



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



**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département**

**des Sciences Biologiques**

**Mémoire**

**MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biologie**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

Présenté par :

**Miles KHENFER Hanaa Nesrine et KHINECH Chaiaa**

**Caractérisation structurale et potentiel biologique  
des polysaccharides issus de *Salvia officinalis*.**

Soutenu publiquement

**Le : 20/09/2020**

Devant le jury :

Président	OULD ELHADJ KHELIL Aminata	Pr. Univ. Ouargla
Encadreur	BOUAL Zakaria	Pr. Univ. Ouargla
Co-encadreure	RIGHI Nouhad Amina	Doctorante Univ. Ouargla
Examineur	MOSBAH Said	MCB Univ. Ouargla

**Année Universitaire : 2019/2020**

## *Remerciements*

*Nous remercions avant tout "ALLAH " tout puissant qui nous a accordé la volonté et la force d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous voudrions remercier Monsieur BOUAL Zakaria, professeure au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Unité Kasdi Merbah-Ouargla, au qui a encadré cette étude, pour sa présence et sa disponibilité permanente, pour ces conseils et pour l'orientation de ce travail.*

*Nous voudrions remercier aussi Melle RIGHI Nouhad Amina Doctorante à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Unité Kasdi Merbah-Ouargla, pour s'aide et ces conseils incessants, ces suggestions et ces orientations.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury :*

*Au président du jury madame, OUELD LHADJ KHLIL Aminata, professeure au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Unité Kasdi Merbah- Ouargla, Qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*A monsieur MOSBAH Said Maître de conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla de nous avoir honoré en acceptant de faire partie de ce jury. Veuillez trouver ici notre remerciement les plus sincères.*

*Nous remercions les membres du Laboratoire d'analyse médicale «IBN ROCHD» Ghardaïa, de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire.*

*Je voudrais remercier l'ensemble des personnes, qui nous ont aidés, de près ou de loin, à réaliser ce travail.*

*Toute ma gratitude à mes collègues de promotion ainsi qu'à d'autres étudiants.*

# Dédicace



À mes parents qui m'ont donné la naissance  
À l'âme pure de mon père, À mon père qui m'a élevé, éduqué et m'a  
donné les actes les plus nobles de la vie pour grandir dans un  
environnement sain.

À ma chère maman Samia, un grand merci, même si ce mot ne suffit pas  
à rendre tout bien qu'elle m'a fait et qu'elle continue à m'apporter ; qui  
ne cesse de m'orienter.

À mes très chers frères Malek et ma chère sœur Soukina qui ont  
toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de  
labeur et de persévérance.

À mes sœurs : ma jumelle Oumaima, et mes chères sœurs Israa, Imen,  
Khadija, Sanaa, ilaf

À mes chères frères: Bader, Youcef, Fateh, Raied  
À tous les membres de ma famille

À mes oncles, mes tantes et Ma grand-mère est mon merveilleux amour  
lala.

À mon fiancé HICHAM

À Mon binôme et meilleur amie KHINECH Chaiaa.

À mes chères amies Sabrinel, Fatima, Hayet, Hiba ,Chahinez, Douaa.

À vous tous, je dédie ce travail J'espère qu'ils trouveront dans ce travail  
toute ma reconnaissance et tout mon amour

À tous mes professeurs du primaire jusqu'au universitaire À tous les  
collègues de près et de loin.

À tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de  
l'humanité.

Je dédie cet humble travail.

HANAA

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à : Mes très chers parents que dieu les protège pour leurs soutien depuis toujours Au défunt, mon grand-père, ma grand-mère, les parents de mon père Mes frères : Lazhar, omar, walid et sofien Mes sœurs : Salma et son fils Siraj ,BiBo, Saida , Hayat, et Masouda et ma cousine. Soumaia , Saida et toute ma famille.*

*Mon binôme et meilleur amie khenferhanaa.*

*Toutes mes copines de chambre Nedjma, Afaf ,Ouarda, yamina, moufida et wafa. Tous mes amies: zrougha ,safa ,intisar ,sara ,karima et fatiha*

*Mes collègues du promo pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*CHAJAA*

## Liste des abréviations

**Ara** arabinose

**BSA** sérumalbumine bovine

**CCM** chromatographie sur couche mince

**CMI** concentration minimale inhibitrice

**CPK** Créatine PhosphoKinase

**Fru** Fructose

**Gal** galactose

**Gal. A** acide galacturonique

**Glc** glucose

**Glc. A** acide glucuronique

**GSH** glutathion

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Le peroxyde d'hydrogène

**Man** mannose

**m-HDP** méta-hydroxydiphenyl

**NaHCO<sub>3</sub>** : *bicarbonate de sodium*

**NaOH** hydroxide de sodium

**PBS** phosphate buffer saline (tampon phosphate saline)

**PBS** tampon phosphate salin

**PFS** *polysaccharide feuille Salvia*

**pH** potentiel d'hydrogène

**pH** potentiel hydrogène

**PS** polysaccharides

**R** rendement massique

**Rf** rapport frontal

**Rham** rhamnose

**RMN** La résonance magnétique nucléaire

**TFA** acide trifluoacétique

**Xyl** xylose

## Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde.....	6
Figure 2 : Plante (A), Fleurs (B) , feuilles (C) et Graines (D) de <i>Salvia officinalis</i> .....	9
Figure 3 : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L.....	11
Figure 4 : Différente étapes d'expérimentales .....	22
Figure 5: Un pot de <i>Salvia officinalis</i> et ses fleurs.....	25
Figure 6 : chromatogramme de <i>Salvia officinalis</i> du système I.....	46
Figure 7 : chromatogramme de <i>Salvia officinalis</i> du système II.....	46
Figure 8 : Capacité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique de <i>S.officinalis</i> .....	48
Figure 9: Activité phagocytaire d'extrait de polysaccharides hydrosoluble de <i>S.officinalis</i> . ..	48

## Liste des photos

Photo 1 : Les feuilles broyées de <i>Salvia officinalis</i> (source personnelle) .....	25
Photo 1 : Les graines fraîches de <i>Salvia officinalis</i> (source personnelle) .....	25
Photo 1 : - Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de <i>Salvia officinalis</i> .....	42

## Liste des tableaux

Tableau 1: Quelques métabolites secondaires isolés des espèces du genre <i>Salvia</i> .....	8
Tableau 2 : Les polysaccharides dérivés des plantes dans la nature .....	16
Tableau 3 : Polysaccharides de genre <i>Salvia</i> .....	19
Tableau 4: Origine et type des appareils utilisées au cours de l'expérimentation .....	23
Tableau 5 : Origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours de l'expérimentation. ....	24
Tableau 6: Gamme étalon du glucose .....	28
Tableau 7: Gamme étalon du glucose .....	29
Tableau 8 : Composition de PBS .....	35
Tableau 9: Composition de solution Hanks .....	36
Tableau 10: Test de phagocytose .....	38
Tableau 11:Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de <i>Salvia officinalis</i> ....	43
Tableau 12 :Rapports frontaux (Rf) des oses étalons et de PFS pour deux systèmes de chromatographie sur couche mince (CCM) .....	44



# Table des matières

Liste des abréviations .....	
Liste des figures .....	
Liste des photos .....	
Liste des tableaux .....	
Table des matières .....	
Introduction .....	1

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1.- Genre de <i>Salvia</i> .....	4
I.2.- Description botanique du genre <i>Salvia</i> .....	5
I.3.- Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> .....	5
I.4.- Utilisations traditionnelles du genre <i>Salvia</i> .....	6
I.5.- Composés chimiques identifiés .....	7
I.6.- Présentation d'espèce <i>Salvia officinalis</i> .....	8
I.6.1- Description morphologique .....	8
I.6.2.- Répartition géographique .....	9
I.6.3.- Classification taxonomique .....	10
I.6.4.- Ecophysiologie .....	10
I.6.6.- Toxicité.....	11
I.6.7.- Usages traditionnelles de la sauge .....	12
I.6.8.- Activité biologique de la plante <i>Salvia officinalis</i> .....	12
II.1- Aperçus général sur les polysaccharides et leurs potentiels biologiques .....	14
II.2.- Les polysaccharides des végétaux .....	15
II.3.- Polysaccharides de genre <i>Salvia</i> et leurs activités biologiques.....	16
II.4.- Polysaccharides de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> et leur activité biologique.....	20

## Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1.- Matériel et méthodes .....	22
II.1.1.- Principe d'étude.....	22
II.2.- Matériel d'étude .....	23
II.2.1.- Matériel non biologique .....	23
II.2.1.1.- Appareils et instruments.....	23
II.2.1.2.- Solvants et réactifs .....	24
II.2.2.-Matériel biologique .....	25
II.2.2.1.- Récolte du matériel végétal .....	25
II.2.2.2.-Technique de séchage.....	26
II.2.2.3.-Conservation.....	26
II.2.2.4.- Nomenclature .....	26
II.3.- Etude des polysaccharides.....	26
II.3.1.- Extraction des polysaccharides des feuilles .....	26
II.3.1.1.- Calcul du rendement des polysaccharides.....	27
II.3.2.- Composition biochimique des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles .....	27
II.3.2.1- Dosage des oses totaux.....	27
II.3.2.1.1.- Préparation des réactifs et des solutions.....	27
II.3.2.1.2.- Mode opératoire .....	28
II.3.2.2.- Dosages des oses neutres.....	29
II.3.2.2.1.- Préparation des réactifs et solutions .....	29
II.3.2.2.2 Mode d'opératoire .....	29
II.3.2.3- Dosage des oses acides.....	30
II.3.2.3.1.- Mode opératoire .....	30
II.3.2.4- Dosage des protéines .....	31
II.3.2.4.1.-Mode opératoire .....	31
II.3.3.- Caractérisation des résidus glycosidiques .....	31

II.3.3.1.- Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques .....	31
II.3.3.1.1.- Mode opératoire (Boual et <i>al.</i> , 2012; Kharbade et Joshi, 1995) .....	31
II.3.3.2.- Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	32
II.3.3.2.1.- Mode opératoire .....	32
II.3.4.- Activité phagocytaire .....	34
II.3.4.1.- Principe de test .....	34
II.3.4.2.- Prélèvement de sang.....	34
II.3.4.3.- Préparation de <i>Candida albicans</i> .....	34
II.3.4.4.- Préparation des solutions tampons-tampon Phosphate Saline (PBS).....	35
II.3.4.5.- Préparation de polysaccharides .....	37
II.3.4.6. - Préparation de zymosan .....	37
II.3.4.7. - Exploration de la phagocytose et récupération des cellules phagocytaires (protocole modifié) .....	37
II.3.4.9.- Préparation de frottis sur lame .....	38
II.3.4.10.- Fixation par le méthanol.....	38
II.3.4.11.- Coloration de MGG.....	38
II.3.4.11. .- Principe de coloration.....	38
II.3.4.11.2. - Préparation de la coloration MGG (Merck, 2008) .....	39
II.3.4.11.3.- Procédure de la coloration May-Grünwald .....	39
II. 3.4.12.- Lecture du frottis sous microscope.....	39
II.3.4.11.4.- Calcul de la capacité phagocytaire .....	40
II.3.4.11.5.- Calcul de l'activité phagocytaire.....	40

### **Chapitre III: Résultats et discussion**

III.1.- Rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles .....	42
III.3.- Caractérisation par chromatographie sur couche mince des polysaccharides .....	44
III.4.- Activités biologiques des polysaccharides.....	47
Conclusion.....	51

Références bibliographiques .....	53
Annexes .....	66

# *Introduction*

### Introduction

Le monde végétal offre à la thérapeutique des matières premières abondantes et variées (**Chabrier, 2010**). La phytothérapie peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Lehmann, 2013**).

À ce jour, il existe plus de cent mille plantes dans le monde entier soit non découverts, soit leurs activités médicales ne font pas encore l'objet d'une enquête et d'une analyse. Il est prévu que les plantes et les herbes vont jouer un rôle essentiel dans le domaine médical, en particulier dans le traitement des maladies graves comme le cancer, de sorte que leur efficacité médicale devrait être testé dans les études actuelles et futures (**Mohammed, 2019**).

La famille des Lamiaceae, l'une des plus importantes familles de plantes, comprend une grande variété de plantes ayant des applications biologiques et médicales (**Uritu et al., 2018**), les espèces de la famille des Lamiaceae ont bénéficié d'une riche tradition d'utilisation pour l'aromatisation, la conservation des aliments et des fins médicales, en raison de leurs propriétés curatives et préventives. Il est bien connu que chaque espèce a un mélange spécial et complexe de composés bioactifs dans lequel chaque composant contribue à sa bioactivité (**Carović-Stanko et al., 2016**).

De nombreuses espèces du genre *Salvia* ont été largement utilisé dans la médecine populaire et de nombreux recherches pharmacognostiques visant à identifier les composés biologiquement actifs responsables de leurs effets thérapeutiques (**Radulescu et al., 2004**).

*Salvia officinalis*, est l'une des herbes les plus populaires remède au Moyen-Orient pour traiter les complications sanitaires courantes telles que le froid et les douleurs abdominales (**Osman et al., 2013**). La sauge est riche en composés biologiquement actifs (**Hamidpour et al., 2014**). Depuis l'antiquité, *S. officinalis* a été utilisé dans la guérison des gencives, de la cavité buccale et du mal de gorge, contre les infections bactériennes et fongiques, pour le traitement des blessures, l'amélioration de la mémoire, le traitement du rhume, la gastrite, ulcères, etc (**Grdiša et al., 2015**).

Les polysaccharides sont des polymères naturels que l'on trouve en abondance dans les plantes, les animaux et les micro-organismes (**Li et al., 2018**), sont bien connus pour leur grande valeur nutritive et leurs effets positifs sur nos fonctions immunitaires et digestives et sur notre système de détoxification, la reconnaissance du rôle important qu'ils jouent dans la promotion et le maintien de la santé et du bien-être des êtres humains ne cesse de croître (**Van dam et al., 2017**).

Les polysaccharides et la santé humaine sont inextricablement liés et entremêlés. Pour assurer notre subsistance, apaiser et soigner nos blessures, les polysaccharides sont extrêmement importants. Les polysaccharides ou glycanes forment la classe des glucides les plus répandus dans la nature, à la fois chez les plantes et les animaux, les bactéries et les champignons, avec propriétés et rôles essentiels pour le maintien des organismes vivants (**Van dam et al., 2017**). En fonction de la source de chaque polysaccharide, ses propriétés telles que la charge, le poids moléculaire, la solubilité, la résistance mécanique, etc. varient (**Rajalekshmy et al., 2019**).

Ils sont largement utilisés dans un grand nombre d'applications biomédicales, comme des agents immunorégulateurs. Au cours des dernières années, des études de plus en plus nombreuses ont commencé à développer des biomatériaux naturels à base de polysaccharides pour diverses applications en ingénierie tissulaire et en médecine régénérative (**Li et al., 2018**).

Le présent travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides issus des feuilles de *Salvia officinalis*. L'objectif recherché vise à caractériser les polysaccharides et de tester leur activité phagocytaire. Il est structuré en trois chapitres ; le premier est consacrée à une synthèse bibliographique, comporte la description du genre *Salvia* et l'espèce *Salvia officinalis* et décrit les polysaccharides comme principes actifs, le deuxième chapitre, aborde ensuite la partie expérimentale, en décrivant les principales techniques d'extraction de polysaccharides hydrosolubles à partir des feuilles de *Salvia officinalis*; en déterminant leur composition globale et en caractérisant les résidus glycosidiques par chromatographie sur couche mince. Une étude biologique de l'extrait polysaccharidique concernant l'activité phagocytaire et le troisième chapitre expose les principaux résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions achève ce travail.

*Chapitre I:*  
*Synthèse*  
*bibliographique*



## Chapitre I: Synthèse bibliographique

### I.1.- Genre de *Salvia*

*Salvia*, est un mot italien "salvare" de sens sauver, du fait de l'importance de la plante, qu'elle a été toujours considérée comme une plante magique en sauvant des vies humaines (Lopresti, 2017). Ce genre est appelé communément sauge (Lu et Foo, 2002) et comprend près de 900 espèces (Tohamy et al., 2012). Les espèces de sauge (*Salvia*) ont été utilisées en médecine traditionnelle pour le soulagement de la douleur, protégeant le corps contre les effets nocifs du stress oxydatif et les dommages des radicaux libres, l'angiogenèse, l'inflammation, les infections bactérienne et virale (Hamidpour et al., 2014).

La sauge s'utilise aussi traditionnellement comme agents toniques en améliorant l'activité de cerveau (Lopresti, 2017). ainsi que d'autres activités biologiques (Capek et al., 2003). Des études *in vitro* et *in vivo* ayant confirmé cette dernière activité par la présence d'un large éventail de composés actifs qui peuvent améliorer l'activité cognitive et protéger contre les maladies neurodégénératives (Lopresti, 2017).

Depuis très longtemps, les racines de l'espèce chinoise *Salvia miltiorriza* sont utilisées pour traiter des maladies cardio-vasculaires, hépatiques et rénales (Rechinger, 1982). Danshen, c'est le nom commun des deux espèces de *S. przewalski* et *S. miltiorrhiza*, qu'elles sont très utilisées en Chine, pays où la phytothérapie fait bon candidat avec la médecine, pour traiter certains types de cancers.

Les espèces, chinoise *S. prionitis* et turquise *S. multicaulis* sont connues pour leur activité antituberculeuse (Kabouche, 2005). D'autres propriétés biologiques de *Salvia* ont été ajoutées par des études expérimentales :

Une activité antimicrobienne a été corrélée avec des extraits issus de différentes espèces de *Salvia*, qui montrent des effets inhibiteurs sur des bactéries Gram (-) et/ou Gram (+) et des champignons (Baricevic et Tomaz, 2000).

L'espèce espagnole *Salvia canariensis* a une activité antibiotique (Vallejo et al., 2006) et des propriétés antibactériennes contre les souches bactériennes testées (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*) ces propriétés liés à des molécules bioactives ont été isolés des parties aériennes de *Salvia canariensis*. Cet arbuste a été utilisé dans la

médecine populaire comme antispasmodique, fébrifuge et hypoglycémiant (**Baricevic et Tomaz, 2000**).

Aussi, *Salvia albocaerulea* Lindl., une espèce originaire du Mexique a une activité antimicrobienne contre des bactéries à Gram (+) (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, CMI 50 µg/ml) et pour une activité modérée contre *Candida albicans* à 100 µg/ml (**Pereda-Miranda et al., 1992**).

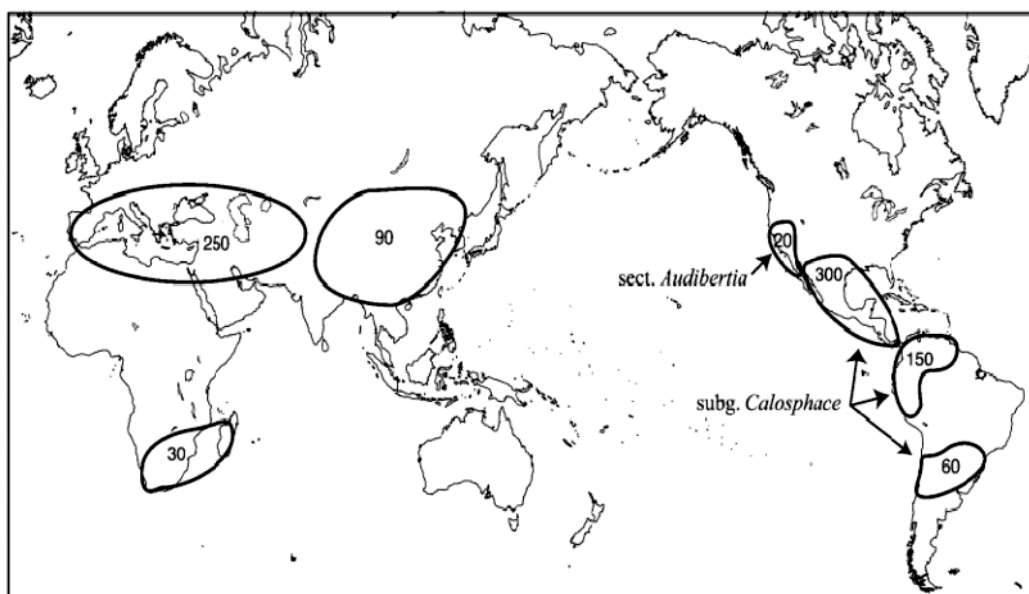
Les *Salvia* et leurs constituants individuels possèdent une forte activité antioxydante. Dans une analyse de dix espèces de *Salvia*, il a été confirmé que toutes les espèces présentaient une activité antioxydante significative mesurée par la capacité d'absorbance de radical oxygène, capacité de piégeage des radicaux et le contenu total phénolique. L'étendue de l'activité antioxydante variait à travers les espèces et les méthodes d'extraction utilisées, l'éthanol l'extrait de *S. officinalis* a présenté la plus forte activité (**Lopresti , 2017**).

### **I.2.- Description botanique du genre *Salvia***

Le genre *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges des *Salvia* sont généralement quadrangulaires inclinées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (**Scully, 2008**).

### **I.3.- Répartition géographique du genre *Salvia***

*Salvia*, le plus grand genre de Lamiaceae e (**Bektas et al., 2005**) qui est plus fréquente dans les régions tempérées et subtropicales du monde (**Sharifi-Rad et al., 2018**). Il est distribué dans trois régions principales dans le monde; 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (**Walker et al., 2004**).



**Figure 1:** Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde selon **Walker et al. (2004)**.

L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (**Quezel et Santa, 1963**).

#### **I.4.- Utilisations traditionnelles du genre *Salvia***

Les sauges ont été employées comme des plantes à des propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums (**Radulescu et al., 2004**). Franz et Novak ont noté que près de 400 espèces de *Salvia* sont utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne, comme herbes aromatiques ou plantes ornementales dans le monde entier (**Sharifi-Rad et al., 2018**).

L'appellation latine montre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle. Selon **Hamidpour et al. (2014)**, le thé à la Sauge a été traditionnellement utilisé pour le traitement des troubles digestifs et de la circulation, de la bronchite, de la toux, de l'asthme, de l'angine de poitrine, de l'inflammation de la bouche et de la gorge, de la dépression, de la transpiration excessive, des maladies de la peau et de nombreuses autres maladies. la sauge utilisée comme un agent cicatrisant, dans les soins de la peau et des cheveux, et contre les rhumatismes et la débilité sexuelle dans le traitement des troubles mentaux et nerveux. (**Sharifi-Rad et al., 2018**).

Les études *in vivo*, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et anti-déprimant sur le système nerveux central (**Newall et al., 1996**). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles

digestifs et les problèmes du système nerveux (**Radulescu et al., 2004**). Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique et pour des raisons encore mystérieuse. Elle semblerait efficace contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, et contre l'hypersudation nocturne, notamment lorsqu'elle est liée à la ménopause (**jean, 2009**).

### **I.5.- Composés chimiques identifiés**

Les études phytochimiques du genre *Salvia* ont permis d'établir un profil chimique pour ce genre (**Kabouche, 2005**). La sauge est également une source naturelle de composés phénoliques tel que l'acide carnosique, rosmarinique et l'acide caféique, possédant de fortes activités antioxydantes, anti-radicalaires et antibactériennes (**Baranauskiene et al., 2011**). Les plantes du genre *Salvia* sont également riches en huiles essentielles, avec une large gamme de terpénoïdes, y compris l' $\alpha$  et  $\beta$ -thuyone, le camphre, le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -humulène, le  $\beta$ -caryophyllène et le fridiflorol. C'est également une source de diterpènes et de triterpènes tels que l'acide carnosique, l'acide ursolique, le carnosol et la tanshénone (**Lopresti, 2017**). Ce genre est bien connu pour la production de mucilage, quand les graines sont mouillées. Les résultats des études sur *Salvia* ont montré que le mucilage est excrété par les cellules polygonales de la couche épidermique, étant composé principalement de fibres de glucides (**Ma et al., 2013**). La couche mucilagineuse autour des graines contient le complexe polysaccharides, qui forme une couche douce autour des graines. Cette couche peut bien avoir un effet nettoyant et a connait que polysaccharides est utile dans le traitement de conditions inflammatoires et des infections bactériennes ou virales (**Heinrich et al., 2004**).

**Tableau 1:** Quelques métabolites secondaires isolés des espèces du genre *Salvia*.

Espèce	Composé(s) isolé(s)	Classe phytochimique	Références
<i>Salvia splendens</i>	Anthocyane (salvianin).	Flavonoïdes	(Suzuki et al., 2004).
<i>Salvia jaminiana</i>	6,7-déhydroroyléanone; cryptanol; microstégiol; ferruginol; 6-hydroxysalvinolone	Huilles essentielles	(Kabouche, 2005).
<i>Salvia patens</i>	Apigénine- 7,4'-di-O- $\beta$ -glucopyranoside	Flavonoïdes	(Kin-ichi et Tadao, 2004).
<i>Salvia divinorum</i>	Salvinorine	Huilles essentielles	(Hamoudi, 2015).
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	mannose, rhamnose, arabinose, glucose et galactose.	Polysaccharide	(Sheng-lan et al., 2019).

### I.6.- Présentation d'espèce *Salvia officinalis*

La sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae largement cultivée pour son importance économique et sa grande teneur en composés bioactifs (Jedidi et al., 2018). En latin « *salvare* », signifie sauver et « *officinalis* » signifie médicinale (Djelili, 2007) ,ce nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de cette plante en phytothérapie.

La sauge officinale est connue sous d'autres noms : Grande Saugue, herbe sacrée, thé de Provence, d'Europe, de France ou de Grèce, salbia, ou essalmia. En Algérie, on l'appelle « souek ennebi » (Gauthier, 2009 ; Madi, 2010).

#### I.6.1- Description morphologique

*Salvia officinalis* est une plante vivace avec une tige ligneuse à sa base, elle forme un arbuste, dépassant parfois 80 cm de longueur, les branches sont vert-blanc. Elle est caractérisée par des feuilles de 3-8 cm de haut, pétiolées, grandes et lancéolées de couleur gris-vert, épaisses et finement crénelées, couverts de poils blancs (Kheyar, 2009). Les bordures des feuilles sont dentelées et portent parfois à leur base des lobes ou des oreillettes (Belkamel et al., 2019) . fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à

6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et 9 corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée (Hans, 2007) Les fruits sont des tétrakènes sphériques, de couleur brun foncé à noir (Taleb, 2015)



**Figure 2** : Plante (A), Fleurs (B) , feuilles (C) et Graines (D) de *Salvia officinalis* (El-Feky et Aboulthana, 2016).

### I.6.2.- Répartition géographique

La sauge est une espèce généralement cultivée. Elle est rencontrée dans les clairières, les forêts, les broussailles, les pâturages, les steppes, les plaines, les hauts plateaux et les montagnes jusqu'à 2500 m d'altitude (Jedidi et al., 2018). Elle se pousse dans les terrains chauds et calcaires, et se produit de manière spontanée dans différentes aires géographiques et est cultivé de long de tout le bassin méditerranéen, de l'Espagne jusque' à la Turquie, et dans le nord de Afrique, espace Euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) (Khirddine, 2013).

### I.6.3.- Classification taxonomique

Selon (**Quezel et santa, 1963**), La sauge suit la classification botanique suivante:

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Spermaphyte
- **Sous – Embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédone
- **Sous-classe** : Asteridae
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacée
- **Genre** : *Salvia*
- **Espèce** : *Salvia officinalis L*

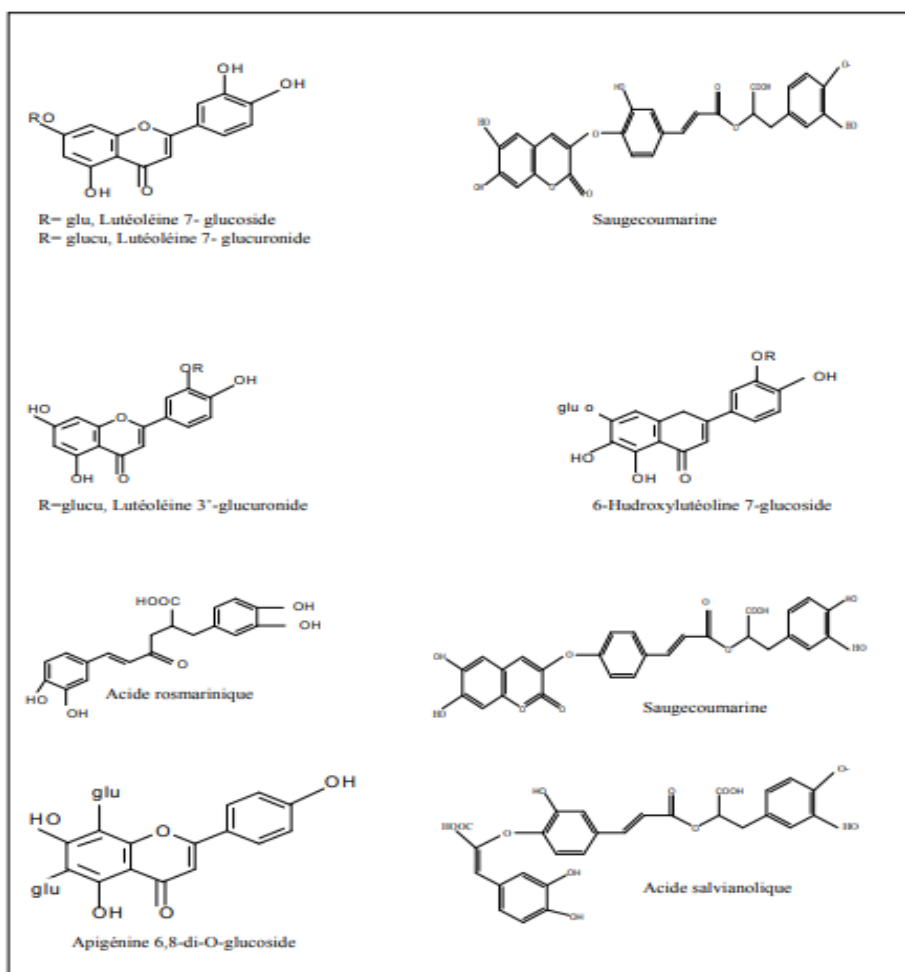
### I.6.4.- Ecophysiologie

La sauge est cultivable jusqu'à 1800m d'altitude; elle supporte des climats et des sols très variés, au pH allant de 5 à 9. La plante adulte résiste à la température de -10°C, mais il est préférable de pailler le jeune plant (**Jedidi et al., 2018**)

### I.6.5.- Phytochimie et métabolites secondaires isolés

Des études phytochimiques sur la sauge ont montré la présence d'un grand nombre de composés bioactifs (**Sura et al., 2016**). La plante contient de l'huile essentielle composée principalement de cétones monoterpéniques, des tanins catéchiques, des acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-comarique, férulique), des principes amers diterpénique, des triterpènespenta cycliques (acides ursolique, cratégolique, oléanolique etc.) et des phytostérols, des flavones (**Said et al., 2002**).

Les glucides les plus abondants décrits dans cette plante sont l'arabinose, le galactose, le glucose, le mannose, le xylose, les acides uroniques et le rhamnose (**Capek et Hríbalová, 2004**).



**Figure 3** : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Salvia officinalis* L. (Kheyar, 2009).

### I.6.6.- Toxicité

Comme toutes les plantes aromatiques, la sauge officinale n'est pas sans dangers. Son essence est toxique et peut provoquer des crises d'épilepsie et des crises cardiaques. Elle est déconseillée aux femmes enceintes ou allaitantes (Hans et al., 2007).

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles présentes dans la plante pourraient avoir un seuil de toxicité. Cependant, celui-ci pourrait se varier selon la voie d'exposition et de la dose prise 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).



### I.6.7.- Usages traditionnelles de la sauge

La sauge est une plante considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées, et conseillée pour les étudiants en période d'examen. Dans la médecine traditionnelle Européenne, *S. officinalis* a été utilisé pour traiter la dyspepsie légère (comme les brûlures de l'estomac et les ballonnements), la transpiration excessive et les troubles cognitifs liés à l'âge et inflammations de la gorge et de la peau (Ghorbani, 2017). Cet herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et comphré (Duling, 2007). Des études montrent que *Salvia officinalis* pourrait être bénéfique chez les patients diabétiques pour réduire le glucose et le cholestérol 2 heures après le repas. Toutefois, des doses plus élevées pourraient être nécessaires pour réduire la glycémie à jeun et l'hémoglobine glycosylée (Saeed et al., 2013).

*Salvia officinalis* a des propriétés digestives, astringentes, antiseptiques, cholérétiques, balsamique, aromatique, antioxydants, anti-inflammatoires, carminatives, expectorantes, anti sudorifiques et toniques. On lui prête aussi une action œstrogénique (Komet, 2011).

### I.6.8.- Activité biologique de la plante *Salvia officinalis*

Les plantes médicinales et aromatiques ont attiré une nouvelle attention ces dernières années en raison de leur contenu en bioactifs composés et effets bénéfiques pour la santé reconnus. L'une des herbes les plus importantes connues est la *Salvia officinalis* L. En outre, il a plusieurs utilisations et les effets médicaux (par exemple antibactérien, antiviral, anti-oxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique et activités antitumorales) (Skoufogianni et al., 2017).

#### - Activité antidiabétique

*S. officinalis* a été utilisé comme remède traditionnel contre le diabète dans de nombreux pays et ses effets hypoglycémians ont été démontrés dans des études sur les animaux (Christensen et al., 2010). Une étude a montré que les extraits méthanoliques de *S.officinalis* diminuaient significativement le glucose sérique chez les rats diabétiques de type I sans affecter la production d'insuline pancréatique et aussi montre que un extrait aqueux de *S.officinalis* présente une activité analogue à celle de l'insuline (Christensen et al., 2010).

**- Activité anti-inflammatoire**

Le test de péritonite aiguë induite a été utilisé comme modèle d'inflammation, où les extraits fractionnés de *S. officinalis* ont été administrés par voie sous-cutanée. Après 4 heures d'induction de l'inflammation, le nombre total de leucocytes en circulation n'était pas augmenté chez les animaux qui ont reçu l'extrait de méthanol. Après l'induction de l'inflammation, tous les animaux, à l'exception de ceux traités avec la fraction d'acétate d'éthyle et de méthanol, ont montré une augmentation du nombre de neutrophiles en circulation. Les résultats obtenus suggérant l'apparition d'une inhibition de recrutement total de leucocytes dans le sang circulant après le processus inflammatoire induit par acétate d'éthyle et par l'extrait méthanolique de *S. officinalis* en une seule dose de 25 µg.kg<sup>-1</sup>. Donc, les extraits de *S. officinalis* pouvaient être utilisés comme agent anti-inflammatoire (**Dal pra et al., 2011**).

**- Activité antioxydante**

Les propriétés antioxydantes de la sauge ont été étudiées de manière intensive et sont liées à la présence d'acide rosmarinique et d'acide carnosique (**Lu et Foo, 2000; L et Foo, 2001**). Il est montré que l'extrait aqueux de *S. officinalis* a des effets antioxydants et antiviraux. Dans une étude, il a été observé qu'après avoir bu du thé à la sauge (sauge commune) pendant 2 semaines, le statut antioxydant du foie s'est amélioré (**Stanojević et al., 2010**).

**- Activité anti-tumorale**

Une étude a montré que l'extrait de *S. officinalis* à des concentrations pharmacologiques inhibe l'angiogenèse *in vivo*, ce qui pourrait constituer un nouveau point de départ pour le développement d'un nouveau médicament anti-angiogénique (**Keshavarz et al., 2011**). L'acide uronique présent dans la sauge inhibe efficacement l'angiogenèse, l'invasion des cellules tumorales et les métastases, et supprime la colonisation pulmonaire des cellules de mélanome B16 *in vivo* (**Jedinák et al., 2006**).

**II.1- Aperçus général sur les polysaccharides et leurs potentiels biologiques**

Les Polysaccharides sont des polymères biologiques des oses composés d'unités monomères répétitives de monosaccharides qui sont liées de manière covalente les unes aux autres par une liaison glucosidique (**Liu Y et al., 2018**). Ils sont issus de différentes sources et ont été largement étudiés et utilisés pour leurs propriétés technofonctionnelles dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaire (**Liu et al., 2015**).

Les polysaccharides naturels sont principalement obtenus par extraction et purification, qui peuvent servir de procédures fiables pour améliorer la qualité et le rendement des produits polysaccharidiques (**ren-Yan, 2019**). Ils peuvent être extraits de nombreux organismes, tels que les champignons, les algues, les animaux, et les végétaux supérieurs (**Yang et al., 2009**).

Les polysaccharides sont des polymères glucidiques très diversifié et peuvent être classés selon : leur origine c'est-à-dire animale ou végétale, leur nature soit de réserve ou de structure (**Patterson, 2008**) (les polysaccharides peuvent être des composés de réserve comme l'amidon, des macromolécules de structure telles que la cellulose ou les hémicelluloses) (**Benaoune, 2017**), leur composition en monomères : (Homopolysaccharides ; Ne comportent qu'un seul type de monosaccharides comme les glucanes sont des monomères de D-glucose et les galactanes sont des monomères de D-galactose) ou (Hétéropolysaccharides : Les hétéropolysaccharides d'après la nature des principales unités osidiques qui les composent. Les galactoarabanes sont des polymères mixtes de galactose et d'arabinose, L'hémicellulose sont des polymères mixtes de xylose et arabinose ; le même principe s'applique pour classer, les galactomannanes etc...) (**Moussard, 2006**).

Ce sont composés de longues molécules droites ou ramifiées à glucides simples. La longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles, (**Patterson, 2008**). Ils ne sont pas seulement utilisés comme réserves énergétiques par les êtres vivants, mais également pour assurer de nombreuses fonctions biologiques (**Yang et al., 2009**).

Les polysaccharides animaux ce sont classé dans la famille des glycosaminoglycanes et sont dérivés des protéoglycanes, Ces polymères sont soit impliqués dans la structure du

tissu conjonctif des tissus, soit dans les mécanismes de communication cellulaire via leurs propriétés, soit dans la fonction conjonctive (héparine et sulfate d'héparane) (**Delattre, 2005**).

Glycogène et acide hyaluronique : sont des polysaccharides d'origine animale, la chitine est présente dans les insectes et les crustacés ; Et dans les microorganismes (bactéries, champignons et algues) tels que le xanthane,  $\beta$ -glucanes (**Yves, 2008**).

Les polysaccharides dérivés du microorganisme sont également une classe des principaux polysaccharides existait dans la nature. Les polysaccharides microbiens peuvent être neutres (par exemple, le dextran, scléroglycane) ou acides (xanthane, gellane).

De plus, les polysaccharides microbiens présentent un grand potentiel pour les applications médicales, pharmaceutiques et les applications biomédicales, telles que les pansements, les biomatériaux et la régénération des tissus (**li et al., 2018**).

## **II.2.- Les polysaccharides des végétaux**

Les polysaccharides des végétaux ont très grande variabilité structurelle, cet dernier liée à leurs nombreuses fonctions biologiques (**Benaoun, 2017**). On distingue les polysaccharides de structure (cellulose, pectines), de réserve (amidon), les gommes et les exsudats comme (gomme arabique), et enfin les mucilages. Ces deux dernières classes sont des mélanges de polysaccharides hétérogènes qui forment en contact de l'eau des gels. Elles sont très proches et difficilement dissociables (**Warrand, 2004**).

Les polysaccharides fonctionnels peuvent être dérivés de plusieurs plantes .Ils ont été largement utilisés dans un grand nombre d'applications biomédicales, comme les agents immunorégulateurs ou l'administration de médicaments véhicules. Au cours des dernières années, des études de plus en plus nombreuses ont commencé à développer des biomatériaux naturels à base de polysaccharides pour diverses applications en ingénierie tissulaire et en médecine régénérative (**li et al., 2018**).

les polysaccharides présents dans diverses herbes sont actifs dans leur forme native pour stimuler le système immunitaire humain, inhiber la réplication virale, éliminer les radicaux libres et inhiber l'oxydation des lipides (**Liu et al., 2015**).

Un bref résumé des avancées récentes de l'étude et l'application de polysaccharides bioactifs issus de plantes médicinales pour le contrôle et le traitement des maladies est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau 2 : Les polysaccharides dérivés des plantes dans la nature (li et al.,2018)**

Polysaccharides	Composition	Source	Effets physiologiques
Cellulose.	$\beta$ -(1-4)-glucopyranose lié .	Céréales,fruits, légumes .	-Structure cellulaire, additifs alimentaires, réguler les selles .
Polysaccharide de <i>Juniperus scopolorum</i> .	$\beta$ -Galactopyranose, et $\alpha$ arabinofuranose.	<i>Juniperus scopolorum</i>	Un effet immunomodulateur sur les macrophages murins
Polysaccharide de glucomannane de <i>konjac</i> .	$\beta$ -(1-4)- Glucose lié, $\beta$ -(1-4)-lié –mannose	Plante <i>Amorphophallus konjac</i>	Réduction du cholestérol et immunorégulation
Polysaccharide de <i>Bletilla striata</i>	$\alpha$ -Mannose, $\beta$ -mannose et $\beta$ -glucose	<i>Bletilla striata</i>	Moduler la fonction des macrophages
polysaccharides des <i>Astragalus</i>	Rhamnose, arabinose et glucose	Les racines de <i>l'astragale</i>	L'effet de l'immunomodulation
Polysaccharide de <i>Chelidonium majus</i>	Galactose, mannose, glucose	<i>Chelidonium majus</i>	Un immunostimulateur antitumoral efficace

### II.3.- Polysaccharides de genre *Salvia* et leurs activités biologiques

Les polysaccharides extraits des espèces de *Salvia* ont montré diverses bioactivités importantes, tels qu'immunomodulateurs, hépatoprotecteurs, antitumoraux, antioxydants, hyperglycémiques, etc (Kong, 2013).

Récemment, un nouveau polysaccharide SMP-W1 purifié à partir d'un polysaccharide brut commercial de *S. miltiorrhiza* a eu un effet antiprolifératif sur les cellules H22 du carcinome hépatocellulaire *in vitro*, et simultanément, a inhibé de manière significative la croissance des tumeurs et a amélioré la réponse immunitaire chez les souris porteuses de tumeurs. *In vivo*, des polysaccharides extraits par la méthode de l'eau à 100°C de *S. chinensis*

ont pu stimuler une réponse immunitaire antitumorale chez des souris transplantées avec des cellules H22 en atténuant l'apoptose des cellules T CD4+ induite par la transplantation de tumeurs et la dysrégulation des profils de cytokines sériques. Plus important encore, les PSSC n'ont aucun effet toxique sur les animaux porteurs de tumeurs par rapport au groupe traité au cisplatine (**Jiang et al., 2016**).

Le SMPA, un autre polysaccharide neutre provenant des racines de *S. miltiorrhiza*, a considérablement renforcé la fonction immunitaire des rats atteints d'un cancer gastrique induit par la N-méthyl-N'-nitro-nitrosoguanidine (**Jiang et al., 2016**).

Une autre étude, un polysaccharide (SMP-W1) a été purifié et caractérisé de *S. miltiorrhiza*, et son potentiel anticancéreux a été étudié. Les résultats ont indiqué que le SMP-W1 possédait une forte activité anti-tumorale *in vivo* et *in vitro* et améliorait la réponse immunitaire chez les souris porteuses de tumeurs, ce qui suggère que le SMP-W1 pourrait être développé comme anticancéreux avec une activité immunomodulatrice (**Zheng et al., 2015**).

A partir des parties aériennes de la sauge *Salvia officinalis*, un arabino- (4-O-méthylglucurono) -xylane (AGX) a été isolé par extraction alcaline suivie d'une précipitation avec une solution d'hydroxyde de baryum. Le polymère a été isolé de la sauge sous la forme d'un polysaccharide brun clair de masse moléculaire (Mp) 84 000. Les analyses de composition de la sauge AGX ont révélé du xylose (81%), de l'arabinose (10%), de l'acide glucuronique (8%) et de petites quantités d'hexoses (1%). Les analyses des sucres de liaison ont montré le squelette xylopyranosyle lié (1 → 4) avec un faible degré de substitution (9–10%) en O-2 et O-3. Les résidus d'arabinofuranose se sont avérés être les résidus terminaux, liés en 1,3, 1,5 et 1,3,5. Les analyses structurales RMN d'oligomères acides, générés par hydrolyse acide partielle d'AGX, ont confirmé une substitution des résidus xylose par l'acide glucuronique et son dérivé 4-O-méthyle à O-2 en moyenne tous les quatorze résidus de xylose (**Capek et Matulová, 2013**).

*Salvia yunnannensis* est la drogue brute chinoise orthodoxe, qui occupe une place considérable dans la drogue traditionnelle chinoise. Il y a eu de nombreux rapports sur la *Salvia yunnannensis*, mais seuls quelques rapports sur ses polysaccharides SP1 ont été extraits de la *Salvia yunnannensis* à l'aide d'eau chaude et par déprotéinisation du gel-dégel, chromatographie sur gel. Le résultat de la SP1 était une combinaison de six monosaccharides où les acides rhamnose rhamglucuronique, xylose et galactose avec la proportion de trois

monosaccharides principaux, les activités anti-VIH des produits étaient liées à leur teneur en soufre, l'activité des SPS sulfatés par les polysaccharides étant plus importante que la SP1, et la teneur en glucose et la proportion de 1,4(2) étant réduites. Les activités anti-VIH des produits étaient liées à leur teneur en soufre, l'activité des polysaccharides - SPS sulfatés étant plus élevée que celle du polysaccharide SP1 et l'activité anti-VIH étant plus élevée que celle des polysaccharides - SPS sulfatés et l'activité anti-VIH étant plus élevée que celle des polysaccharides - SP1 et l'activité anti-VIH étant plus élevée dans le rapport modéré de 1,4(2)- : liaison glucosidique 1,3- :1,6 (**Sheng-lan et al.,2013**) .

la caractérisation chimique et certaines activités biologiques d'un polysaccharide acide, appelé SC4 de *Salvia chinensis*. L'effet du SC4 sur la prolifération des lymphocytes T et B in vivo et in vitro a été mesuré à différentes concentrations, et les effets protecteurs du SC4 sur les cellules PC12 contre les lésions induites par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été observés. SC4 était un polysaccharide très ramifié d'un poids moléculaire moyen de 4,5 10<sup>5</sup>, composé de Rha, Xyl, Ser, Gal et GalA dans le rapport molaire de 1,0 7,0 5,3 1,2 4,2. L'analyse de méthylation et la RMN ont permis d'identifier les liaisons des résidus de SC4. Le SC4 a augmenté de façon remarquable la prolifération des lymphocytes B et le poids de la rate, alors qu'aucun changement évident n'a été examiné dans la prolifération des lymphocytes T, le poids du thymus et le niveau d'IgG et de C3 dans le sang des souris. En outre, le SC4 a amélioré la viabilité des cellules PC12 après le traitement par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le SC4, polysaccharide acide à la structure compliquée, était un stimulateur des lymphocytes B et protégeait les cellules PC12 à la concentration de 20 mg/l contre les lésions induites par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Liu et al., 2002**).

**Tableau 3 :** Polysaccharides de genre *Salvia* (Kong, 2013), (Capek et Matulová, 2013), (Sheng-lan et al.,2013)

L'espèce	Nom de polysaccharide	Composition en monosaccharide	Poids moléculaire	Structure
<i>Salvia officinalis</i>	AGX	Rha, Xyl, Ara ,Glc.A, Gal, Glc .	84,000 DA	Xyl- <i>p</i> - 1,4 à <i>O</i> -2 et <i>O</i> -3 avec Ara- <i>f</i> -liés en 1,3, 1,5 et 1,3,5.
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	SMWP-U&E	Ara, Fru, Man, Glc, Gal	5,07 × 10 <sup>5</sup> Da	α- (1 → 6) D-Glucosan .  α- (1 → 6) D-Glc liée à quelques α-(1 → 2) D-Glc,
	SMP 0,5	Glc, Gal, Ara,Rha, Xyl, Man	4,03 × 10 <sup>5</sup> Da	
	SMP1	Glc, Gal ,Ara et Rha	1,39 × 10 <sup>6</sup> Da	
	SMP-W1	Man,Rha, Ara, Glc, Gal	6.9 × 10 <sup>5</sup> Da	
<i>Salvia chinesis</i>	SC3	Rha, Ara, Gal et GalA	7 x 10 (4)	/
	SC4	Rha, Xyl, Ser, Gal et GalA	4,5 10 (5)	/
	SC5	Rha, Ara, Gal, Gal A	4.8 × 10 <sup>4</sup> Da	/
	SC6*	Rha, Ara, Xyl, Gal, Glc, Gal A	>1.0 × 10 <sup>4</sup> Da	/
<i>Salvia macrosiphon</i>	SSG (galactomanna <u>n</u> )	Man ,Gal	4 × 10 <sup>5</sup> Da	/
<i>Salvia yunnanensis</i>	SP1	GalA,Rha ,Ara, Glc, Xyl	2.34× 10 <sup>5</sup> Da	/



**II.4.- Polysaccharides de l'espèce *Salvia officinalis* et leur activité biologique**

A partir des parties aériennes libres extraites de la sauge, un mélange brut de polysaccharides (A) a été obtenu par extraction d'eau, suivi par précipitation de l'éthanol, dialyse et lyophilisation d'eau. Le complexe de polysaccharides extractibles (A) présentait un large schéma de distribution de la masse moléculaire et indiquait son caractère hétérogène. Il a été obtenu avec un rendement de 3,8 % et contenait 9,4 % de protéines. L'analyse du sucre a révélé la dominance de l'arabinose, du galactose et de glucose, et de plus petites quantités de mannose, xylose, rhamnose, fucose et les acides uroniques (**Capek, 2009**).

Les fractions polysaccharidiques brutes, riches principalement en arabinogalactanes (A), en pectine (B) et en polymères apparentés au glucuronoxylane (D), ont été obtenus à partir de parties aériennes de sauge (*Salvia Officinalis L.*) par extraction séquentielle avec divers réactifs. Les fractions de polysaccharides ont été examinées pour leur activité immunomodulatrice dans le test des thymocytes comitogènes in vitro. Les fractions polysaccharidiques testées possédaient la capacité d'induire la prolifération des thymocytes de rat (**Capek et al., 2003**).

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## Chapitre II : Matériel et méthodes

Dans la présente partie, il est traité le principe adopté, matériel d'étude, extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Salvia officinalis* et leurs activités biologiques.

### II.1.- Matériel et méthodes

#### II.1.1.- Principe d'étude

L'étude porte sur l'extraction hydrosoluble des polysaccharides issus de feuilles de *Salvia officinalis*. Ainsi, les extraits de polysaccharides sont caractérisés partiellement par des méthodes colorimétriques, à savoir la détermination des teneurs en oses totaux, neutres, acides uroniques et en protéines. De même, une analyse qualitative des résidus glycosidiques constitutifs après hydrolyse par chromatographie sur couche mince est effectuée.

Cette étude vise aussi les propriétés biologiques dont l'activité phagocytaire. L'étude de l'activité phagocytaire en présence des polysaccharides *in vitro* a pour but de montrer leur pouvoir immuno-modulateur vis-à-vis le système phagocytaire.

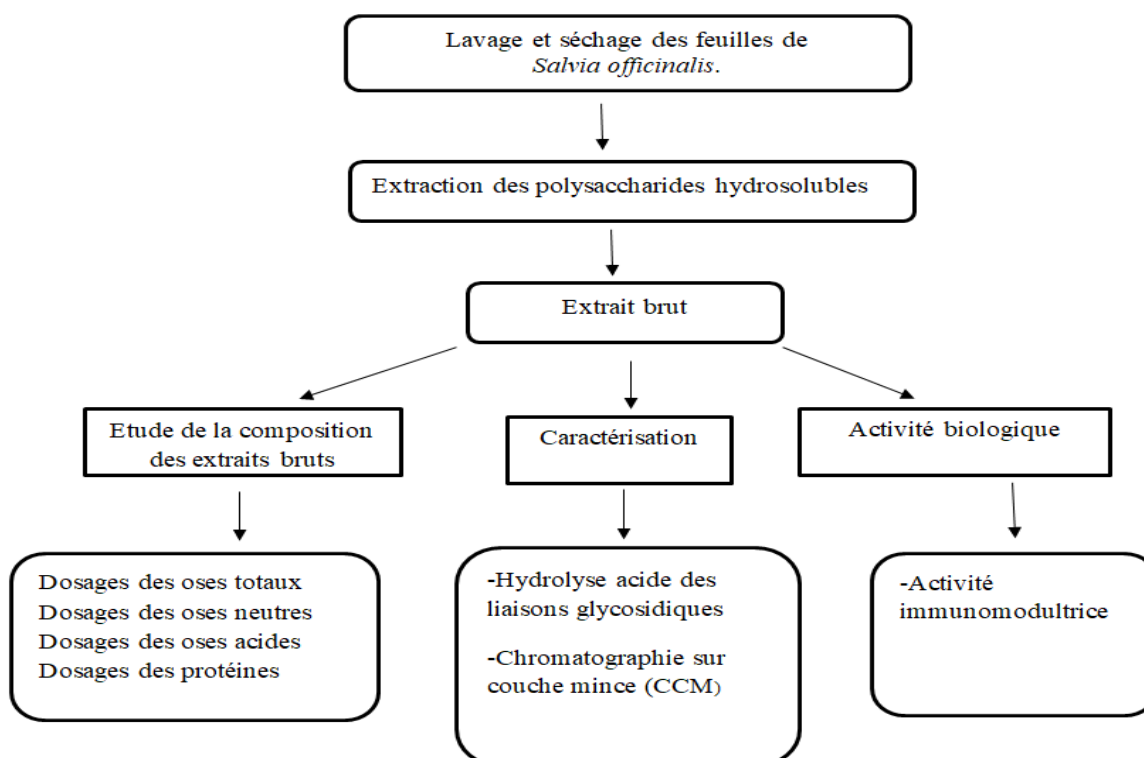


Figure 4 : Différente étapes d'expérimentales

## II.2.- Matériel d'étude

Le matériel d'étude regroupe l'appareillage, les produits chimiques, ainsi que le matériel biologique.

### II.2.1.- Matériel non biologique

#### II.2.1.1.- Appareils et instruments

L'origine et le type des appareils et des instruments utilisés au cours de l'expérimentation sont illustrés dans le **tableau 4**.

**Tableau 4:** Origine et type des appareils utilisées au cours de l'expérimentation

Appareil	Fournisseur	Type	Lieu de fabrication
Agitateur magnétique	Velp csientifica	F20520162	Europe
Autoclave	Webeco	Webecke. P : 2.5bar, t : 138oc	/
Bain marie	Memmert	Memmertgmbh. Wb 7. Nenntemp ; 100 Oc	Germany
Balance	Ohaus	Discovery dv 215cd ohaus.	Usa
Centrifugeuse	Sigma	Sigma. 15pk, 14000 rpm.	Germany
Distillateur	Labortechnic	D30-burgwedl, 2108	Germany
Etuve	Melag	Melag815.220v, 50hz, 12.3a, 2700w.	Germany
Hotte	Tel star	Telstar av-100. Modele50/60 Hz, 0.6kw	Spain
Lyophilisateur	Christ	Christ.alpha 1-2ld. 101021.230v, 50hz, 0.7. Kw	Germany
Micropipette	Socorex	Acura 821. 200-1000µl	Swis
pH mètre	Wtw	Wtw.d-82362. Ph 1970	Germany
Spectrophotomètre	Shimadzu	Uv-mini-1240.uv-vis spectrophotometre	China

## II.2.1.2.- Solvants et réactifs

**Tableau 5 :** Origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours de l'expérimentation.

Produit	Forme	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )	Pureté (%)
Acétone	Liquide	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.08	0.792	100
Acide acétique	Liquide	CH <sub>3</sub> COOH	60,05	1.048-1.051	99.5
Acide chlorhydrique	Liquide	HCl	36.46	1.19	37
Acide orthophosphorique	Liquide	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	98	1,69	85-88
Aniline	Liquide	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	93.13	1,02-1,03	98,5
Méthanol	Liquide	CH <sub>3</sub> OH	32.04	0.79	99.9
Ethanol	Liquide	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46.07		99.5
Ether de pétrole	Liquide	/	/	/	95
Sérum Albumine Bovine (BSA)	Solide	/			96
Pyridine Liquide	Liquide	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N	79.10	/	99.5
Acétate d'éthyle	Liquide	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88.11	/	
Butanol	Liquide	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH	74.12	0.81	99.9
Chloroforme	Liquide	CHCl <sub>3</sub>	119.38	1,47	99
DPPH (2,2Diphenylpicrylhydrazyl)	Poudre	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub>	06 394	/	/
Acide trifluoroacétique	Liquide	CF <sub>3</sub> COOH	114 ,02	1,49	99,8
Chlorure de calcium	Poudre	CaCl <sub>2</sub>	110.98	2.15	99.9
Chlorure de magnésium	Poudre	MgCl <sub>2</sub>	95.21	2.32	98
Chlorure de potassium	Poudre	KCl	74.55	1.98	99
Chlorure de sodium	Poudre	NaCl	58.44	2.16	99.5
Tétraborate de sodium.	Poudre	/	/	/	/
Hydroxyde de sodium	Poudre	NaOH	39.997	2.13	99
Diphénylamine	Liquide	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N	169.23	52.5-54.5	98
Phénol	Poudre	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	94,11	/	90,0

### I.2.2.-Matériel biologique

Il se compose de l'espèce végétale *Salvia officinalis*, appartient à la famille des *lamiaceae* qui comprend un grand nombre de plantes aromatiques riches en métabolites secondaires et connues pour leurs bienfaits économiques et leurs vertus médicinales (Khedher *et al.*, 2017).



**Figure 5:** Un pot de *Salvia officinalis* et ses fleurs (Narayana et Thangavelu, 2015)

#### II.2.2.1.- Récolte du matériel végétal

La récolte de la plante est réalisée en temps sec et au moment de leur pleine maturité, en respectant leur développement et en choisissant des lieux dont la plante recherchée se trouve en abondance (Fabre *et al.*, 1992). *S. officinalis* est récoltée de l'Oued N'tissa dans la région de Ghardaïa entre Décembre et Février. La plante après récolte est transportée au laboratoire pour l'analyse dans des sacs en papier kraft (Benhamza, 2008).



**Photo 1 :** Les feuilles broyées de *Salvia officinalis* (source personnelle)



**Photo 2 :** Les graines fraîches de *Salvia officinalis* (source personnelle)

**II.2.2.2.-Technique de séchage**

Les échantillons récoltés sont placés dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de la chaleur, puis étalés sur du papier kraft (**Velasco-lezama et al., 2006 ; Hedjal-chebheb, 2014**) pendant trois semaines jusqu'à l'obtention d'un poids sec (**Boual, 2009**).

**II.2.2.3.-Conservation**

La plante séchée est conservée dans des sachets en papier kraft dans un milieu sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse (**Boual et al., 2013a**).

**II.2.2.4.- Nomenclature**

Noms Communs : Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage (**Fulbert et al., 1992**).

Nom scientifique : *Salvia officinalis*

Nom vernaculaire : Sâlmia, Mrimia

Nom français : Saugue

Nom anglais : Garden sage (**Ghourri et al., 2013 ; Azzi, 2013**)

**II.3.- Etude des polysaccharides**

L'étude repose sur l'extraction des polysaccharides hydrosolubles de la plante, et d'étudier leur composition biochimique et osidique ainsi que de leurs activités biologiques.

**II.3.1.- Extraction des polysaccharides des feuilles**

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *Salvia officinalis* a été précédée d'une étape de prétraitement afin d'éliminer le chlorophile. Cela se fait par des extractions successives à l'aide de l'acétone à la température ambiante pendant 2 heures (**Yang et al., 2015**). En effet, cinq g de poudre séché et broyé de feuilles de *Salvia officinalis* ont été macérés dans 50 ml d'acétone à température ambiante pendant 2h (**Chouana, 2017**). Cette opération est répétée quatre fois. Après filtration sur papier Whatmann, et séchage à 45C° pendant une nuit. L'extraction des polysaccharides hydrosolubles des broyat feuilles de *Salvia* a été effectuée par macération dans l'eau distillée à 80°C pendant 2h (**Zhu et al., 2016**). Le mélange a été ensuite centrifugé (SIGMA. 15PK, 14000 RPM) à 2000g pendant 15 mn. Cette opération est répétée Cinq fois. Puis les

surnageants obtenus sont réunis. L'extrait de polysaccharides est concentré dans le rotor vapor type (IKA WERKE D-79219) à 60°C jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial (Ebringerova et al., 2003). Ensuite, les polysaccharides hydrosolubles de concentrât sont précipités par 3 volumes d'éthanol à 4°C pendant 24 h. Après centrifugation, le culot obtenu a été lavé 3 fois par l'acétone (Benaoun, 2017). L'extrait obtenu a été ensuite séché à l'étuve à 40 °C pendant 24h. La poudre séchée représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles.

### **II.3.1.1.- Calcul du rendement des polysaccharides**

Le rendement massique, est un rapport entre la masse de l'extrait brut obtenu et la masse de la matière de départ. Il se calcule comme suit (Diallo et al., 2004).

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids en gramme de l'extrait brut des polysaccharides}}{\text{Poids de la matière végétale sec}} \times 100$$

### **II.3.2.- Composition biochimique des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles**

La composition de l'extrait brut de polysaccharides porte le dosage des oses totaux, le dosage des oses neutres, le dosage des oses acides et le dosage des protéines.

#### **II.3.2.1- Dosage des oses totaux**

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de Dubois et al., (1956). Sous l'action d'acides minéraux concentrés et chauds, les hexoses et pentoses du milieu subit une déshydratation interne complète, suivie d'une cyclisation conduisant à la formation de dérivés furfural et 5-hydroxyméthylfurfural, réagissant avec le phénol. La formation d'un complexe jaune-rouge permet de suivre la concentration en sucres totaux de l'échantillon en lisant l'absorbance à 485 nm (Benaoun, 2017).

##### **II.3.2.1.1.- Préparation des réactifs et des solutions**

###### **➤ Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique 0,01%**

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 100ml d'eau distillée.

###### **➤ Préparation de la solution mère de glucose 0,02%**

La préparation est effectuée par 10mg du glucose dans 100ml d'eau distillée.



- Préparation de la gamme étalon de glucose 0,0005% à 0,02% (Dubois *et al.*, 1956)

Tableau 6: Gamme étalon du glucose

	Blanc	0,0005%	0,001 %	0,002 %	0,005 %	0,01 %	0,02 %
Eau distillée (µl)	200	195	190	180	150	100	0
Glucose (µl)	0	5	10	20	50	100	200

- Préparation de la solution du phénol 5%

La solution est préparée avec 1g du phénol dans 20ml d'eau distillée selon la méthode de Dubois *et al.* (1956) modifiée.

#### II.3.2.1.2.- Mode opératoire

La teneur en oses totaux est déterminée par la méthode de Dubois *et al.* (1956) avec des modifications selon Brudieux (2007).

- Dans des tubes à essai en verre, introduire 200 µl de la solution polysaccharidique, ou 200 µl des solutions du glucose constitutive de la gamme d'étalonnage;
- Additionner 200 µl de la solution du phénol à 5%;
- Agiter le mélange;
- Ajouter rapidement 1ml d'acide sulfurique concentré au milieu réactionnel,
- Faire chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 5 min;
- Après refroidissement dans un bain de glace, placer les tubes à l'obscurité pendant 30 min;
- Lire la densité optique à 490 nm contre le blanc par un spectrophotomètre UV-Visible.

### II.3.2.2.- Dosages des oses neutres

Les oses neutres sont dosés par la méthode de **Monsigny et al. (1988)**. C'est une méthode simple et pratique, qui permet un dosage précis avec de petits échantillons (20 µl) de sucres neutres (**Monsigny et al., 1988**). Il est basé sur l'un des Propriétés des polysaccharides: leur capacité à former des composés tels que le furfural dans les acides forts qui interagit facilement pour donner dérivés colorés (**Pansu, 1992**). Le résorcinol réagit avec les dérivés du furfural pour donner une couleur jaune brune dont l'absorbance est mesurée à 430 ou 480 nm. Le dosage est réalisé par rapport à des solutions étalons allant de 0,001% à 0,01% de glucose.

#### II.3.2.2.1.- Préparation des réactifs et solutions

- **Préparation de la gamme étalon de glucose de 0,0005% à 0,02% (Dubois et al., 1956)**

**Tableau 7:** Gamme étalon du glucose

	Blanc	0.0005%	0.001 %	0.002 %	0.005 %	0.01 %	0.02 %
Eau distillée (µl)	200	195	190	180	150	100	0
Glucose (µl)	0	5	10	20	50	100	200

- **Préparation de la solution du résorcinol 0,6%**

La solution est préparée avec 0,3g du résorcinol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de **Monsigny et al. (1988)** modifiée.

#### II.3.2.2.2 Mode d'opérateur

- Introduire, dans des tubes à essai en verre 200 µl de la solution polysaccharidique ou de l'étalon;
- Ajouter 200 µl de la solution du résorcinol à 0,6%;
- Après l'agitation de mélange, ajouter rapidement 1ml d'acide sulfurique;

- Faire chauffer le mélange au bain Marie à 90 °C pendant 30 min;
- Après refroidissement dans un bain de glace, placer les échantillons dans l'obscurité pendant 30 min;
- La densité optique est mesurée à 480 nm contre le blanc par un spectrophotomètre UV-Visible.

### **II.3.2.3- Dosage des oses acides**

Quantification des sucres acides est réalisée par la méthode au méta - hydroxydiphényl (m-HDP) pour les oses acides. En milieu acide, les uroniques se transforment en dérivés furfuroux qui forment, en se complexant avec le m-hydroxybiphenyl (mHBP), des composés de couleur rose-rouge absorbant à 540 nm. Le dosage est réalisé par rapport à des solutions étalons allant de 0,001% à 0,01% d'acide galacturonique (**Blumenkrantz et Asboe-hansen, 1973**)

#### **II.3.2.3.1.- Mode opératoire**

- Dans des tubes à essais propres, placer 200 µl de l'extrait polysaccharidique ou de l'étalon ;
- Ajouter 1,2 ml de la solution borax/acide sulfurique ;
- Agiter les tubes ensuite les placer dans un bain-marie à 100°C pendant 5min ;
- Après refroidissement dans un bain de glace, introduire 20 µl de solution de m-HDP ;
- Agiter les tubes, une coloration rose se développe après 5min ;
- Lire l'absorbance à 525nm à la spectroscopie UV Visible.

**II.3.2.4- Dosage des protéines**

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**. C'est un dosage colorimétrique rapide et plus sensible que la méthode de LOWRY (**Bradford, 1976**). Il est considéré comme une méthode d'estimation rapide et précise pour l'estimation de la concentration en protéines. En milieu acide, le réactif de Coomassie de coloration marron se lie aux protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe entre 465 et 595 nm. Une courbe d'étalonnage est tracée en utilisant du sérum albumine bovine (**BSA**) comme référence standard.

**II.3.2.4.1.-Mode opératoire**

- Dans des tubes à essai en verre introduire 200 µl de l'échantillon ou l'étalon.
- Ajouter 2 ml de bleu de Coomassie.
- Après agitation, faire chauffer les échantillons au bain Marie à 37°C pendant 30 minutes.
- Ensuite après refroidissement à température ambiante pendant 20 min .
- Lire la densité optique à 595 nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

**II.3.3.- Caractérisation des résidus glycosidiques**

Pour la caractérisation des résidus glycosidiques, une déstructuration significative de polymères est nécessaire, sans toutefois altérer de manière irréversible la structure du polymère des oses constitutifs. La détermination de la composition monosaccharidique de l'extrait polysaccharidique brut se fait par une hydrolyse acide suivie par chromatographie sur couche mince (**Delattre, 2005**).

**II.3.3.1.- Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques**

L'hydrolyse consiste à couper les liaisons osidiques, a pour but de dépolymériser les polysaccharides à analyser par un acide. Des acides minéraux forts peuvent être employés à chaud tels que l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), l'acide trifluoroacétique (TFA), l'acide formique ou encore l'acide nitrique (**Delattre, 2005**).

**II.3.3.1.1.- Mode opératoire (Boual et al., 2012; Kharbade et Joshi, 1995)**

- Placer dans un flacon à vis de petit volume, 1ml de TFA de 2M ;

- Ajouter à 25mg d'extrait brut polysaccharidique, et on le laisse dans l'étuve à 110°C pendant 4h ;
- Refroidir le flacon au bain de glace ;
- Verser l'hydrolysate dans un tube d'Eppendorf étiqueté ;
- Centrifuger à 4000g pendant 15mn et récupérer le surnageant sur des boites pétries en verre ;
- Additionner quelques gouttes de méthanol ;
- Déposer les boites de Pétri dans un dessiccateur sous vide pendant 24h ;
- Après évaporation et séchage total de l'hydrolysate, ajouter 500 µl de l'eau distillée ;
- Récupérer les hydrolysats dans des tubes.

### **II.3.3.2.- Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée dans la présente étude pour l'identification des différents oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles. L'analyse qualitative en oses des polysaccharides pariétaux a été réalisée par CCM selon **Randerath (1971)**. L'identification est rendue possible grâce à des témoins, solutions de sucres connus déposés dans les mêmes conditions que le mélange à analyser. Chaque sucre est caractérisé par son  $R_f$ , rapport de la distance de migration du spot à la distance de migration du front du solvant (**Audigie et al., 1980**). De plus, étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange, semble employer pour suivre la progression d'une réaction comme, c'est le cas de l'hydrolyse de polysaccharides (**Delattre, 2005**). Les spots sont révélés par une réaction colorée le Nigrum après migration, la révélation est basée sur les réactions furfuraliques des sucres. Après chauffage à l'étuve à 105°C pendant 10 à 15mn les aldohexoses donnent une coloration bleuâtre, les aldopentoses donnent une coloration verdâtre, les cétooses donnent une coloration rougeâtre (**Paulsen et al., 2002**).

#### **II.3.3.2.1.- Mode opératoire**

Le choix du système de phase mobile est en fonction de la nature des oses à séparer et les rapports frontaux obtenus. Deux systèmes sont utilisés pour des plaques en gel de silice (**Hoton-dorge, 1976 ; Cheng et al., 2010**).

**A. Phases mobiles**

- Système **I**: la phase mobile est constituée d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique dans les proportions 5-4-4-10-2 (**Hoton-dorge, 1976**).
- Système **II**: la phase mobile est constituée d'acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau avec les proportions 8,5/2/2/1,5.

**B. Phase stationnaire**

Les phases stationnaires sont des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi de type Silica gel 60 F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium (**Wang et Fang, 2004**). Les plaques sont entièrement utilisées. Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, puis activée dans l'étuve à 100°C pendant 10mn. Une fois activée, la plaque est prête pour le dépôt des échantillons (**Boual et al., 2013a**).

**C. Préparation des cuves chromatographiques**

Les cuves sont préparées selon la méthode d'**Audigie et al. (1995)**, modifiée. La phase mobile est versée dans la cuve à une hauteur de 0,5 cm d'environ. La cuve est laissée fermée hermétiquement pendant 24 h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile. La saturation a pour but de limiter l'évaporation de la phase mobile depuis la cuve chromatographique.

**D. Dépôt des hydrolysats et des étalons**

A chaque 10 mg d'ose étalon (arabinose, galactose, glucose, mannose, rhamnose, xylose et acide glucuronique) est ajouté 1 ml d'eau distillée (**Boual et al., 2013b**). Les solutions sont déposées à l'aide d'un applicateur, en utilisant une micropipette de 10 µl (**Audigie et al., 1995**).

**E. Révélation par de le réactif de NIGRUM**

NIGRUM est le réactif de révélation des plaques, sa préparation est faite selon **Ghebregzabeier et al. (1975)**.

**F. Développement des plaques**

Les plaques sont placées dans les cuves de sorte que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. La cuve est ensuite fermée pour laisser les plaques se développer avec le temps, en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'élution. Quand le solvant arrivera à 1cm du bord supérieur, les plaques sont retirées doucement et le front du solvant est

marqué avec un crayon (**Delattre, 2005**). Elles sont ensuite séchées à l'air libre et révélées par le NIGRUM à l'aide d'un pulvérisateur. Les plaques sont incubées à l'étuve à 105°C jusqu'à l'apparition des spots colorés (ou taches) environ 15mn (**Boual, 2011**).

### **G. Calcul des facteurs de rétention (rapport frontal des spots)**

Le facteur de rétention (Rf) est calculé pour chaque spot obtenu des hydrolysats et des étalons. Qui est permet la détermination de la composition des extraits en monosaccharides (**David et Hazel, 1998**).

Le facteur de rétention selon **Audigie et al., 1995** :

$$(Rf) = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon ou le témoin}}{\text{Distance parcourue par le solvant (phase mobile)}}$$

## **II.3.4.- Activité phagocytaire**

### **II.3.4.1.- Principe de test**

Le test de la phagocytose est fondé sur l'activation des cellules phagocytaires par les polysaccharides. Ce test est réalisé afin de déterminer l'augmentation de la capacité de leucocytes à phagocyter les particules après une stimulation par des extraits polysaccharidiques de *S. officinalis* (**Harun et al., 2015**).

### **II.3.4.2.- Prélèvement de sang**

Le sang est acquis à partir des volontaires sains, de sexe masculin et d'âge 25 à 38 ans, par une ponction veineuse aseptique (**Koko et al., 2008**) et pendant le même jour de test au niveau de laboratoire IBN ROCHD Ghardaïa. Un tube contenant le sodium héparine comme anticoagulant est utilisé pour recueillir le sang total (**Maqbool et al., 2011**).

### **II.3.4.3.- Préparation de *Candida albicans***

L'inoculation de *Candida albicans* est faite dans un milieu liquide de Sabouraud à partir d'une culture mère maintenu sur la gélose inclinée de Sabouraud. Ensuite, elle est laissée pendant une nuit à 30°C. Cette technique permet d'obtenir le *C. albicans* sous forme de levure. La culture est centrifugée à 400g pendant 10mn (**Ghoneum et Gollapudi, 2004**). Le culot est lavé deux fois avec 1ml de tampon PBS stérile et centrifugé à 460g à 4°C

pendant 10mn, puis l'incubation est effectuée pendant 1h à 90°C pour tuer les *C. albicans* (Ghoneum et Gollapudi, 2004). Les levures mortes sont lavés deux fois dans 1ml de PBS et centrifugé (Ragsdale et Grasso, 1989).

La mesure de l'absorbance à 540nm permet l'estimation de concentration de cellules dans le PBS. L'absorbance est ajustée à 1,0 qui correspond à  $1 \times 10^7$  blastoconidies de *C. albicans*/ml, approximativement (Ghoneum et Gollapudi, 2004 ; Tavanti *et al.*, 2006).

#### II.3.4.4.- Préparation des solutions tampons-tampon Phosphate Saline (PBS)

PBS est une solution saline à des concentrations ioniques correspondent à celles du corps humain. C'est un milieu isotonique et non toxique pour les cellules vivantes (Heakal *et al.*, 2014).

##### ➤ Composition de PBS

La préparation de PBS est réalisée au pH 7,4 (Heakal *et al.*, 2014) dans 1000 ml d'eau bi-distillée. La température de la solution est maintenue à 37°C (Dalmau *et al.*, 2015 ; Guiñón pina *et al.*, 2015).

**Tableau 8 :** Composition de PBS selon Burnat *et al.* (2013)

Composants	Quantité (g.l <sup>-1</sup> )
NaCl	8
KCl	0.2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	2.9
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2

##### ➤ Préparation de PBS

Les composants sont ajoutés à l'eau distillée et le volume est amené jusqu'à 1000 ml. Après une bonne agitation, le pH est ajusté à 7,4. Le tampon est stérilisé à l'autoclave pendant 15mn à une pression de 1 bar, à une température de 121°C et conservé à 25°C (Atlas, 2010).

##### ➤ Solution de Hanks

D'après Naoun (2014), la solution de Hanks connu sous le nom de HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) qu'est une solution très délicate à fabriquer. Les étapes décrites pour la préparation de Hanks sont exécutées minutieusement.



➤ **Composition de la solution de Hanks**

La solution saline de Hanks est préparée à pH 7,4 dans 1000 ml d'eau distillée (Hanks, 1975)

**Tableau 9:** Composition de solution Hanks selon Hanks (1975)

Composants	Quantité (g.l <sup>-1</sup> )
CaCl <sub>2</sub>	1,4
NaCl <sub>2</sub>	80
KCl	4,0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,6
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,6
Glucose	10,0
Rouge de phénol 0,2%	0,4
NaHCO <sub>3</sub>	

➤ **Préparation de solution de Hanks (Hanks, 1975)**

Trois solutions sont préparées.

➤ **Solution A**

Dans un bécher, 1,4g de CaCl<sub>2</sub> est dissous dans un 200ml d'eau distillée glacée et dans un autre bécher de 1000ml contenant 800ml d'eau distillée glacée, les ingrédients restant sont ajoutées à l'exception de NaHCO<sub>3</sub>, puis une agitation est effectuée jusqu'à dissolution. Les deux solutions sont mélangées et une quantité d'eau distillée est ajouté jusqu'à rendre le volume total égale à 1100ml en fournissant 10% d'excès d'eau pour compenser les pertes durant l'autoclavage.

➤ **Solution B**

Afin de préparer une solution de rouge de phénol à 0,2%, 200ml d'eau distillée glacée est ajoutés à 0,4g de rouge phénol. Puis, la solution ainsi préparée est autoclavée.

➤ **Solution C**

La préparation de la solution isotonique de NaHCO<sub>3</sub> à 1,4% est effectuée par la dissolution de 3,5g de NaHCO<sub>3</sub> dans 250ml d'eau distillée glacée suivie par une

autoclavage. Cette solution est utilisée pour l'ajustement de pH.

#### II.3.4.5.- Préparation de polysaccharides

La fraction polysaccharidique de *S. officinalis* est testée pour leurs capacités d'activer la phagocytose de *C. albicans* par les leucocytes humains (Popov *et al.*, 1999).

L'extrait polysaccharidique est préparé dans la solution de Hanks pour une concentration de  $1\text{mg.ml}^{-1}$  (Nergard *et al.*, 2005).

#### II.3.4.6. - Préparation de zymosan

Le zymosan est un dérivé de la membrane des cellules de *saccharomyces cerevisiae*, il s'agit d'un complexe des protéines et des glucides notamment du  $\beta$ -D-glucane. Un  $\beta$ -glucane est constitué de résidus glucose liés par des liaisons osidiques  $\beta$ -1,3 (Sato *et al.*, 2005). Afin de mesurer la phagocytose *in vitro*, Freire-Garabal *et al.* 1993 ont utilisé le test au zymosan comme contrôle positif à une concentration de  $1\text{mg.ml}^{-1}$  (Edvard *et al.*, 1978).

#### II.3.4.7. - Exploration de la phagocytose et récupération des cellules phagocytaires (protocole modifié)

La solution polysaccharidiques (40 $\mu$ l) est mélangée avec 200 $\mu$ l du sang hépariné et incubés dans un incubateur avec agitation (60rpm) à 37°C pendant 30min. Puis, les tubes sont mis sur la glace pour arrêter la réaction (Harun *et al.*, 2015). Les cellules stimulées sont lavées deux fois par 1ml de PBS (Chen *et al.*, 2015) froide (4°C), puis centrifugé à 250g pendant 5min à 4°C (Rossi *et al.*, 2013). 40 $\mu$ l de solution de *Candida albicans* est ajoutée au mélange des échantillons à 0°C. Les échantillons sont incubés dans un incubateur avec agitation à 37°C pendant 10min. Tandis que, pour le contrôle négatif les échantillons sont placés sur la glace (Harun *et al.*, 2015).

Après l'incubation, la phagocytose est arrêtée par l'addition de 2ml de PBS froide, et les cellules sont ensuite lavées trois fois par 1ml de PBS froide (Chena *et al.*, 2014) puis centrifugées trois fois à 100g pendant 5min à 4°C (Czuprynski *et al.*, 1991).

#### II.3.4.8.- Lyse des érythrocytes

Les érythrocytes sont lysés par 2ml d'une solution de lyse pour obtenir une population pure de granulocytes (Maqbool *et al.*, 2011).

La lyse des hématies est effectuée une fois pendant 20sec (le temps est strictement

contrôlé en utilisant un chronomètre) par la solution HSi d'hémolyse et de lavage (Réf : 018431L, TOSOH EUROPE, Belgique). Le processus de lyse est arrêté en utilisant 2ml d'un tampon HBSS suivi d'une centrifugation à 400g pendant 10min, ensuite les échantillons sont lavés deux fois par 3ml de PBS (**Harun et al., 2015**).

**Tableau 10:** Test de phagocytose

<b>Concentration</b>		<b>1mg/ml</b>
<b>Contrôle positif</b>	Sang total (µl)	200
	Zymosan (µl)	40
<i>Salvia officinalis</i>	Sang total (µl)	200
	Polysaccharides (µl)	40
<b>Contrôle négatif</b>	Sang total (µl)	200
	Solution de Hanks (µl)	40
	<i>Candida albicans</i>	40

#### II.3.4.9.- Préparation de frottis sur lame

La préparation des frottis se fait selon la méthode de **Rouësse (2002)**. A l'aide du compte-goutte, 50 µl de chaque culot cellulaire est prélevé et ensuite déposé à l'extrémité d'une lame en verre propre. L'étalement est fait par une autre lame et à la fin les frottis sont séchés à l'air libre (**Moinfar et al., 2012**).

#### II.3.4.10.- Fixation par le méthanol

La fixation des cellules étalées est faite en versant quelques gouttes de méthanol sur la lame pour une durée de 2min (**Norum et al., 2005 ; Ponte et al., 2012**).

#### II.3.4.11.- Coloration de MGG

La coloration de May-Grünwald-Giemsa repose sur un mélange de colorants (éosine, bleu de méthylène et azur). Il s'agit en fait d'une coloration en deux temps, en milieu alcoolique puis aqueux (**Sebahoun, 2005**).

#### II.3.4.11. .- Principe de coloration

Une coloration standard utilise la méthode de May-Grünwald-Giemsa (**Wildemann et Oschmann, 2011**) repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe (**Merck, 2008**). Les noyaux apparaissent en

différents degré de coloration mauve et le cytoplasme en différents degrés en bleu, ce qui permet de différencier les structures individuelles (**Wildemann et Oschmann, 2011**).

L'intensité de la coloration dépend de la teneur en azur B et du rapport azur B- éosine G. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation (**Merck, 2008**).

#### **II.3.4.11.2. - Préparation de la coloration MGG (Merck, 2008)**

##### **➤ Solution d'éosine-bleu de méthylène à partir de colorant selon May-Grünwald**

Une quantité de 0,25g d'éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald est dissous dans 100ml de méthanol, suivi d'un léger chauffage dans un bain Marie à 60°C. Après agitation durant 1h, la solution est laissé reposer 24h puis filtrer.

La dilution de la solution de May-Grünwald est s'effectuée pour la coloration manuelle, en mixant 30ml de solution éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald avec 150ml d'eau distillée et 20ml de solution tampon.

##### **➤ Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle**

Une dilution de 10ml de solution azur-éosine-bleu de méthylène de Giemsa se fait dans 190ml de solution tampon. Après mélange, la solution est laissée reposer 10min et filtrée si nécessaire.

#### **II.3.4.11.3.- Procédure de la coloration May-Grünwald**

##### **➤ Giemsa (Norum et al., 2005 ; Wildemann et al., 2011)**

La préparation cellulaire est séchée à l'air suivi par le couvrement de la lame par une solution de May-Grünwald-Giemsa (éosine avec bleu de méthylène) frottis pendant 3min. L'excès de colorant est éliminé en rinçant avec l'eau du robinet. Ensuite le frottis est couvert une autre fois avec une solution fraîche de Giemsa filtré (la solution standard diluée à 1:10 avec l'eau du robinet) pendant 15 à 20min. Le frottis est lavé rapidement avec l'eau du robinet et séché à l'air.

#### **II. 3.4.12.- Lecture du frottis sous microscope**

Après séchage, les lames sont examinées après l'addition de quelques gouttes de l'huile d'immersion (**Ghoneum et Gollapudi, 2004**) au microscope optique par un grossissement de 1000 fois (**Giannis et al., 1992**).

#### II.3.4.11.4.- Calcul de la capacité phagocytaire

Une centaine de cellules adhérentes sont comptés pour déterminer le pourcentage de la phagocytose à l'aide d'un microscope optique. Les valeurs de la phagocytose représentent le pourcentage des cellules qui contiennent des particules zymosan ou des levures intériorisées (Nose *et al.*, 1997 ; Popov *et al.*, 1999 ; Abid *et al.*, 2012).

La capacité phagocytaire était représentée comme suit :

$$CP\% = (\text{Nombre de cellules ingérées} / \text{Nombre totale}) \times 100\%$$

Sachant que :

- CP: Capacité de phagocytose.
- Nombre de cellules ingérées : les macrophages phagocytaires de levures ou zymosan.
- Nombre totale : les macrophages choisis pour le calcul.

#### II.3.4.11.5.- Calcul de l'activité phagocytaire

Après calcul du degré de phagocytose du contrôle positive, des polysaccharides et du contrôle négatif. L'activité phagocytaire des polysaccharides et celle de contrôle positive est calculé selon Steven *et al.* (1984) comme suit:

$$PA\% = (CP \text{ test } \%) - (CP \text{ blanc } \%)$$

Où:

- PA%: activité phagocytaire catalysé par les polysaccharides et du contrôle positif.
- CP test %: capacité de phagocytose en présence des polysaccharides ou bien le contrôle positif.

CP blanc% : capacité de phagocytose en absence des polysaccharides ou bien le contrôle négatif

*Chapitre III*  
*Résultats et discussions*

**Chapitre III : Résultats et discussions**

Dans ce chapitre, nous exposerons les différents résultats obtenus lors de l'extraction et de la caractérisation des polysaccharides hydrosolubles extraits des feuilles de *Salvia officinalis*.

**III.1.- Rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles**

Le rendement relatif est calculé par rapport au poids de la matière sèche utilisée pour l'extraction (Mouradi et al., 2006).

Nous avons observé que l'extrait polysaccharidique des feuilles *Salvia officinalis* avait une apparence cristaux bruns.



**Photo 3 :** - Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de *Salvia officinalis* (source personnelle).

On constate que le rendement massique de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Salvia officinalis* obtenue par rapport à la matière sèche est de 2,16%. Ce rendement est inférieur au rendement massique obtenu à partir des graines de *Salvia hispanica* soit 4,5% (Lin et al., 1994), et nettement inférieur que celui décrit par Wang (2014) pour les racines de *Salvia miltiorrhiza* soit 41,34%.

Cette variation peut être expliquées par l'état physiologique des plantes ; la saison et la période de la récolte, ou par les différences des conditions d'extraction au laboratoire type d'extraction (macération, le type et la quantité de solvant, le degré de pureté d'alcool utilisé

dans la précipitation et le volume utilisé, le type de polysaccharide) (Ebringerova et al., 2003). La température d'extraction a un effet significatif sur le rendement polysaccharidique. Ainsi, le temps représente l'un des facteurs affectant le rendement massique de l'extraction (Miao, 2011), les interactions entre ces paramètres ont également influencé le rendement d'extraction (Brebion, 2013).

### III.2.- Composition de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles

Après la série des dosages colorimétriques, les concentrations d'oses totaux, d'oses neutres sont coenseignées dans le tableau 11.

**Tableau 11:**Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de *Salvia officinalis*

Rendement %	Teneur en oses %	
	Totaux	Neutres
2,16%	37,49%	21,7%

L'étude de la composition de l'extrait polysaccharidique à montrer que l'extrait des polysaccharides hydrosoluble de *Salvia officinalis* renferme 37,49 % d'oses totaux et 27,7% d'oses neutres.

Selon les résultats obtenus, l'extrait polysaccharidique renferme des oses totaux avec une teneur de 37,49 %, semble inférieur à celui des racines de *Salvia miltiorrhiza* soit 91,67 % (Wang, 2014). Les teneurs en oses neutres dans notre plante sont de 27,7%.

Les différences entre les compositions chimiques des polysaccharides peuvent être dues aux matières premières (Liu et al., 2017b) ou leur nature, son origine (région de croissance, la souche de la plante), la procédure de traitement (Zemnukhova et al., 2004), et les méthodes appliquées pour les analyses.



### III.3.- Caractérisation par chromatographie sur couche mince des polysaccharides

L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince CCM à permis de déterminer la nature des oses constitutifs de polysaccharides extraits des feuilles de *Salvia officinalis*, par comparaison des rapports frontaux des taches apparues avec ceux des étalons, et pour l'identification des oses constitutifs deux systèmes différents sont utilisés. Ce type d'hydrolyse permet d'observer des taches ayant des différentes Rf.

Les résultats de chromatographie d'extrait polysaccharidique des feuilles de *Salvia officinalis* obtenus ainsi que les différents étalons utilisés dans les deux systèmes sont consignés dans le tableau 12.

La lecture de chromatogramme de système I, révèle la présence de quatre spots d'oses de Rf : (0,19), (0,51), (0,54) qui correspond à l'acide glucuronique, glucose et mannose et le deuxième spot n'est pas identifiés, son Rf est de 0,32.

Tandis que le système II donne aussi trois spots d'ose de Rf : (0,42), (0,47), (0,66) qui correspond au glucose et mannose et le dernier spot n'est pas identifié.

**Tableau 12 :** Rapports frontaux (Rf) des oses étalons et de PFS pour deux systèmes de chromatographie sur couche mince (CCM)

Type d'ose	Système I		Système II	
	Etalon	Echantillon	Etalon	Echantillon
<b>Acide D-galacturonique</b>	0,12	/	0,11	/
<b>acide glucuronique</b>	0,22	0,19	0,16	/
<b>Arabinose</b>	0,64	/	0,49	/
<b>Galactose</b>	0,46	/	0,32	/
<b>Glucose</b>	0,52	0,51	0,43	0,42
<b>Manose</b>	0,56	0,54	0,46	0,47
<b>Rhamnose</b>	0,78	/	0,68	/
<b>Xylose</b>	0,58	/	0,57	/

Par comparaison des rapports frontaux des tâches apparues dans l'extrait polysaccharidique avec ceux des étalons, il est appa  t que les polysaccharides des feuilles de *Salvia officinalis* constituent principalement de glucose, mannose et acide glucuronique.

Donc, l'extrait brut des polysaccharides des feuilles de *Salvia officinalis* est un hétéro-polysaccharides, constitués majoritairement de glucose, mannose et acide glucuronique. Ces résultats semblent proches à ceux rapportés par **Peter Capek (2009)** qui ont signalé que un glucomannane a été isolé des parties aériennes de la sauge est constituée de glucose et de mannose.

De plus, **Capek et Matulová (2013)** ont noté que un arabino-(4-O-méthyl-glucurono)-xylan (AGX) a été isolé par extraction alcaline suivie d'une précipitation avec une solution d'hydroxyde de baryum est constitué principalement de xylose (81 %), d'arabinose (10 %), d'acide glucuronique (8 %) et de petites quantités de hexoses (1%). **Koshevoi (2011)** montrent que les feuilles de *Salvia officinalis* sont constitués de trois monosaccharides qui sont le glucose, le galactose et le rhamnose. L'identification préliminaire des monosaccharides a été réalisée par chromatographie sur papier. **Wu et al. (2013)** ont indiqué que les différences marquées en composition de sucre peuvent être liées aux différentes méthodes d'analyses et des échantillonnages. Aussi, les constituants des polysaccharides sont facilement oxydés par des procédés chimiques.

Autrement dit que le temps et l'humidité peuvent affectés les résultats de caractérisation.



Figure 6 : chromatogramme de *Salvia officinalis* du système I

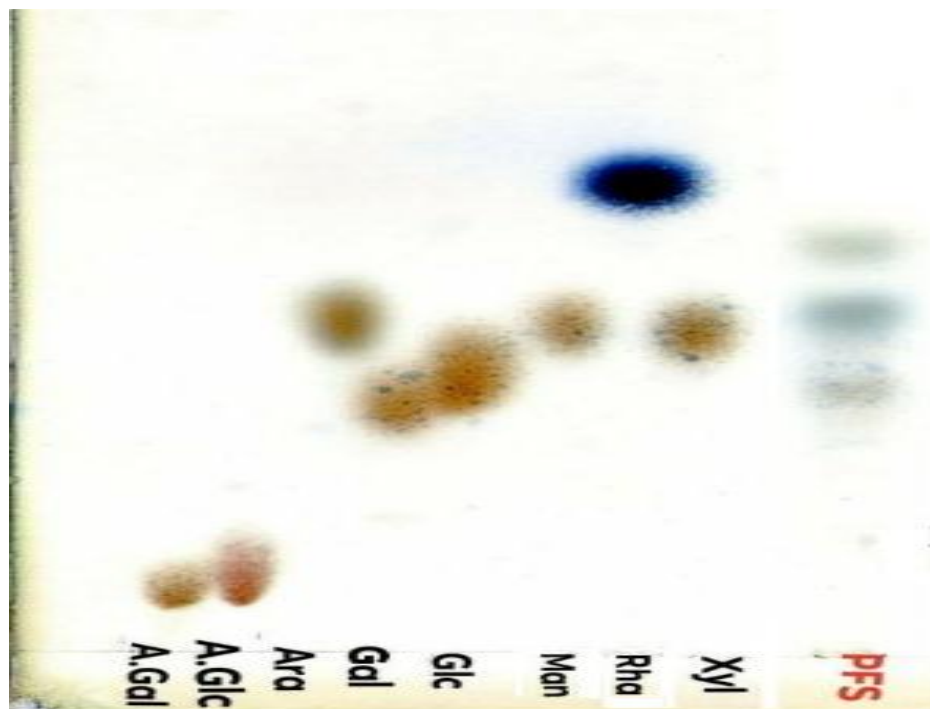


Figure 7 : chromatogramme de *Salvia officinalis* du système II

**III.4.- Activités biologiques des polysaccharides**

Dans l'immunité innée, le processus utilisé par certaines cellules pour internaliser les agents pathogènes est la phagocytose. Elle est considérée comme l'un des principaux mécanismes qu'utilisent les vertébrés pour combattre les infections microbiennes (**Benaoun, 2017**).

Les polysaccharides sont des substances qui peuvent améliorer la réponse immunitaire innée ou non spécifique en coopérant directement avec les cellules du système les actionner (**Abdellatif et al., 2018**).

L'activité immunomodulatrice des polysaccharides dérivés de plantes médicinales peut stimuler ou inhiber diverses propriétés du système immunitaire de l'hôte et prévenir les cancers de l'estomac, de l'œsophage, etc. Schepetkin et Quinn (2006) montrent qu'en fait, le principal mécanisme des polysaccharides végétaux pour l'immunostimulation, l'anti-tumorale, les bactéricides, semble se produire par leur interaction avec les structures saccharides des cellules immunitaires pour augmenter l'activité phagocytaire des macrophages, des granulocytes et la cytotoxicité des cellules tueuses naturelles (**Boual et al., 2020**).

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité phagocytaire des cellules immunitaires issues de sang total sur les levures de *Candida albicans*. L'extrait de polysaccharides des feuilles de *Salvia officinalis* est testé, en considérant le zymosan comme contrôle positif.

Les résultats obtenus sont exprimées en pourcentages de la capacité phagocytaire, en calculant aussi l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des feuilles de *Salvia officinalis* .

La présentation graphique des résultats est figurée en histogramme pour la capacité phagocytaire (**Fig.8**) et pour l'activité phagocytaire (**Fig. 9**).

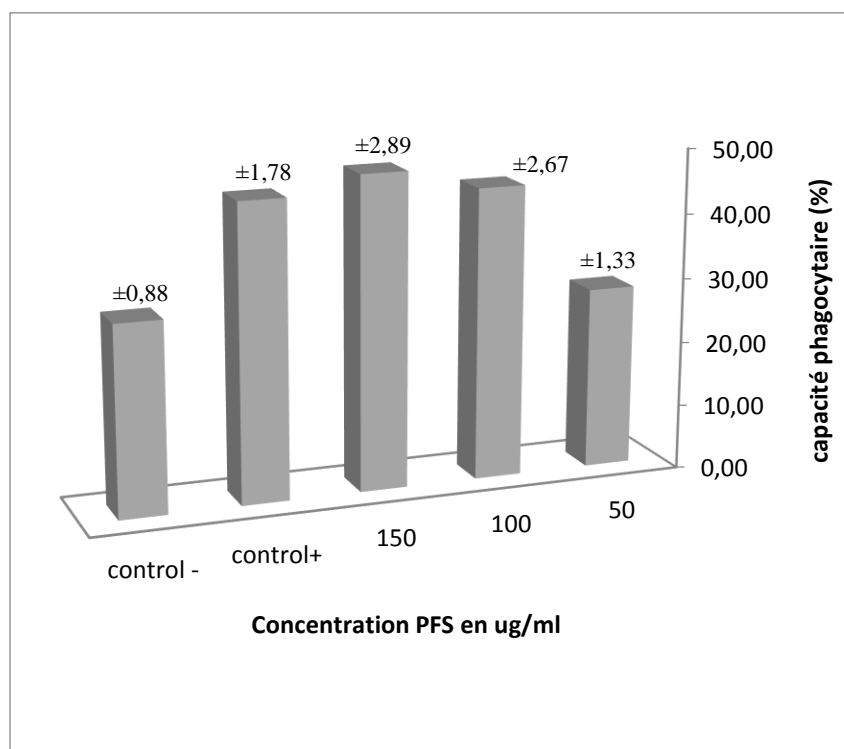


Figure 8 : Capacité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique de *S.officinalis*

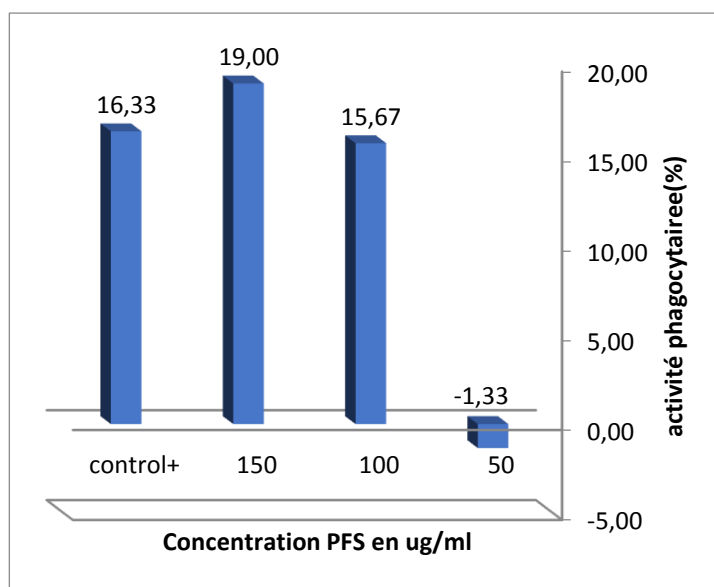


Figure 9: Activité phagocytaire d'extrait de polysaccharides hydrosoluble de *S.officinalis*.

Les résultats montrent qu'une augmentation de la phagocytose liée à la dose a été observée chez des leucocytes traités avec des produits à base de 50-150 µg/ml de doses de PFS.

La figure 08 montre une capacité phagocytaire des leucocytes soit  $28 \pm 1,33\%$  en concentration 50 µg/ml,  $45 \pm 2,67\%$  en concentration 100 µg/ml et  $48,33 \pm 2,89\%$  en concentration 150 µg/ml pour l'extrait polysaccharidique de *S. officinalis*.

La capacité phagocytaire de contrôle négatif est de  $29,33\% \pm 0,88$ , semble inférieure à celle présentée par de **Souza ferreira et al. (2016)** soit 40% pour *Candida albicans*. **El-boshy et al. (2010)** ont ainsi signalé une capacité phagocytaire de  $26,8 \pm 0,92\%$  pour le zymosan comme contrôle positif. Cette capacité est inférieure à celle de contrôle positif qu'on a noté. En outre, le zymosan a montré une activité phagocytaire de 16,33% semble inférieure à celle présentée par de **Wang et al. (2014)** soit  $20,23 \pm 2,54\%$  pour *Salvia miltiorrhiza Bunge*. Tandis que l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des feuilles de *Salvia officinalis* est de 1,33% pour une concentration de 50 µg/ml, 15,67% pour une concentration de 100 µg/ml et 19% pour une concentration de 150 µg/ml. Ces résultats semblent inférieurs à ceux présentés par **Boual et al. (2020)** qui montre l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des graines de *Plantago notata Lagasca* comme suit:  $29,1 \pm 3,42$  pour une concentration de 50 µg / ml,  $50,1 \pm 4,10$  pour une concentration de 100 µg / ml et  $56,3 \pm 4,76$  pour une concentration de 150 µg / ml.

Shu et al (2015) ont trouvé que Le PSSC ( polysaccharides) issu de *Salvia chinensis Benth* est capable de stimuler une réponse immunitaire antitumorale chez des souris transplantées avec le H22 HCC, des cellules ayant de faibles effets toxiques sur les hôtes.

Les résultats suggèrent que le L'extrait polysaccharidique de *Salvia officinalis* a contribué à la grande amélioration ou au renforcement de la fonction phagocytaire des macrophages.

*Conclusion*

### Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Notre travail dirigé sur la mise en évidence des propriétés phagocytaire de *Salvia officinalis* qui contiennent des polysaccharides, comme des composés biologiquement actif. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés médicinales.

L'étude des polysaccharides hydrosolubles de feuilles de l'espèce végétale *Salvia officinalis* appartenant à la famille des *Lamiaceae* récoltée dans la région de l'Oued N'tissa de Ghardaïa, située au Sahara septentrional Est algérien. Les feuilles sont prétraitées par l'acétone, puis macérés dans l'eau distillée à 80°C pendant 2h. Puis la précipitation des polysaccharides se fait par éthanol suivis par lyophilisation. L'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles obtenu, a un rendement massique soit 2,16%.

L'analyse qualitative de l'extrait polysaccharidique en oses constitutifs s'est fait par chromatographie sur couche mince (CCM) suivant deux systèmes de séparation après une hydrolyse acide. L'analyse a montré la présence du glucose, mannose et de l'acide glucuronique.

En ce qui concerne l'activité phagocytaire, d'après les résultats obtenus, l'extrait polysaccharidique de *Salvia officinalis* a montré une activité stimulatrice de la phagocytose, en raison de leur capacité d'activer la phagocytose des leucocytes isolés à partir du sang total et ingérer avec les cellules de la levure *Candida albicans*.

### Perspectives

Pour une meilleure évaluation de l'activité phagocytaire des polysaccharides, on propose de purifier l'extrait polysaccharidique, afin de préciser les parties responsables des effets remarqués. Afin de confirmer les résultats obtenus par CCM, on suggère de faire appel à des techniques plus avancées comme CG/MS et la HPAEC-PAD pour caractériser précisément les résidus glycosidiques constituant les polysaccharides des feuilles de *Salvia officinalis*.



*Références  
bibliographiques*

**Références bibliographiques**

Abdellatif, S. A., Abdel Rahman, A. N., & Abdallah, F. D. (2018). Evaluation of Immunostimulant Activity of *Spirulina platensis* (Arthrospiraplatensis) and Sage (*Salvia officinalis*) in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Zagazig Veterinary Journal*, 46(1), 25-36.

ABID S., KHAJURIA A., PARAVAIZ Q., SIDIQ T., BHATIA A., SINGH S., AHMAD S., RANDHAWA M.K., SATTI N.K., et DUTT P., 2012.- Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, vol. 12: 626-634.

ATLAS R. M., 2010.-Handbook of Microbiological Media, 4ème Edition. Ed. CRC Press, USA: 831p.

AUDIGIE C., DUPONT G. et ZONZAIN F., 1995.- Principe des méthodes d'analyse biochimique, 2ème Edition. Ed. Biosciences et Technique, Paris. 44-56p.

AUDIGIE C., FIGARELLA J et ZONZAIN F., 1980.- *Nanutilus: Exemplaies: Biochimie structurale*. Ed. doin, Paris. 232p.

AZZI, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien: enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar (Doctoral dissertation).

Baranauskiene, Renata, Edita Dambrauskiene, P. Venskutonis, and Pranas Viskelis. "Influence of harvesting time on the yield and chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L)." In Conference Proceedings 6th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for Food Science and Production" "FOODBALT-2011" May, pp. 5-6. 2011.

BARICEVIC, D., & BARTOL, T. (2000). V. Pharmacology 11. The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. *The Genus Salvia*, 143.

Bektas, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*, 90: 333–340.

Belkamel, A., Bammi, J., Rouzet, M., & Douira, A. (2019). Étude comparative morphologique, anatomique et chimique de la sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) récoltée au Maroc et en France. *Phytothérapie*.

Benaoun, Fatima. "Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora* Batt. Trab (Liliaceae)." PhD diss., 2017. Casu, B. (1982). Structure and conformation of polysaccharides by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*

Blumenkrantz, N., et Asboe-Hansen, G. (1973). Nouvelle méthode de détermination quantitative des acides uroniques. *Biochimie analytique*, 54 (2), 484-489.

Boual Z., Kemassi A., Michaud P., et Ould el hadj M. D., 2011.- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*asphodelus tenuifolius* cavan (liliaceae): effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Algerian journal of aridenvironment, vol. 1: 52-60.

Boual, Z., Kemassi, A., HAMID OUDJANA, A., Michaud, P., & OULD, E. H. M. (2013a). Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* L.(Malvaceae): activité prébiotique. Lebanese Science Journal, 14(2), 41-51.

Boual, Z., Kemassi, A., Hamid Oudjana, A., Michaud, P., &Ould, E. H. M. D. (2013b). Caractérisation physico-chimique et biochimique des bulbes d'*Urgineanoctiflora* (Liliaceae) récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérie): Activités antioxydantes et antimicrobiennes. PhytoChemet Bio Sub Journal, 7, 2170-1768.

-Boual, Z., Kemassi, A., Khelil, AOEH, Michaud, P., et El Hadj, MD (2012). Caractérisation partielle et Hydrolyse Procédure de Extrait soluble dans l' eau de Polysaccharides Onesaharian des plantes médicinales: *Malvaegyptiaca* L. Revue internationale des sciences biologiques, la biochimie et de la bio - informatique , 2 (2), 100.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2), 248-254.

BREBION J. (2013)- Statistical analysis of the influence of extraction parameters on the extraction yields, extract and polysaccharide compositions and prebiotic activities of seaweed extracts from *Ascophyllum nodosum* .these de doctorate .98-100 p.

BRUDIEUX V., 2007 - Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thème doctorat. Université de Limoges. 193p.

BURNAT B., WALKOWIAK-PRZYBYŁO M., BŁASZCZYK T., et KLIMEK L., 2013.- Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution, vol.15 (1): 87- 95.

Capek P., Hříbalová V. Water-soluble polysaccharides from *Salvia officinalis* L. possessing immunomodulatory activity. Phytochemistry. 2004;65:1983–1992

Capek, P. (2009). A water soluble glucomannan isolated from an immunomodulatory active polysaccharide of *Salvia officinalis* L. Carbohydrate polymers, 75(2), 356-359.

Capek, P., and M. Matulova. "An arabino (glucurono) xylan isolated from immunomodulatory active hemicellulose fraction of *Salvia officinalis* L." International journal of biological macromolecules 59 (2013): 396-401.

Capek, P., and M. Matulova. "An arabino (glucurono) xylan isolated from immunomodulatory active hemicellulose fraction of *Salvia officinalis* L." International journal of biological macromolecules 59 (2013): 396-401.

Capek, P., E. Machová, and J. Turjan. "Scavenging and antioxidant activities of immunomodulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis* L." International journal of biological macromolecules 44, no. 1 (2009): 75-80.

Capek, P., Hribalová, V., Švandová, E., Ebringerová, A., Sasinková, V., & Masarová, J. (2003). Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. International Journal of Biological Macromolecules, 33(1-3), 113-119.

Capek, P., Hribalová, V., Švandová, E., Ebringerová, A., Sasinková, V., & Masarová, J. (2003). Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. International Journal of Biological Macromolecules, 33(1-3), 113-119.

Capek, Peter. Un glucomannane soluble dans l'eau isolé d'un polysaccharide immunomodulateur actif de *Salvia officinalis* L. Carbohydrate polymers , 2009, 75.2: 356-359.

Carović-Stanko, K., Petek, M., Martina, G., Pintar, J., Bedeković, D., Čustić, M. H., & Šatović, Z. (2016). Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. Czech journal of food sciences, 34(5), 377.

Chabrier, J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

CHEN R., LI H., LI S., JIN C., LU J., 2015.- Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 185–194.

CHEN M. L., WU S., TSAI T. C., WANG L. K., et TSAI F. M., 2014.- Regulation of neutrophil phagocytosis of *Escherichia coli* by antipsychotic drug. International Immunopharmacology, vol. 23: 550-557.

CHENG Y., JIA G., JIANG-SHENG Z., SHAO-PING L., 2010.- Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. Journal of Planar Chromatography, Vol 23: 46-49.

Chouana, T. (2017). Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne).

-Christensen, KB, Jørgensen, M., Kotowska, D., Petersen, RK, Kristiansen, K., et Christensen, LP (2010). Activation du récepteur nucléaire PPAR $\gamma$  par des métabolites isolés de la sauge (*Salvia officinalis* L.). Journal d'ethnopharmacologie , 132 (1), 127.

CZUPRYNSKI C. J., NOEL E. J., et ADLAM C., 1991.- Interaction of bovine alveolar macrophages with *Pasteurella haemolytica* A1 in vitro: modulation by purified capsular polysaccharide. Veterinary microbiology, vol. 26: 349-358.

Dal Pra, V., Bisol, LB, Detoni, S., Denti, M., Grando, J., Pollo, C., ... et Macedo, SM (2011). Activité anti-inflammatoire d'extraits fractionnés de *Salvia officinalis*. Journal of Pharmaceutical Science appliquée , 1 (7), 67.

Dalmau A., Guiñon pina v., Devesa F., Amigó V., et Igual Muñoz A., 2015.- Electrochemical behavior of near-beta titanium biomedical alloys in phosphate buffer saline solution. *Materials Science and Engineering*, vol. 48: 55-62.

DAVID, J., & HAZEL, P. (1998). *Analytical biochemistry*, 3ème Edition. Ed.

Delattre.C. (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation Enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, université de Picardie jules verne, Valois Santerre, P: 172.

Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., &Maïga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphusmauritiana*Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *ComptesRendusChimie*, 7(10-11), 1073-1080.

Djelili, Farida. "Etude du pouvoir de précipitation des protéines BSA des extraits polyphénoliques des plantes médicinales de la région de basse kabylie." PhD diss., Université de Béjaïa-Abderrahmane Mira 2007.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances.*Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

Duling E.N., Owen J.C., Joh B.G., Rosmaru F.W., Kevin A.M., Yeap L.F & Nigel B.P. (2007): Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*salvia officinalis*) using ethanol-water mixture. *Food chemistry*, 101:1417-1424.

Ebringerova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hribalova V. 2003- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74: 52-61.

EDVARD C. I. S., HAMMARSTROM L. L. G., et PERSSON U. C. I., 1978- Macrophage ,Dependence of Mitogefn Responsiveness: Macrophages Exposed to Zymosan Enhance the Response to Polyanions. *Cellular Immunology*, vol: 41 (1): 134- 149.

El-Feky, A. M., & Aboulthana, W. M. (2016). Phytochemical and biochemical studies of sage (*Salvia officinalis* L.). *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*, 4(5), 56-62.

Fulbert, J. C., &Cals, M. J. (1992). Les radicaux libres en biologie clinique: origin, rôle pathogène et moyens de défense. *Pathologie et biologie*, 40(1), 66-77.

Ghoneum M., et Gollapudi S., 2004.- Phagocytosis of *Candida albicans* by metastatic and non-metastatic human breast cancer cell lines in vitro. *Cancer Detection and Prevention* 28:17- 26.

Ghorbani, A. et Esmailizadeh, M. (2017). Propriétés pharmacologiques de la *Salvia officinalis* et de ses composants. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* , 7 (4), 433-440.

Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain.

GIAIMIS J., LOMBARD Y., MAKAYA-KUMBA M., FONTENEAU P. et POINDRON P., 1992.- A new and simple method for studying the binding and ingestion steps in the phagocytosis of yeasts. *Journal of Immunological Methods*, vol. 154:185-193.

Goutier. J., L'herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales, La Maison Rustique Flammarion, 2009.

Grdiša, M., Jug-Dujaković, M., Lončarić, M., Carović-Stanko, K., Ninčević, T., Liber, Z., ... et Šatović, Z. (2015). Saugé de Dalmatie (*Salvia officinalis* L.): un examen du contenu biochimique, des propriétés médicales et de la diversité génétique. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 80 (2), 69-78.

Guiñón pina V., Dalmau A., Devesa F., Amigó V et Igual Muñoz A., 2015.- Tribocorrosion behavior of beta titanium biomedical alloys in phosphate buffer saline solution. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 46:59- 68.

Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., & Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of traditional and complementary medicine*, 4(2), 82-88.

Hammoudi Roukia. Activité biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algérien. Université Kasdi Merbah – Ourgla-. 2015, 166.

Han, X., Shen, S., Liu, T., Du, X., Cao, X., Feng, H., & Zeng, X. (2015). Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from *Radix Cyathulae officinalis* Kuan. *International journal of biological macromolecules*, 72, 544-552.

HANS. D., KOTHE. W., 1000 Plantes aromatiques et médicinales, Terres Edition, 2007.

Harun, NH, Septama, AW et Jantan, I. (2015). Effets immunomodulateurs de certaines plantes malaisiennes sur l'expression de CD18 / 11a et les activités de phagocytose des leucocytes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 (1), 48-53.

Heakal F. E., Shehata O.S., et Tantawy N.S., 2014.- Degradation behaviour of AZ80E magnesium alloy exposed to phosphate buffer saline medium. *Corrosion Science*, vol. 86: 285- 294 .

Heinrich M, Barnes J, Williamson EM, (2004). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Churchill Livingstone.

Hoton-Dorge, M. (1976). Séparation des aldoses et des polysaccharides par chromatographie en couche mince de cellulose et nouveau réactif de pulvérisation permettant leur révélation sensible. *Journal of Chromatography A*, 116(2), 417-423.

Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.

Jedidi, S., F. Aloui, H. Selmi, K. Rtibi, S. Dallali, and C. ABBES2 ET H. SEBAL. "Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Aïn Draham (Northwestern of Tunisia)." (2018).

Jedinák, A., Mučková, M., Košťálová, D., Maliar, T., et Mašterová, I. (2006). Antiprotéase et activité antimétastatique de l'acide ursolique isolé de *Salvia officinalis*. Zeitschrift für Naturforschung C , 61 (11-12), 777-782.

Jiang, Y., Zhang, L., & Rupasinghe, H. V. (2016). The anticancer properties of phytochemical extracts from *Salvia* plants. Botanic, 6, 25.

Kabouche, A. (2005). Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae.

Keshavarz, M., Bidmeshkipour, A., MOSTAFAEI, A., Mansouri, K., et MOHAMMADI, MH (2011). L'activité anti-tumorale de *Salvia officinalis* est due à ses effets anti-angiogéniques, anti-migrateurs et anti-prolifératifs.

Kharbade, B. V., & Joshi, G. P. (1995). Thin-layer chromatographic and hydrolysis methods for the identification of plant gums in art objects. Studies in conservation, 40(2), 93-102.

Khedher, MRB, Khedher, SB, Chaieb, I., Tounsi, S., et Hammami, M. (2017). Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* de Tunisie. Journal EXCLI , 16 , 160

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.

KHEYAR, Nawel. "Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa* L., *Salvia officinalis* L. et *Laurus nobilis* L." PhD diss., Université de Béjaia-Abderrahmane Mira, 2009.

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.

KIN-ICHI O., TADAO K. 2004.- Total synthesis of apigenin 7,4'-di-O- $\beta$ glucopyranoside, a component of blue flower pigment of *Salvia patens*, and seven chiral analogues, Tetrahedron, 60: 2025–2034.

Koko, W. S., Mesaik, M. A., Yousaf, S., Galal, M., & Choudhary, M. I. (2008). In vitro immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. Journal of ethnopharmacology, 118(1), 26-34.

Komet, V G., 2011. Encyclopédie essentielle des HERBES, plantes.

Kong, Yu. "Current Research Development of Polysaccharides from *Salvia* Species." (2013).

Koshevoi, O. N. (2011). Amino-acid and monosaccharide compositions of *Salvia officinalis* leaves. Chemistry of Natural Compounds, 47(3), 492-493.

Lehmann, H., 2013. Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement, contrôles (Doctoral dissertation).

Li, Q., Niu, Y., Xing, P. et Wang, C. (2018). Polysaccharides bioactifs issus de ressources naturelles, y compris les herbes médicinales chinoises, sur la réparation des tissus. *Médecine chinoise*, 13 (1), 1-11.

Li, Q., Niu, Y., Xing, P., & Wang, C. (2018). Bioactive polysaccharides from natural resources including Chinese medicinal herbs on tissue repair. *Chinese medicine*, 13(1), 1-11.

Lin, K. Y., Daniel, J. R., & Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, 23(1), 13-18.

LIU Q., CAO X., ZHUANG X., HAN W., GUO W., XIONG J and ZHANG X., 2017bRice bran polysaccharides and oligosaccharides modified by *Grifolafrondosa* fermentation: Antioxidant activities and effects on the production of NO. *Food Chemistry*, vol. 223: 49–53.

Liu, Cui-Ping, Ji-Nian Fang, Xiao-Yu Li, and Xiao-Qiu Xiao. "Structural characterization and biological activities of SC4, an acidic polysaccharide from *Salvia chinensis*." *Acta Pharmacologica Sinica* 23, no. 2 (2002): 162-166.

Liu, Jun, Stefan Willför, and Chunlin Xu. "A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications." *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5, no. 1 (2015): 31-61.

Liu, Y et al. (2018): Underway spectrophotometry in the Fram Strait (European Arctic Ocean): a highly resolved chlorophyll a data source for complementing satellite ocean color. *Optics Express*, 26(14), A678-A696.

Lopresti, A. L. (2017). *Salvia* (sage): a review of its potential cognitive-enhancing and protective effects. *Drugs in R&D*, 17(1), 53-64.

Lu, Y., & Foo, L. Y. (2000). Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 55(3), 263-267.

Lu, Y., & Foo, L. Y. (2002). Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*, 59(2), 117-140.

Lu, Y., et Foo, LY (2001). Acide Salvianolique L, un puissant antioxydant phénolique de *Salvia officinalis*. *Tetrahedron Letters*, 42 (46), 8223-8225.

Ma. de la PazSalgado-Cruz, Georgina Calderón-Domínguez, Jorge Chanona-Pérez, Reynold R. Farrera-Rebollo, Juan V. Méndez-Méndez, and Mayra Díaz-Ramírez. "Chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage release characterisation. A microstructural and image analysis study." *Industrial Crops and Products* 51 (2013): 453-462.

MADI. A., Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, mémoire de magister, à l'Université Mentouri Constantine, 2010,116p.



Maqbool M., Vidyadaran S., George E., et Ramasamy R., 2011.- Optimisation of laboratory procedures for isolating human peripheral blood derived neutrophils. Med J Malaysia.

MERCK K., 2008.- May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène. Dispositivemedical de diagnostic in vitro. Allemagne.

MIAO Y. Z., LIN Q., CAO Y., HE G. H., QIAO D. R. and CAO Y., 2011. Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in frozen yogurt. Carbohydrate polymers, 86: 566-573.

Mohammed, A. H. Importance of Medicinal Plants Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmacy, UniversitiTeknologi MARA, KampusPuncakAlam, 42300 Bandar PuncakAlam, Selangor, Malaysia 2019.

MOINFAR F., SPIELER P. et RÖSSLE R.,2012.- Nongynecologic Cytopathology: A Practical Guide. Ed. Springer Science & Business Media, London: 177p.

Monsigny, M., Petit, C., & Roche, A. C. (1988). Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. Analyticalbiochemistry, 175(2), 525-530.

MOURADI A., CHIKHAOUI-KHAY M., AITAKKI S., AKALLAL R., HRRIMLE I., GIVERNAUD T., 2006.- Analyse structurale des fractions polysaccharidiques extraites de la paroi cellulaire d'*Hypneamusciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales). Afrique SCIENCE, Vol. 02 (2): 226-244.

Moussard C ; 2006. Biochimie structurale et métabolique 3 éd de Boeck : université paris :57-60.

NAOUN N., 2014.- Influence du peroxyde d'hydrogene sur la susceptibilitea la corrosion des aciers inoxydables en milieu salin. Thèse de Doctorat de l'Université Hadj Lakhdar-Batna, Algerie: 44p

Narayanan, N., et Thangavelu, L. (2015). *Salvia officinalis* en dentisterie. Hypotheses dentaire , 6 (1), 27.

NERGARD C S., DIALLO D., INNGJERDINGEN K., MICHAELSEN T E., MATSUMOTO ;T., KIYOHARA H., YAMADA H., et PAULSEN B S., 2005.- Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali Anti-ulcer, radical scavenging and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. Journal of Ethnopharmacology 96, vol: 255-269p.

Newall, Carol A., Linda A. Anderson, and J. David Phillipson. Herbal medicines. A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press, 1996.

NORUM M., BOGWALD J., et DALMO R. A., 2005.- Isolation and characterisation of spotted wolfish (*Anarhichas minor* Olafsen) macrophages, vol. 18: 381-391.

NOSE M., TERAWAKI K. et OGIHARA Y., 1997.- The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by "Shosaikoto". Phytomedicine, vol. 4 (1): 23-26.

- Osman, NN et Abd El – Azime, AS (2013). *Salvia officinalis L.* (Sage) améliore les lésions cérébrales oxydatives induites par les radiations chez le rat. *Arabe. J. Nucl. Sci. Appl* , 46 (1), 297-304.
- Pansu, M. (1992). Les sucres neutres dans les sols: opportunité et tentatives d'amélioration de leur détermination. Document IRD (ex-Orstom) Montpellier.
- Patterson C.A, Ph D, PA G; 2008. Polysaccharides (d'origine végétale) Pour la santé de l'intestin. Agriculture et Agroalimentaire, Canada.
- Paulsen, B. S., Olafsdottir, E. S., & Ingólfssdóttir, K. (2002). Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. *Journal of chromatography*, 967(1), 163-171.
- Pereda-Miranda, R., Hernández, L., & López, R. (1992). A novel antimicrobial abietane-type diterpene from *Salvia albocaerulea*. *Planta medica*, 58(02), 223-224.
- PONTE C. B., ALVES É. A. R., et SAMPAIO R. N. R., 2012.- Miltefosine enhances phagocytosis but decreases nitric oxide production by peritoneal macrophages of C57BL/6 mice. *International Immunopharmacology*, vol. 13: 114-119.
- POPOV S. V., POPOVA G. Y., OVODOVA R. G., BUSHNEVA O. A., et OVODOV Y. S., 1999.- Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 21: 617-624.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004): Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *salvia officinalis*. *Journal of chromatography A*, 1027:121-126.
- Ragsdale R L., et Grasso R. G., 1989.- An improved spectrofluorometric assay for quantitating yeast phagocytosis in cultures of murine peritoneal macrophages. *Journal of Immunological Methods*, vol. 123: 259-267.
- Rajalekshmy, G. P., Devi, L. L., Joseph, J., & Rekha, M. R. (2019). An overview on the potential biomedical applications of polysaccharides. In *Functional polysaccharides for biomedical applications* (pp. 33-94). Woodhead Publishing.
- Rechinger, K. H., & Hedge, I. C. (1982). *Flora Iranica*, Vol. 150. Graz: Akademische Druck und Verlagsanstalt.
- Ren, Yan, Yueping Bai, Zhidan Zhang, Wenlong Cai, and Antonio Del Rio Flores. "The preparation and structure analysis methods of natural polysaccharides of plants and fungi: A review of recent development." *Molecules* 24, no. 17 (2019): 3122.
- ROSSI G., CAPITANI L., CECILIANI F., RESTELLI L., PALTRINIERI S., 2013.- Hyposialylated  $\alpha$ 1-acid glycoprotein inhibits phagocytosis of feline neutrophils, *Research in Veterinary Science*, vol. 95:465-471.

ROUËSSE J., 2002.- Cancer du sein: étape pré-thérapeutique. Ed. John LibbeyEurotext, Paris: 42p.

Saeed Behradmanesh, Fatemeh Derees, and Mahmoud Rafieian-kopaei. "Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients." Journal of renal injury prevention 2, no. 2 (2013): 51.

Said, O., khalil, K., Fulder, S., Azaizels, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinalherbs in israil, the golenheight and the westbankregion ; Journal of ethnopharmacological, 83 :251-263.

SATO M., H SANO., et IWAKI D., 2003-Liaison directe du récepteur Tolllike 2 à zymosane, et zymosane induit l'activation de NF-kappa B et la sécrétion de TNF- alpha sont régulés à la baisse par poumon collectin tensioactif protéine A. J.Immunology, vol: 171.

Scully, R., (2008). Key to lamiaceae of colorado(MintFamily). Colorado, USAUniv Colorado Press.

SEBAHOUN G., 2005.- Hématologie clinique et biologique, 3éme Edition. Ed. Arnette, France: 527p.

SHARIFI-RAD, Mehdi, et al. *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. Trends in Food Science & Technology, 2018, 80: 242-263.

Sheng-lan. ZHAO1a., Li. LI2. and. Chaoyin. CHEN2b. 1.Structure-Activity. Relationship. of. Anti-HIV-1. of. Polysaccharides. from. *Salvia. Yunnanensis*. Yunnan College of Traditional Chinese Medicine , Kunming 650500, China. 2. Kunming ; 2013

Skoufogianni, E., Solomou, A. D., Giannoulis, K. D., Charvalas, G., &Danalatos, N. G. (2020). EFFECTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON HERBACEOUS PLANT DIVERSITY IN AN ORGANIC CULTIVATION OF SAGE (*SALVIA OFFICINALIS* L.) IN A TYPICAL MEDITERRANEAN CLIMATE. Poljoprivreda i Sumarstvo, 66(2), 7-17.

Stanojević, D., Čomić, L., Stefanović, O., et Solujić-Sukdolak, S. (2010). Activité antibactérienne synergique in vitro de *Salvia officinalis* L. et de certains conservateurs. Archives des sciences biologiques , 62 (1), 167-174.

STEVEN M M., LENNIE S E., STURROCK R D., et GEMMELL C G., 1984.- Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytesinrheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases, vol: 43 (3):435-439.

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.

Taleb. T. K. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat, 2015.

Tavanti A., Campa D., Bertozzi A., Pardini G., Naglik J. R., Barale R., et Senesi S., 2006.- *Candida albicans* isolates with different genomic backgrounds display a differential response to macrophage infection. *Microbes and Infection*, vol. 8:791-800.

Tohamy, A. A., Ibrahim, S. R., & Moneim, A. E. A. (2012). Studies on the effect of *Salvia aegyptiaca* and *Trigonella foenum graecum* extracts on adult male mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(5), 36.

Uritu, CM, Mihai, CT, Stanciu, GD, Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., ... et Tamba, BI (2018). Plantes médicinales de la famille des Lamiacées dans le traitement de la douleur: une revue. *Recherche et gestion de la douleur*, 2018 .

Vallejo, M. G., Moujir, L., Burillo, J., Guerra, L. L., Gonzalez, M., Penate, R. D., ... & de Galarreta, C. R. (2006). Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Salvia canariensis*. *Flavour and fragrance journal*, 21(1), 72-76.

van Dam, J. E., van den Broek, L. A., & Boeriu, C. G. (2017). Polysaccharides in human health care. *Natural Product Communications*, 12(6), 1934578X1701200604.

Walker, J B., Sytsma, K J., Treutlein, J., Wink, M. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*. 91(7): 1115-1125.

Wang, N., Yang, J., Lu, J., Qiao, Q., Wu, T., Du, X., ... & He, X. (2014). A polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza* Bunge improves immune function in gastric cancer rats. *Carbohydrate polymers*, 111, 47-55.

Wang, Q. et Fang, Y. (2004). Analyse des sucres dans les médicaments traditionnels chinois. *Journal of Chromatography B*, 812 (1-2), 309-324.

Warrand, Jérôme. "Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum Usitatissimum* L.)." PhD diss., Amiens, 2004.

WILDEMANN B. et OSCHMANN P., 2011.- *Laboratory Diagnosis in Neurology*. Ed. Thieme, USA.

WU G.H., HU T., HUANG Z.L., JIANG J.G., 2013.- Characterization of water and alkali-soluble polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium*sclerotia . *Carbohydrate Polymers*, vol. 96: 284–290.

Yang L, Zhang L.M ; 2009. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, vol. (76): 349–361

Yang, H., Wu, Y., Gan, C., Yue, T., and Yuan, Y., Characterization and antioxidant activity of a novel polysaccharide from *Pholidotachinensis* Lindl, *Carbohydrate Polymers* (2015)

Zemnukhova, L. A., Tomshich, S. V., Shkorina, E. D., & Klykov, A. G. (2004). Polysaccharides from buckwheat production wastes. *Russian journal of applied chemistry*, 77(7), 1178-1181.

Zheng, J., Zhou, Y., Zhang, P., Li, S., Gan, R. Y., & Li, H. B. (2015). *Salvia miltiorrhiza* Bunge: Bioactive Compounds and Bioactivities. *Int. J. Trad. Nat. Med*, 5(1), 52-81.

Zhu, Z. Y., Luo, Y., Dong, G. L., Ren, Y. Y., Chen, L. J., Guo, M. Z., ... & Zhang, Y. (2016). Effects of the ultra-high pressure on structure and  $\alpha$ -glucosidase inhibition of polysaccharide from *Astragalus*. *International journal of biological macromolecules*, 87, 570-576.

# *Annexes*

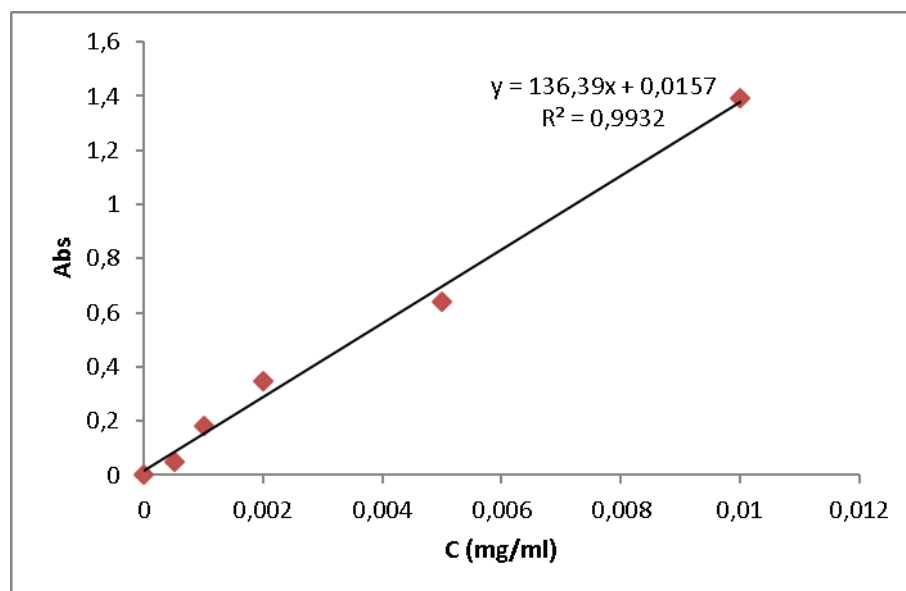
## Annexes

## 1- Dosage des oses totaux

Tableau (1).- Gamme étalon du glucose .

	Blanc	0,0005%	0,001 %	0,002 %	0,005 %	0,01 %	0,02 %
Eau distillée (µl)	200	195	190	180	150	100	0
Glucose (µl)	0	5	10	20	50	100	200

Courbe (1).- Courbe d'étalonnage d'oses totaux

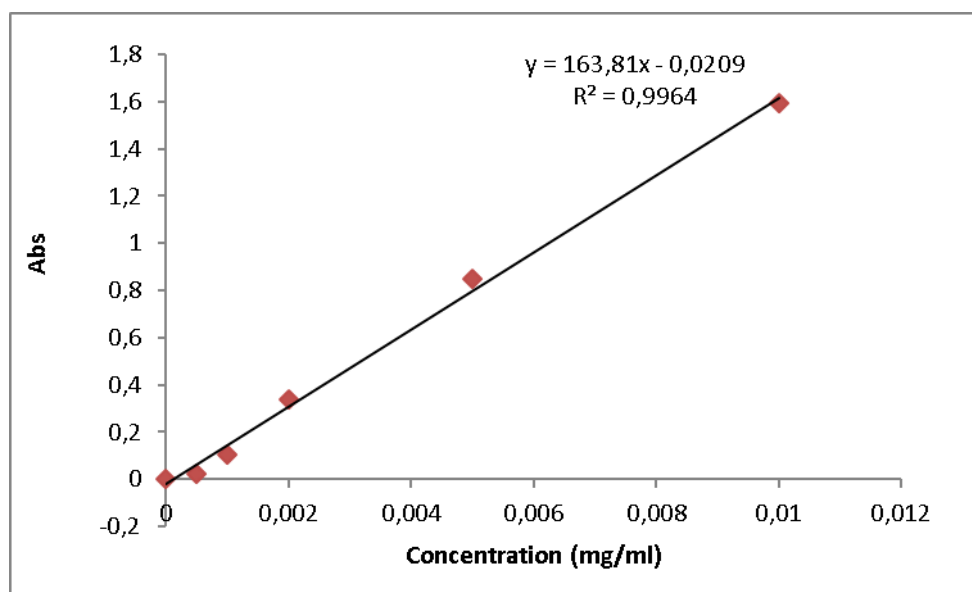


## 2- Dosage des oses neutres

Tableau (2).- Gamme étalon du glucose de

	Blanc	0.0005%	0.001 %	0.002 %	0.005 %	0.01 %	0.02 %
Eau distillée (µl)	200	195	190	180	150	100	0
Glucose (µl)	0	5	10	20	50	100	200

Courbe (2).-Courbe d'étalonnage d'oses neutres





## Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Salvia officinalis*.

### Résumé

L'étude porte sur les polysaccharides hydrosolubles issus des extraits d'une plante à caractère médicinal dont *Salvia officinalis*, récoltée dans la région de l'Oued N'tissa de Ghardaïa, située au Sahara septentrional Est algérien, sont obtenus par la macération des feuilles broyées de *Salvia officinalis* dans l'eau distillée puis lyophilisés, leur précipitation est faite par l'éthanol. Après un séchage à l'air libre le rendement massique d'extraction des polysaccharides hydrosolubles est de 2.16%. L'étude de la composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles a donné des valeurs suivantes : oses totaux 21,7%, oses neutres 37,49%. Les analyses chromatographiques en utilisant deux systèmes de CCM après hydrolyse par TFA à 2 M durant 4 heures à 100 °C révèlent que les polysaccharides sont constitués de glucose, mannose et l'acide glucuronique. La diversité structurale remarquable des polysaccharides, permet d'espérer un large spectre de propriétés biologiques. Dans le but d'étudier l'effet immuno-modulateur des extraits polysaccharidiques, la phagocytose de *Candida albicans*, levure pathogène opportuniste, par des leucocytes humaines opsonisées en présence des polysaccharides, est évaluée. L'étude a montré que l'extrait de polysaccharide a une activité phagocytaire appréciable de 19% pour une concentration de 150µg/ml de l'extrait de polysaccharidique de *Salvia officinalis*. Le contrôle positif montre une activité phagocytaire de 16,33 %. Les résultats de ce travail a confirmé l'effet immuno-modulatrice des polysaccharides en améliorant l'activité phagocytaire des leucocytes. Ce qui peut expliquer l'utilisation de *Salvia officinalis* dans la médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire.

Mots clés: polysaccharides hydrosolubles, *Salvia officinalis*, activité phagocytaire.

### Abstract

The study focuses on water-soluble polysaccharides derived from extracts of a plant with an including *Salvia officinalis*, harvested in the Oued N'tissa region of Ghardaïa, located in the in the Algerian Eastern Sahara, are obtained by maceration of crushed leaves of *Salvia officinalis* in distilled water and then freeze-dried, their precipitation is made by ethanol. After drying in the open air, the mass yield of extraction of the polysaccharides. The study of the composition of the raw extract of polysaccharides water soluble gave the following values: total oses 37.49%. %, neutral oses 21.7%. The chromatographic analyses using two TLC systems after hydrolysis by TFA at 2M for 4 hours at 100 °C reveal that the polysaccharides are made up of glucose, mannose and glucuronic acid. The remarkable structural diversity of the polysaccharides, allows us to expect a wide range of biological properties. In order to study the effect immuno-modulator of polysaccharide extracts, the phagocytosis of *Candida albicans*, opportunistic pathogenic yeast, by opsonized human leukocytes in the presence of the polysaccharides, is evaluated. The study showed that polysaccharide extract has an activity of phagocyte content of 19% for a concentration of 150µg/ml of the extract of polysaccharidia of *Salvia officinalis*. Positive control shows phagocytic activity. of 16.33%. The results of this work confirmed the immuno-modulatory effect of the polysaccharides by improving the phagocytic activity of the leucocytes, which may explain the use of *Salvia officinalis* in traditional medicine as an anti-inflammatory.

Keywords: water-soluble polysaccharides, *Salvia officinalis*, phagocytic activity.

### المخلص

، الذي تم حصاده في منطقة واد نتيسا (*Salvia officinalis*) تركز الدراسة على السكريات القابلة للذوبان في الماء المستمدة من مستخلص نبات المريمية في الماء المقطر ثم التجفيف (*Salvia officinalis*) بغرداية ، الواقعة في الصحراء الشرقية للجزائر ، ويتم الحصول عليها عن طريق نقع أوراق نبات بالتجميد ، يتم ترسيبهم بواسطة الإيثانول ، وبعد التجفيف في الهواء الطلق ، يتم الحصول على الناتج الكلي لاستخلاص السكريات ، وقد أعطت دراسة % ، سكريات معتدلة 21.7%. تكشف التحليلات 37.49 تركيبة المستخلص الخام لعدد السكريات القابل للذوبان في الماء القيم التالية إجمالي السكريات عند العيارية (2)، 4 ساعات عند 100 درجة مئوية أن السكريات تتكون من الجلوكوز والمانوز وحمض TFA الكروماتوغرافية بعد التحلل المائي بواسطة الجلوكورونيك. يسمح لنا التنوع الهيكلي للسكريات المتعددة بتوقع مجموعة واسعة من الخصائص البيولوجية. من أجل دراسة تأثير المغير المناعي لمستخلصات السكريات ، تم تقييم البلعمة من المبيضات البيضاء ، الخميرة الانتهازية المسببة للأمراض ، بواسطة كريات الدم البيضاء البشرية غير المؤمنة في وجود السكريات. أظهرت الدراسة أن مستخلص عديد السكريات له فعالية في محتوى البلعمة بنسبة 19% لتركيز 150 ميكروغرام / مل من مستخلص يظهر التحكم الإيجابي نشاط البلعمة. 16.33%. أكدت نتائج هذا العمل تأثير تعديل المناعة للسكريات من (*Salvia officinalis*) عديد السكريات من نبات في الطب التقليدي كمضاد للالتهابات. (*Salvia officinalis*) خلال تحسين نشاط البلعمة للكريات البيض ، مما قد يفسر استخدام

، نشاط البلعمة. (*Salvia officinalis*) الكلمات الرئيسية: السكريات القابلة للذوبان في الماء ،