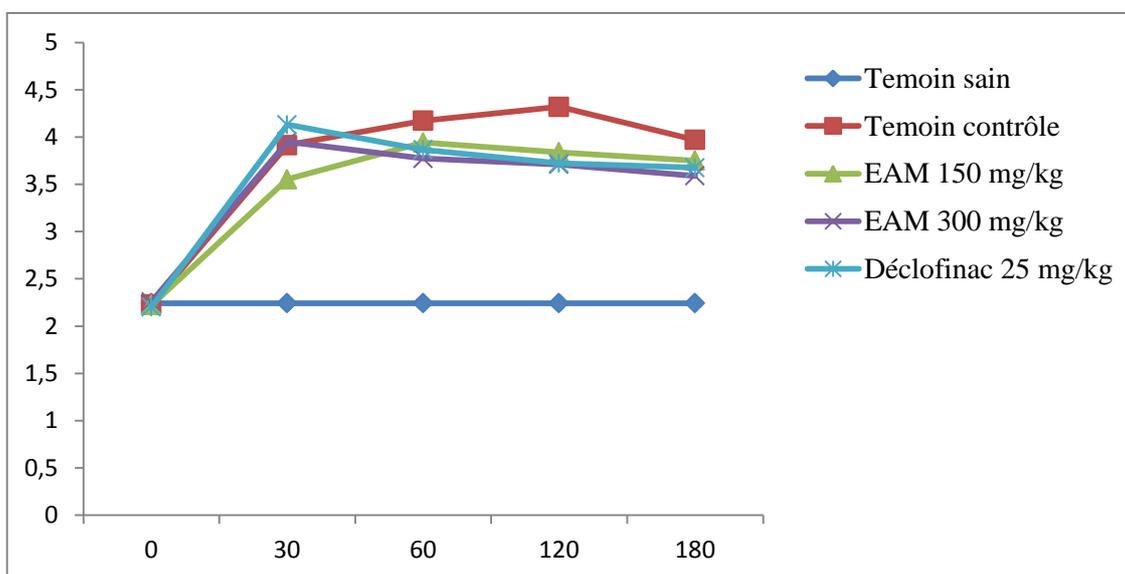


Figure 22 : Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intrapéritonéale, après l'injection de formol. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

6.3.L'effet de l'extrait aqueux *Salvia officinalis* sur le taux des cellules immunitaire (leucocyte, monocyte, lymphocyte, granulocyte) :

Selon les résultats de la FNS une augmentation très significative ($p < 0.01$) de nombre des leucocytes chez le groupe contrôle $10.08 \pm 0.36 \times 10^9$ cell /L. Par rapport aux témoins sains $3.33 \pm 0.10 \times 10^9$ cell /L. Cette augmentation est due à une forte inflammation dans le corps.

Après le Figure 23 une diminution significative ($p < 0.05$) de nombre des leucocytes chez les souris traitées par la Diclofenac (25mg/kg) est de $5.95 \pm 0.28 \times 10^9$ cell /L. Tandis que on a enregistré une diminution hautement significative ($p < 0.001$) du taux des leucocytes ($4.12 \pm 0.22 \times 10^9$ cell/L), (3.57 ± 0.26) été observé chez les souris traité par la dose 150,300 mg/kg respectivement à la comparaison avec le groupe contrôle.

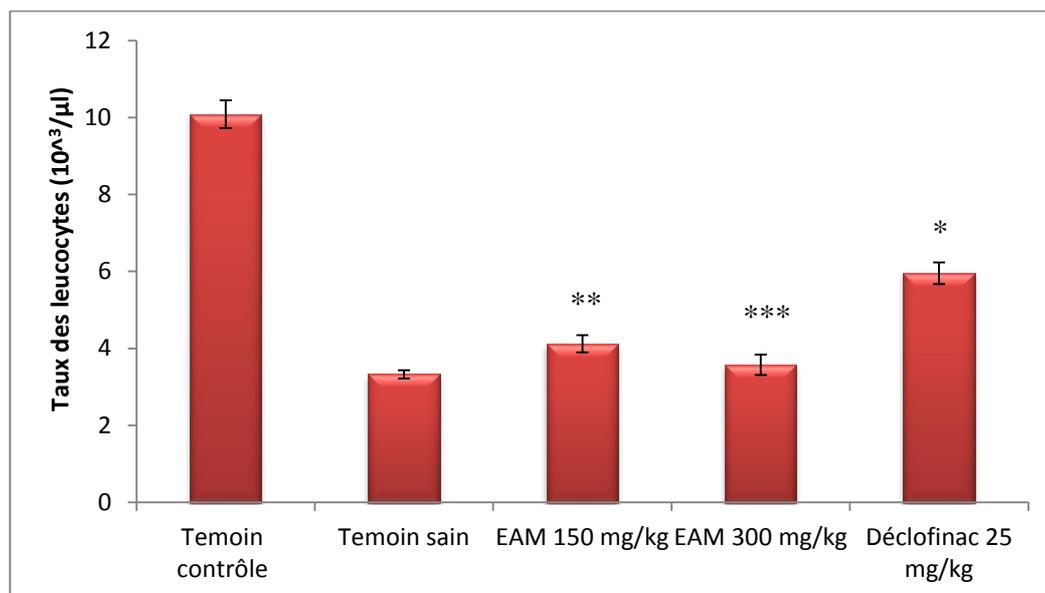


Figure 23 : le taux des leucocytes chez les différents groupes testés. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

Une augmentation significative ($p < 0,05$) de nombre des monocytes chez le groupe contrôle ($1.68 \pm 0.31 \times 10^9$ cell/L) par apport aux témoins sains ($0.66 \pm 0.13 \times 10^9$ cell/L) cette augmentation est due à une forte inflammation dans le corps (**Fig. 24**).

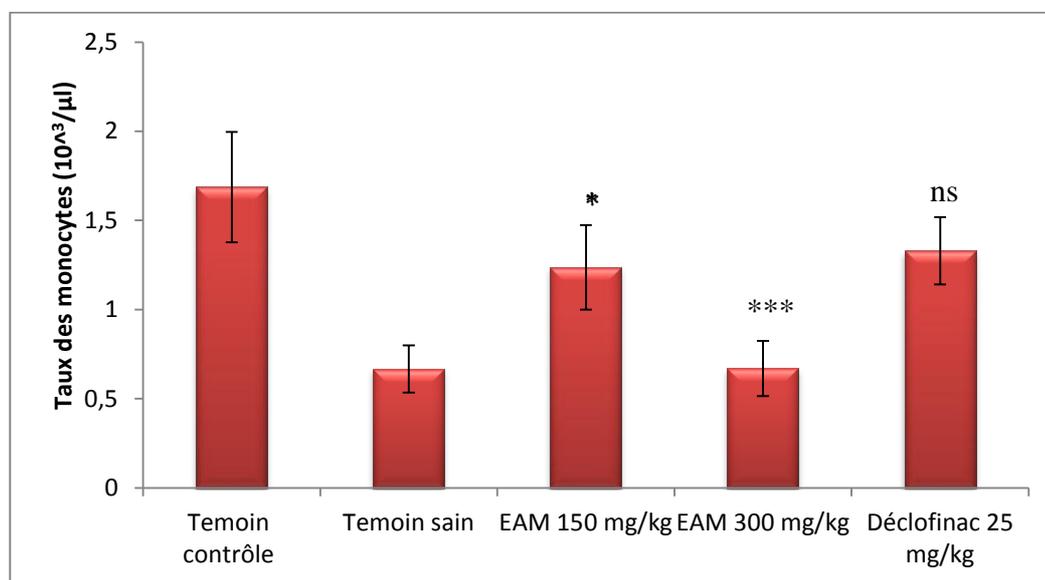


Figure 24 : le taux des monocytes chez les différents groupes testés. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

Pour les lymphocytes on a mesuré une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le groupe contrôle ($4.33 \pm 0.66 \times 10^9$ cell /L) par rapport aux témoins sains ($2.07 \pm 0.04 \times 10^9$ cell /L) (**Fig.25**) cette augmentation est due à une forte inflammation dans le corps.

D'après la courbe une diminution significative de nombre des lymphocytes chez les souris traitées par la Diclofenac (25mg/kg) est de ($2.91 \pm 0.07 \times 10^9$ cell /L). Tandis que les doses 150 /300 mg/kg diminue significativement le taux des lymphocytes respectivement ($2.02 \pm 0.15 \times 10^9$ cell /L) et ($2.31 \pm 0.25 \times 10^9$ cell /L).

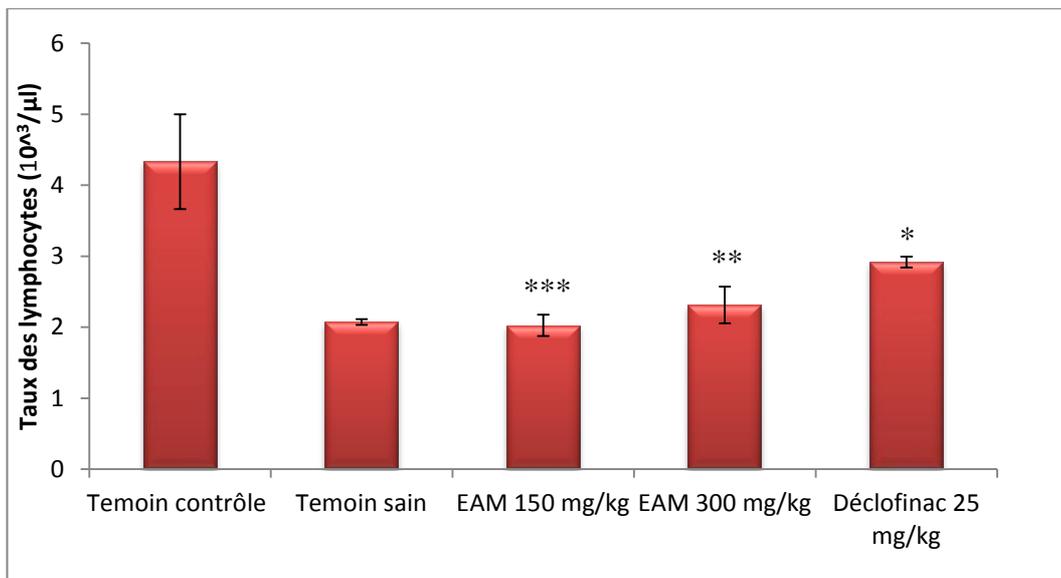


Figure 25 : le taux des lymphocytes chez les différents groupes testés. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

Une augmentation significative ($p < 0.05$) de nombre des granulocytes chez le groupe contrôle ($2.73 \pm 0.71 \times 10^9$ cell/L). Par rapport aux témoins sains ($0.67 \pm 0.04 \times 10^9$ cell/L) (**Fig.26**).

D'après la courbe une diminution significative de nombre du granulocyte chez les souris traitées par la Diclofenac (25mg/kg) est de ($1.7 \pm 0.1 \times 10^9$ cell /L). Tandis que les doses 150 /300mg/kg diminue significativement le taux du granulocyte respectivement ($0.76 \pm 0.04 \times 10^9$ cell/L), ($0.0.9 \pm 0.2 \times 10^9$ cell/L).

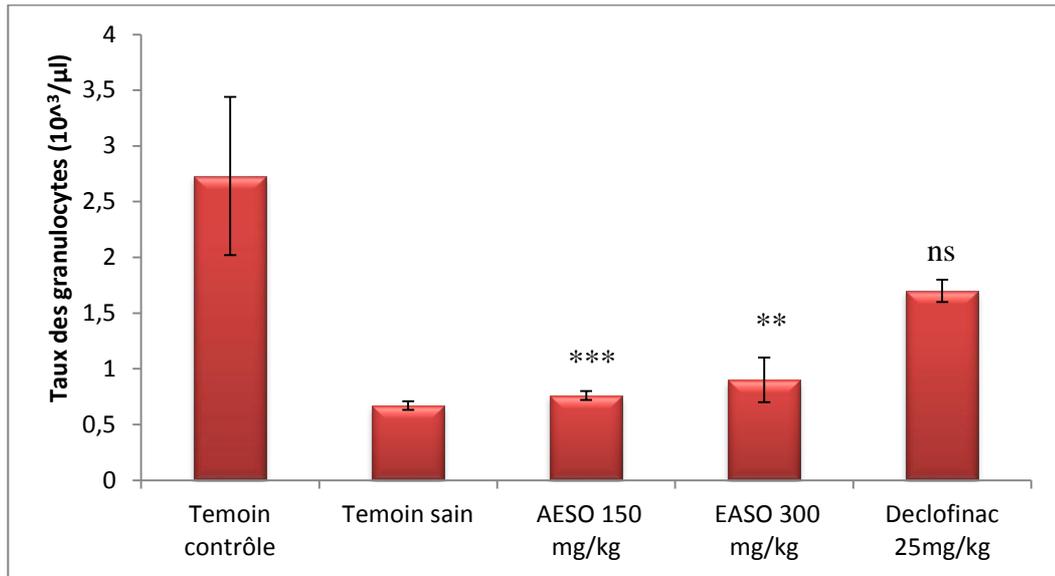


Figure 26 : le taux des granulocytes chez les différents groupes testés. Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

II. Discussion :

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (Barros *et al.*, 2008 ; Bagad *et al.*, 2011). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintient la structure tridimensionnelle des protéines (Manvar *et Desai.*, 2014).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme la phénylbutazone et l'indométacine n'inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (Sangeetha *et al.*, 2011). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique (pH : 6.2 à 6.5). D'après les résultats, on constate que l'extrait brut de *Salvia officinalis* sont capables de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut-être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins dans l'extrait trouvés lors des criblages phytochimiques. De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines. On peut conclure que l'extrait brut utilisé dans cette étude possède un effet anti-inflammatoire marqué *in vitro* contre la dénaturation des protéines, et que d'autres études définitives sont nécessaires pour déterminer les mécanismes et les électeurs derrière ses actions anti-inflammatoires.

Il est connu que la membrane de GR est structurellement équivalente à la membrane lysosomiale. Pour toute substance protégeant la membrane GR peut être prévue comme un stabilisateur de la membrane lysosomiale (Mohammed Munawar *et al.*, 2015). La Lyse membranaire des GRs est causée par les blessures ou de l'hémolyse ou bien de l'oxydation d'hémoglobine. Ce type de dommage est causé par des dommages secondaires des GRs par l'intermédiaire de la peroxydation lipidique induite par des radicaux libres ainsi que la libération des médiateurs inflammatoires comme les phospholipases (Gaffo *et al.*, 2006).

La méthode de la stabilisation des membranes des GRH a été choisie pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut de *Salvia officinalis* *in vitro* car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomiale et sa stabilisation implique que l'extrait peut ainsi stabiliser les membranes lysosomiales. La Stabilisation de

la membrane lysosomiale est importante dans la limitation de la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosmiques des neutrophiles activés tels que les enzymes bactéricides et les protéases qui provoquent une inflammation des tissus et d'autres dommages lors de la libération extracellulaire (Shendkar *et al.*, 2014). L'hémolyse induite par l'hypotonie peut découler de la perte des cellules en raison de la perte de pression osmotique de liquide intracellulaire et composant électrolytiques. L'extrait peut inhiber les processus, qui peuvent stimuler ou d'améliorer l'efflux de ces composants intracellulaires (Kumar *et al.*, 2012).

Pour étudier l'activité de la plante après une inflammation aiguë, un œdème local provoqué par le formol dans la patte de souris (Rahmani *et al.*, 2016).

Dans les conditions expérimentales le formol a provoqué l'œdème dont le volume est maximal au bout de trois heures (Singla *et al.*, 1990 et Viana *et al.*, 1998). Le formol provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (Sen *et al.*, 1991 et Singh *et al.*, 1997 et Suzuki *et al.*, 1996) tout comme la carragénine (Bhatt *et al.*, 1977 et Ossipov *et al.*, 1995). La cause de cette réaction inflammatoire est la lésion tissulaire. Cette lésion tissulaire induit la synthèse de l'histamine, des prostaglandines, des leucotriènes (Ammon *et al.*, 1993), du PAF (facteur d'activation plaquettaire), des cytokines, du NO (monoxyde d'azote) et du TNF (facteur de nécrose tumorale) (Clarke *et al.*, 1996). Les effets d'extraits aqueux de *S.officinalis* sur l'œdème s'expliqueraient par l'inhibition de la synthèse des substances pro-inflammatoires.

Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules bioactives ayant montré leurs efficacités dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés, lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Salvia officinalis possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia officinalis* a été évaluée, via le test d'inhibition de la dénaturation des protéines, l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* présente une capacité intéressante pour réduire le taux de la dénaturation des protéines, un maximal taux d'inhibition a été enregistré avec une valeur de 53,99% à la dose 1500 µg/ml.

Alors que dans le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains, *Salvia officinalis* présente une capacité de la protection de la lyse de la membrane, un maximal taux d'inhibition et de protection de la membrane enregistré avec 44,99% à la dose 1500 µg/ml. Nous conduira dans la perspective future de notre étude, de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique avancée.

L'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par le formol chez la souris permet de conclure que l'extrait aqueux possède une activité anti-inflammatoire importante lorsqu'ils sont administrés par voie intra-péritonéale. Cette activité est comparable à celle de Diclofenac qui est un anti-inflammatoire de référence. Ceci est confirmé par les résultats du test de numération des cellules dans le sang (FNS).

Cette plante utilisée sous différentes formes en phytothérapie par sa puissance de l'activité anti-inflammatoire.

D'autres travaux sont nécessaires pour tester d'autres doses et d'autres extraits de la plante. Il est intéressant aussi de définir les principes actifs de la plante ainsi que leur structure et leurs modes d'action.

Référence bibliographiques

- Admam Souad, Boumendjel Meriem.** Etude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, des extraits du fruit de *Pistacia lentiscus* sur la stabilité membranaire de globule rouge. Université A. Mira-Bejaia, 2017, 75.
- Albano, S.M, Miguel, M.G.** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. Industrial crops and products. 2011, 33, 338-343.
- Alloun Kahina.** Composition chimique et activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles l'anth (*Anethum graveolens*L), de la sauge (*Salvia officinalis* L). Ecole nationale superieur agronomique EL-Harrach –Alger-, 03-10-2013, 119.
- Ammon H. P. T.; Safayhi H.; Mack T.;Sabieraj J.** Mechanism of antiinflammatory actions of curcumin and boric acids. *Ethnopharmacology*. 1993, 38:113-119.
- Annie Botrel.** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. 2nd edition. 2001, ISSN 2-03-560252-1.
- Awah, F.M., Uzoegwu, P.N., Ifleonu, p., Oyugi, J.O., Rutherford, J., yao, X.J., Fehrman, F., Fowk, K.R., Eze, M.O.** Free radical scavenging activity phenolic contents and cytotoxicity of selected Nigerian medicinal plants. *Food chemistry*, 2012, vol. 131, n°4, app. 1279-1286.
- Barnes p.** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*. 1989, 94, 557-572.
- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.** Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem*. 2008; **111**: 61–66.
- Barton G.** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*. 2008, 118, 413-420.
- Bagad, Y.M., Umakar, A.R., Tatia, A.U., Surana, S.J.** Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airryshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*; 2001, 4(5):1326-1332.
- Benzahi, K.** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante *Cynodon Dactylon*-L. mémoires de Magister. *Université de Ouargla*. 2001; p.15-17.
- Bhatt K. R.; Mehta R. K.; Shrivastana P. N.** A simple method of recording antiinflammatory effects on rat paw oedema. *Indian J. of Physiology and Pharmacology*. 1997, 21: 399-400.
- Bidaut-russel M.** Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs : consequences and costs. *Best practice & research clinical Gastroenterology*. 2008, 15, 739-753.

- Botting R., Botting JH.** Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain : An overview. *Clinical Drug Investigation*. 2000, 19, 1-7.
- Bouaouina Dalila, Boulhabel Hala Roumeissa, Bousba Esma.** L'effet préventif de la plante médicinale Algérienne *Salvia officinalis* contre la toxicité cardiaque induite par la doxorubicine. Université des frères Mentouri Constantine, 2017, 101.
- Bouharb Hayat, EL Badaoui Khalid, Zair Touriya, EL Amari Jalila, Chakir Said, Alaoui Tajelmolk.** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of applied biosciences* 78 :6685-6693. 2014, 9. ISSN 1997-5902.
- Carron C.A, Previdolia S, Cattagnond A, Rey C et Carlen C.** Saugue officinale : productivité et qualité de la nouvelle variété regula. *Agroscope RAC changins station fédérale de recherches agronomiques*. 2005, 87(4), 235-239.
- Charles N., Peter A., Derek W.** *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press. 2010, 2-3.
- Chloé Gonzales.** Apport de la phytothérapie dans le traitement des symptômes de la ménopause. Université de Limoges, faculté de pharmacie. 2014, 175.
- Clarke J. M ; Sabrena M. B.; Edward C.; Jo Rae W.** Surfactant protein A protects growing cells and reduces TNF-alpha activity from LPS-stimulated macrophages. *American Journal of Physiology*. 1996, 271:310-319.
- Couplan F.** Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed). Luisane. Paris. 2000
- Cronquist A.** The evolution and classification of flowering plantes, 1968, 396p.
- Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V.** Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 1996, 36, 310-314.
- Dombrowicz D., Capron M.** Eosinophils, allergy and parasites. *Current Opinion in Immunology*. 2007, 13, 716-720.
- Duwiejua M., Zeitlin I.** Plants as source of anti-inflammatory substances. In : *Drugs from Natural Products : Pharmaceuticals and Agrochemicals*. Harvey A L. Eds, Taylor & Francis (Royaume-Uni). 1993, p : 153.
- Eming S., Krieg T.** Davidson J. Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007, 127, 514-525.
- Erdemoglu N., Kupeli E., Silada Y.** Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish Folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003, 89, 123-129.
- Esam Y. Ounais, Mohamed Abu-Dieyeh, Fuad A. Abdulla, Shtaywy S. Adalla.** The antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Salvia officinalis* leaf aqueous and butanol extracts. *Pharmaceutical Biology*. 2010, 48(10) : 1149-1156, ISSN 1388-0209.
- Fauve R., Hevin M.** Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. In: inflammation. Russo-Marie F, Peltier A, Polla B S. Eds, John Libbey Eurotext (France). 1998, 10-19.
- Fellah .S, Romdhame .M, Aberraba .M.** Extraction et etude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cellule dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la société Algérienne de chimie*. 2016, 16(2), 193-202.

- Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M., Araujo M.** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006, 108, 31–37.
- Fkih Sana.** Etude de l'effet de l'irradiation ionisante sur certains polyphénols alimentaires et résidus pesticides. Université du 7 novembre à Carthage. 26.6.2007, 85.
- Gravel, S.P.** Rôles des kinases IKK et IKK-related dans les maladies inflammatoires chroniques ; implications dans l'athérosclérose et la réponse hyposcique. Thèse de doctorat : pharmacologie. Université de Montréal. 2010.
- Gaffo, A., Saag, K.G., Curtis, J.R.** Treatment of rheumatoid arthritis. *Am J Health Sys Pharm*; **63**: 2451-2465. 2016.
- Ghezil Sara, Rouabhia Saida.** Etude de l'effet de *Salvia officinalis* sur les variations de quelques paramètres du stress oxydatif chez la souris supplémentée en méthionine. Université de Larbi Tébessa –Tébessa-, 2016, 76.
- Ghorbani Ahmed, Esmaeilzadeh Mahdi.** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*. Janvier 2017, 7, 433-440.
- Ghosh Susmita, Saha Kalyani, Dasgupta Subir Chandra, Gomes Antony.** In vitro and in vivo anti-arthritis and anti-inflammatory activity of *Bungarus fasciatus venom*. *Journal of toxins*. 2015: 2 (1): 5.
- Hadjila Amel.** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (sauge). Université de Tlemcen, 2016, 80.
- Hammoudi Roukia.** Activité biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algérien. Université Kasdi Merbah –Ourglah-. 2015, 166.
- Hellal, M.** Phtalazimones et 2,3-benzodiazépines dérivées de l'azélastine: synthèses et activités anti-cytokine. Thèse de doctorat: pharmacochimie. Strasbourg: Université Louis Pasteur. 2007.
- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., Rrginster, J.Y.** Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue médicale de Liege*, 2001, 56(6), 433-42.
- Henzen C.** Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*. 2003, 19, 442-446.
- Himour Sara, Yahia Abdouhab, Belattar Hakima, Bellebcir Leila.** Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea L. var chemlel d'Algérie*. *Journal of bioresources valorizations*. 2016, 1(1), 34-38.
- Iliora Oniga, Alina Elena Parvu, Anca Toiu, Daniela Banedec.** Effects of *Salvia officinalis* L. Extract on experimental acute inflammation. 2007, vol 111.
- Hogan S., Rosenberg H., Moqbel R., Phipps S., Foster P., Lacy P., Kay A. Rothenberg M.** Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy*. 2008, 38, 709–750.

- Iwalewa, E.O, McGaw, L.J, Naidoo, V, Elloff, J.N.** Inflammation : the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of biotechnology*. 2007, 6(25).
- Karina B, Oliveira, Erika Palu, Almeriane M. Weffort Santos, Bras H. Oliveira.** Influence of *Rosmarinic acid* and *Salvia* extracts on melanogenesis of B16F10 cells. *Revista brasileira de farmacognosia Brazilian journal of pharmacognosy*. Mar/Apr 2013, 23(2), 249-258. ISSN 0102-695X.
- Khan, I.A, Abourashed, E.A.** Leung's encyclopedia of common natural ingredients : used in food, drugs and cosmetics. (Hoboken, Ed) (3rd ed, p.845). 2010.
- Khenfer Siham, Medjonel Maroua.** Evaluation biologique des extraits des plantes à caractères médicinales récoltés dans la région du sud algérienne. Université Kasdi Merbah. 2014, 51.
- Khireddine Hamida.** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Université M'hmed Bougara –Boumerdas-, 2013, 140.
- Kumar,V., Bhat, Z.A., Kumar, D., Khan, N.A., Chashoo, I.A.** Evaluation of anti-inflammatory potential of leaf extracts of *Skimmia anquetilia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* ; 627-630. 2012.
- Longe, J.L.** The gale encyclopedia of alternative medicine. (D.S. Blanchfield, F. Laurie, E. Watts, Eds) (2nd ed). Thomson Gale. 2005.
- Madi Aicha.** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Université Mentouri Constantine. 2010, 116.
- Mansourabadi Amir Hossein, Sadeghi Hamid Mohammed, Razavi Nastaran, Rezvani Ebrahim.** Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, *Salvia officinalis* flavonoid extract. *Advanced herbal medicine*. 2015, 1(3) : 31-41.
- Mansour Saïda.** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scabroides* Etude in vivo. Thèse de doctorat. Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf. 2015, p.3.
- Manvar, Mital., Desai,N.** In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activities of Fruits of *Vernonia anthelmintica* Willd. (Asteraceae). *the Journal of Pharmaceutical Research*; 4 : p186-188. 2014.
- Medzhitove, R.** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. Vol 454, N°7203, pp 428-435. 2008.
- Meziti H.** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Mémoire de Magister. Setif : université Farhat Abbas. 2009, 85.
- Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R.** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris. 2004.

- Michel, T.** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaé rhamnoides*). Thèse de doctorat. Université d'Oréals, 2011.
- Mohammed. Munawar.Hossain., Mohammad,Shah .Hafez.Kabir.,AbulHasanat., Montoro, P., Tuberoso ,C.I.G., Perrone, A., Piacente,S., De,Feo. V., Cabras, P., Pizza, C.** Characterisation by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry of anthocyanins in extracts of *Myrtuscommunis*L. Berries used for the preparation of myrtle liqueur, *Journal of Chromatography*.2006, 1112: 232-240.
- Mohsen Hamidpour, Rafie Hamidpour, Soheila Hamidpour, Mina Shahlari.** Chemistry, pharmacology and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of traditional and complementary medicine*. 2014, 4(2), 82-88.
- Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed S & Ghorbani A.** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, *J. Pharm. Res.* 2, 63-79. 2005.
- Nathan C.** Points of control in inflammation. *Nature*. 2002, 420, 846-852.
- Ossipov M. H.; Kovelowski C. J.; Porreca F.** The increase in morphine antinociceptive potency produced by carrageenan-induced hindpaw inflammation is blocked by naltrexone, a selective delta-opioid antagonist. *Neuroscience Letter*. 1995, 184: 173-176.
- Pauline Paget.** La phytothérapie dans la prise en charge des troubles climatiques de la ménopause: enquête auprès des officines nantaises. Université de Nantes, 2011, 128.
- Pistrick K.** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2002, 49: 211-225.
- Quezel P., Santa S.** Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. CNRS. 1963.
- Rahmani Samia, Belboukhari Naser, Sekkoum Khaled, Cheriti Abdelkerim.** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (plumbaginacea). *Algerian journal of arid environment*. Juin 2016: 80-86. ISSN 2170-1318.
- Rankin J.** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues*. 2004 15, 3-17.

- Rhen, T., & Cidlowski, J. A.** Antiinflammatory action of glucocorticoids— new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*. 2005, 353(16), 1711-1723.
- Rodrigues MR, Kanazawa LK, Das Neves TL, Da Silva CF, Horst H, Pizzolatti MG, Santos AR, Baggio CH, Werner MF.** Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Ethnopharmacol.* 2011, 139(2). DOI: 10.1016/j.jep.2011.11.042.
- Sangeetha, M., K, Kousalya., Lavanya, R., Cherukuru, S., Chamundeeswari, D., Uma Maheswara .R.** In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of *Cleo Dendron Inerme*. *RJPBCS* ;2 (1): 822-827. 2011.
- Scholey, A.B, Tildesly, N.T.J, Bellard, C.G, Wesnes, K.A, Tasker, A, Perry, E.K, Kennedy, D.O.** An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology*. 2008, 198, 127-139.
- Setty A., Sigal L.** Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology : Mechanism of action, Efficacy, and side effects. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 2005, 34, 773-784.
- Shendkar, A.K., Chaudhari, S.G., Shendkar, Y.K.** In vitro antiarthritic activity of *Withaniacoagulans* dunal fruits. *IAJPR* 4: 915-924. 2014.
- Singh S.; Bani S.; Singh S. B.; Gupta B. D.; Banerjee S. K.; Singh B.** Anti-inflammatory activity of lupeol. *Fitoterapia*, LXVIII (1): 9-16, 1997.
- Singla A. K.; Pathak k.** Topical anti-inflammatory effects of *Euphorbia prostrata* on carrageenan-induced footpad oedema in mice. *Journal. Of Ethnopharmacology*, 1990, 29: 291-294.
- Steinhubl S.** Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2007, 21, 115-121.
- Sura Mohammed Kadhim, Mustafa Taha Mohammed, Omar Mohammed Ahmed, Abdulkadir Mohammed Norri Jassim.** Study of some *Salvia officinalis* L. (sage) components and effect of their aqueous extract on antioxidant. *Sadguru publications*. 2016, 14(2), 711-719. ISSN: 0972-768X.
- Suzuki T.; Kishimoto Y.; Misawa M.** Formalin-and carrageenan-induced inflammation attenuates place preferences produced by morphine, methamphetamine and cocaine. *Life Science*. 1996, 59: 1667-1674.

- Taiba Imen, Boumahart Meriem, Boulifa Asma.** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipurétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia officinalis* L. Université des Frères Mentouri Constantine, 2017, 99.
- V Stankov, S.** Définition of inflammation causes of inflammation and possible anti-inflammatory strategies. *The open inflammation journal*. 2012, 5(1).
- Viana C. F. G.; Aragao A. G. M.; Ribeiro R. A.; Magalhaes J. F. G.; Yale M . R.** Effectsof *Ageratum conyzoides* in nociception and inflammation response induced by zymosan . *Fitoterapia*, LXIX (4): 349-354, 1998.
- Wallace M, Staats P S.** Pain medicine and management: just the facts. McGraw-Hill (New York). 2004, pp: 48.
- Weill B., Batteux F., Dhainaut J.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris). 2003, 12-23.
- Wiat C.** Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific. Eds, Humana Press (Totowa). 2006, pp: 1-20.
- Williams C M M, Galli S J.** The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2000,105, 847-59.
- Zerrouki Khayra.** L'effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la neurotoxicité et les maladies neurodégénératives dues aux métaux lourds (Aluminium et Plomb): "Etude expérimentale chez les souris". Université Abdlhamid Ibn-Bdis – Mostaghanem-, 2017, 272.

Résumé :

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules anti-inflammatoire et antioxydants d'origine naturelle.

Le présent travail a pour l'objectif de faire une étude phytochimique, et d'évaluer, comparé et confirmer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la plante *Salvia officinalis*.

Les tests phytochimiques réalisés ont parmi de mettre en évidence. Des flavonoïdes, des tanins, des stérols, des triterpènes, des coumarines, des alcaloïdes et l'absence des glycosides.

La teneur des flavonoïdes est plus élevée que la teneur des polyphénols totaux.

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été évaluée par deux méthodes ; la dénaturation du BSA et la stabilisation des membranes des globules rouges humains. L'extrait brut de *S.o* présente une capacité intéressante pour réduire le taux de la dénaturation des protéines, un maximal taux d'inhibition a été enregistré avec une valeur de 53,99% à la dose 1500µg/ml. Il présente aussi une capacité de la protection de la lyse de la membrane, un maximal taux d'inhibition et de protection de la membrane enregistré avec 44,99% à la dose 1500µg/ml.

L'étude in vivo a été réalisée sur des souris Swiss albinos âgées et pesant entre 26-40 g. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en mesurant l'œdème induit par le formol 3% selon la méthode de Rahmani et ses collaborateurs. L'injection par voie ip de l'extrait aqueux de *S.o* a réduit significativement le volume de l'œdème de la patte droite par le formol 3% chez les souris avec un pourcentage d'inhibition 25%, 31% pour les doses 150, 300 mg/kg respectivement, une réduction relativement à celle obtenue avec diclofinac, anti-inflammatoire de référence 70%. Les résultats obtenus par le FNS montrent que le *S.o* a un effet immunostimulant remarquable sur les principales cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.

En conclusion, *S.o* est une plante intéressante dont l'extrait aqueux pourrait être utilisé de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation.

Mots clés : *Salvia officinalis*, activité anti-inflammation, diclofénac, extrait aqueux.

Abstract :

Much of the current research interest is in the study of naturally occurring anti-inflammatory and antioxidant molecules.

The present work has for the purpose of doing a phytochemical study, and evaluating, comparing and confirming the anti-inflammatory activity of the aqueous extract of the plant *Salvia officinalis*.

The phytochemical tests carried out have among to highlight. Flavonoids, tannins, sterols, triterpenes, coumarins, alkaloids and the absence of glycosides.

The content of flavonoids and higher than the content of total polyphenols.

In vitro anti-inflammatory activity was evaluated by two methods; denaturation of BSA and stabilization of membranes of human red blood cells. The raw extract of *S.* presented an interesting ability to reduce the rate of denaturation of proteins, a maximum rate of inhibition was recorded with a value of 53.99% at the dose 1500µg / ml. It also exhibited a membrane lysis protection capacity, a maximum inhibition rate and protection of the membrane recorded with 44.99% at a dose of 1500 µg / ml.

The in vivo study was performed on aged Swiss albino mice weighing 26-40 g. The anti-inflammatory activity was evaluated by measuring the edema induced by 3% formalin according to the method of Rahmani and his collaborators. The ip injection of the aqueous extract of *S.* reduced significantly volume of edema of the right paw by 3% formol in mice with a percentage inhibition 25%, 31% for doses 150, 300 mg / kg respectively, a reduction relative to that obtained with diclofenac, anti-inflammatory reference 70%. The results obtained by the SNSF show that the *S.O.* has a remarkable immunostimulatory effect on the main cells involved in the inflammatory reaction.

In conclusion, *S.o.* is an interesting plant whose aqueous extract could be used in a reasoned way in the treatment of inflammation.

Key words : *Salvia officinalis*, anti-inflammation activity, diclofenac, aqueous extract.

الملخص :

الاهتمام الكبير في البحوث الحالية مركز على دراسة الجزيئات المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة ذات المصادر الطبيعية.

عملنا يهدف إلى إجراء دراسة فيتو كيميائية وتقدير النشاط المضاد للالتهاب للمستخلص المائي من أوراق نبات المرمية.

وقد أبرزت الاختبارات الفيتو كيميائية عن وجود مركبات الفلافونويدات, العفص, الستيروول, التربينات, الكومارين و القلويدات في غياب كلي للحليكو سيدات.

المحتوى الإجمالي للفلافونويدات أكبر من المحتوى الإجمالي للفينولات.

لقد تم تقييم النشاط المضاد الالتهاب مخبريا بطريقتين: تخريب البنية الفراغية البروتين ألبومين المصل البقري (BSA) والاستقرار في أغشية خلايا الدم الحمراء البشرية. وقد أظهر المستخلص الخام المستخرج من نبات المرمية قدرة معتبرة في خفض مستوى تخريب البنية الفراغية للبروتين حيث تم تسجيل أقصى حد للتثبيت التخريب عند قيمة 53.99% وذلك بجرعة 1500 ميكروغرام / مل. كما أن لديها القدرة على حماية تحلل الغشاء وقد تم تسجيل أعلى معدل لتثبيت وحماية الغشاء بنسبة 44.99% جرعة 1500 ميكروغرام / مل.

أجريت الدراسة في الجسم الحي على فئران ألبينو سويسرية (Swiss albinos) وزن 26-40 جرام. تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب عن طريق قياس الوذمة التي يسببها الفورمالين 3% وفقا لطريقة رحمان والمتعاونين معه. الحقن داخل البريتوني للمستخلص المائي من المرمية قلل من حجم وذمة الساق اليمنى للفئران بنسبة 25%، 31% للجرعات 150، 300 ملغ / كغ على التوالي، وهو انخفاض نسبي مقارنة مع تلك التي تم الحصول عليها مع ديكلوفيناك، مرجع المضادة للالتهاب 70%. النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق صيغة عدالدم تظهر أن المرمية له تأثير مناعي ملحوظ على الخلايا الرئيسية المشاركة في التفاعل الالتهابي.

في الختام، المرمية هو نبات مثير للاهتمام في المستخلص المائي منه واستعماله بطريقة معقولة يمكن أن يكون علاج في الالتهاب.

الكلمات الرئيسية: المرمية، نشاط مضاد للالتهاب، ديكلوفيناك، مستخلص مائي.