

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 En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Présentée par : KHENFER Siham

MEDJOUEL Maroua

**Optimisation des conditions d'extraction des
composés phénoliques d'une plante médicinale de la
région sud du Sahara Algérien**

Soutenu publiquement

Le : 30/05/2016

Devant le jury :

Président	M ^{me} . BAYOUCEF Zahia	MCA	UKM Ouargla
Encadreur	M ^{elle} . HAMMOUDI Roukia	MCB	UKM Ouargla
Examinatrice	M ^{me} . ANNOU Ghania	MAA	UKM Ouargla

Année universitaire 2015 /2016

Liste des abréviations

Abs	Absorbance
ANOVA	Analyse de la variance
°C	Degré Celsius
C	Cycle d'extraction
cm	Centimètre
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle
EA	Extrait acétonique
EC ₅₀	Concentration effective
EE	Extrait éthanolique
EM	Extrait méthanolique
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GHz	Gigahertz
h	Heure
H ₂ O ₂	Eau oxygénée
IC ₅₀	Concentration d'inhibition à 50%
KHz	Kilohertz
M	Molaire
Ma	Extraction par macération de la partie aérienne
min	Minute
mg	Milligramme
EAG	Equivalent d'acide gallique
mm	Millimètre
nm	Nanomètre
Ms	Extraction par macération de la partie souterraine
PBS	Phosphate Buffered Saline
pH	Potentiel hydrogène
R (%)	Rendement
Sa	Extraction par soxhlet de la partie aérienne
Ss	Extraction par soxhlet de la partie souterraine
TF	Total flavonoïd
TPC	Total Phenolic Content
TPTZ	2, 4, 6-tri(2-pyridyl)-1, 2, 5-triazine
mmol	Millimol
mL	Millilitre
µL	Microlitre
UV-VIS	Ultra Violet-Visible
mg	Milligramme
S.	<i>Salvia</i>
EAA	Equivalent d'Acide Ascorbique
EQ	Equivalent Quercétine
ER	Equivalent de la rutine

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
I	Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre <i>Salvia</i> .	05
II	Effet du type de solvant sur la couleur et l'aspect des extraits phénoliques de <i>S. chudaei</i> .	27
III	Effet du type de solvant sur le TPC et le TF de <i>Salvia chudaei</i> .	29
IV	Effet de la concentration d'éthanol sur la couleur des extraits phénoliques de <i>S.chudaei</i> .	34
V	Effet de la concentration d'éthanol sur le TPC et le TF du <i>Salvia chudaei</i> .	36
VI	Effets du nombre de cycle d'extraction sur la couleur des extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> .	39
VII	Effet du nombre de cycle d'extraction sur le TPC et le TF des extraits phénoliques du <i>Salvia chudaei</i> .	40
VIII	Effets de la durée d'extraction sur la couleur des extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> .	43
IX	Effet du temps d'extraction sur le TPC et le TF du <i>Salvia chudaei</i> .	44
X	Effets de la température sur la couleur des extraits phénoliques de <i>S.chudaei</i> .	48
XI	Effet de températures d'extraction sur le TPC et le TF du <i>Salvia chudaei</i> .	49
XII	Contenus en phénols totaux et en flavonoïdes des meilleurs extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> .	52
XIII	Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test DPPH des extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> Batt. & Trab.	54
XIV	Concentrations des extraits provoquant 50% d'hémolyse.	55

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
01	<i>Salvia chudaei</i> Battandier & Trabut	06
02	Feuilles de <i>Salvia chudaei</i>	07
03	Fleurs de <i>Salvia chudaei</i>	07
04	Répartition de <i>Salvia chudaei</i> dans les montagnes sahariennes	07
05	Montage de l'appareil de soxhlet	16
06	Principe de la réduction du réactif de Folin Cioecalteu	19
07	Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante	21
08	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	22
09	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH)	23
10	Effet du type des solvants sur le rendement des composés phénoliques de <i>S. chudaei</i> .	27
11	Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par FRAP.	31
12	Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par DPPH.	31
13	Effet de la concentration d'éthanol sur le rendement des extraits phénoliques du <i>S. chudaei</i> .	35
14	Effet de la concentration d'éthanol sur l'activité antioxydante des extraits étudiée par FRAP.	37
15	Effet de la concentration d'éthanol sur l'activité antioxydante des extraits étudiée par DPPH.	37
16	Effet du nombre de cycle d'extraction sur le rendement des extraits phénoliques de <i>S.chudaei</i> .	40
17	Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.	41
18	Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.	41

19	Effet du temps d'extraction sur le rendement des composés phénoliques du <i>Salvia chudaei</i> .	43
20	Effet du temps d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.	46
21	Effet du temps d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.	46
22	Effet de la température sur le rendement des composés phénoliques du <i>Salvia chudaei</i> .	48
23	Effet de la température sur l'activité antioxydante par FRAP.	50
24	Effet de la température sur l'activité antioxydante par DPPH.	50

Liste des annexes

N° d'annexe	Titre	Page
01	Effet du type de solvant	73
02	Effet du pourcentage du solvant	75
03	Effet du nombre des cycles d'extraction	76
04	Effet de la durée d'extraction	77
05	Effet de la température d'extraction	78
06	matrice de corrélation	79

SOMMAIRE

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1. Famille des Lamiaceae	03
I.2. Genre <i>Salvia</i>	03
I.2.1. Présentation	03
I.2.2. Propriétés pharmacologiques des espèces de genre <i>Salvia</i>	03
I.2.2.1. Utilisation en médecine traditionnelle	03
I.2.2.2. Effets pharmacologiques	04
I.3. Espèce <i>Salvia chudaie</i> Battandier & Trabut	06
I.3.1. Position systématique	06
I.3.2. Répartition géographique	07
I.3.3. Utilisation traditionnelle	07
I.3.4. Travaux antérieurs sur la plante	08
I.4. Composés phénoliques	08
I.4.1. Flavonoïdes	09
I.5. Méthodes d'extraction des composés phénoliques	11
I.5.1.Extraction assistée par Ultrason	11
I.5.2.Extraction assistée par micro-ondes	12
I.5.3.Extraction par macération	13
I.5.4.Extraction au soxhlet	13

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Récolte du matériel végétal	15
II.1.1. Séchage de la plante	15
II.1.2.Broyage de matériel végétal	15
II.2. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de <i>Salvia chudaie</i>	15
II.2.1. Extraction des composés phénoliques de <i>Salvia chudaie</i> par Macération	16
II.2.2. Extraction des composés phénoliques de <i>Salvia chudaie</i> par Soxhlet	16
II.2.2.1. Effet du type de solvant sur le contenu phénolique de <i>Salvia chudaie</i>	17
II.2.2.2. Effet de la concentration de solvant sur le contenu phénolique de <i>S. chudaie</i>	17
II.2.2.3. Effets du cycle d'extraction sur le contenu phénolique de <i>Salvia chudaie</i>	17
II.2.2.4. Effet de la durée d'extraction sur le contenu phénolique de <i>Salvia chudaie</i>	17

II.2.2.4. Effet de la température d'extraction sur le contenu phénolique de <i>Salvia chudaei</i>	18
II.3. Etude quantitative	18
II.3.1. Calcul du rendement	18
II.3.2. Détermination de la concentration en composés phénoliques totaux (TPC, Total Phenolic Content)	18
II.2.3. Dosage des flavonoïdes	19
II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits	20
II.3.4.1. Mesure du pouvoir antioxydant par le test DPPH• (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle)	21
II.3.4.2. Test de FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	22
II.4. Activités biologiques des meilleurs extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i>	23
II.4.1. Activité antioxydante	23
II.4.1.1. Test DPPH•	24
II.4.2. Activité anti-hémolyse	24
II.5. Analyse statistique	25

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Résultat de l'optimisation d'extraction des composés phénoliques	26
III.1.1. Choix du solvant d'extraction	26
III.1.1.1. Effet du type des solvants sur l'extrait phénolique de <i>Salvia chudaei</i>	26
III.1.1.2. Effet du type des solvants sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de <i>Salvia chudaei</i>	29
III.1.1.3. Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)	31
III.1.2. Choix de concentration de solvant (éthanol)	34
III.1.2.1. Effet de la concentration d'éthanol sur l'extrait phénolique de <i>Salvia chudaei</i>	34
III.1.2.2. Effet de la concentration d'éthanol sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de <i>Salvia chudaei</i>	35
III.1.2.3. Effet de la concentration d'éthanol sur l'activité anti-antioxydante (FRAP et DPPH)	37
III.1.3. Choix du nombre de cycle d'extraction	39
III.1.3.1. Effet du nombre de cycle d'extraction sur les extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i>	39
III.1.3.2. Effet du nombre de cycle d'extraction sur le taux des polyphénols et des	40

flavonoïdes de <i>Salvia chudaei</i>	
III.1.3.3. Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)	41
III.1.4. Choix de la durée d'extraction	42
III.1.4.1. Effet de la durée d'extraction sur l'extrait phénolique de <i>Salvia chudaei</i>	42
III.1.4.2. Effet de la durée d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de <i>Salvia chudaei</i>	44
III.1.4.3. Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante (DPPH et FRAP)	45
III.1.5. Choix de la température d'extraction	48
III.1.5.1. Effet de la température d'extraction sur l'extrait phénolique de <i>Salvia chudaei</i>	48
III.1.5.2. Effet de la température d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de <i>Salvia chudaei</i>	49
III.1.5.3. Effet de la température sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)	50
III.2. Estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des meilleurs extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> .	52
III.3. Activités biologiques des meilleurs extraits de <i>Salvia chudaei</i>	53
III.3.1. Activité antioxydante	53
III.3.2. Activité anti-hémolyse	55
III.3. Corrélation entre les taux en phénols totaux, flavonoïdes, l'activité antioxydante et antihémolyse des meilleurs extraits phénoliques de <i>Salvia chudaei</i>	57

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (ISERIN, 2001 ;MACHIEX *et al.*, 2005). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90% de la médecine traditionnelle en Afrique (OMS, 2003). L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne spontanées à des utilisations thérapeutiques très intéressantes (HAMZAA *et al.*, 2010).

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (HIRASA et TAKEMASA, 1998).Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire citées dans la littérature (MIDDLETON *et al.*, 2000 ; KSOURI *et al.*, 2007; NIJVELDT *et al.*, 2001).

Selon des statistiques récentes, on estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle (MOREL, 2011) obtenus par héli-synthèse, à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique (VERPOORTE*et al.*, 2002).

Les extraits bruts, naturels de ces composés et l'isolement à partir des plantes utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être des ressources de nouveaux médicaments (KARMAKAR*et al.*,2011). Ainsi, les plantes peuvent être considérées comme des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées. Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent, entre autres, une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés...) (KARMAKAR*et al.*,2011).

L'objectif visé par notre étude, consiste en premier lieu à optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques (solvant, concentration de solvant, nombre de cycles d'extraction, temps et température d'extraction), à partir de la partie aérienne et souterraine de *Salviachudaei*Batt. &Trab., de la région de Tamanrasset par deux méthodes d'extractions qui

sont macération et soxhlet. En deuxième lieu, l'étude de l'activité antioxydante par DPPH et l'activité anti-hémolyse de ces meilleurs extraits obtenus est aussi entreprise.

Dans ce contexte nous avons réalisé un travail comprenant trois chapitres, le premier est une étude bibliographique qui comporte une description de la plante étudiée, des généralités sur les polyphénols et certaines méthodes d'extractions de ces composés. Le deuxième chapitre illustre la partie expérimentale qui se divise en deux axes : L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des parties aériennes et souterraines de la plante étudiée par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet), puis l'étude du pouvoir antioxydant et antihémolyse des meilleurs extraits phénoliques de *Salviachudaei*. Le troisième chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-1. Famille des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae (Labiatae) est composée de 236 genres et 7136 espèces. Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (PISTRICK, 2002 ; ALICE *et al.*, 2016 ; HAMMOUDI, 2015) et ceci par la particularité de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ; il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes. Le calice est synsépale. Le fruit est une drupe avec 1 à 4 noyaux. On note le caractère aromatique des plantes de cette famille (GUIGNARD, 2001).

Les plantes de cette famille sont surtout des plantes méditerranéennes (CARRUBBA *et al.*, 2006), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar (OZENDA, 1977).

I.2. Genre *Salvia*

I.2.1. Présentation

Le genre *Salvia* est un membre de la famille des Lamiaceae (BAHADORI *et al.*, 2015) et contient plus de 959 espèces réparties à l'échelle mondiale (ALICE *et al.*, 2016), et qui manifeste des variations morphologiques et génétiques selon leurs origines géographiques (MIRJALILI *et al.*, 2006). L'Algérie compte 23 espèces (HAMMOUDI, 2015).

I.2.2. Propriétés pharmacologiques des espèces de genre *Salvia*

I.2.2.1. Utilisation en médecine traditionnelle

Les plantes de ce genre sont célèbres pour ses utilisations traditionnelles dans le traitement de certains des maladies comme le rhume, bronchite, douleurs, infections et hémorragie (BAHADORI et MIRZAEI, 2015 ; LI *et al.*, 2013 ; BAHADORI *et al.*, 2015). Ces plantes sont utilisées pour traiter les infections microbiennes, les symptômes associés aux cancers la diarrhée, les maladies des yeux (ABDULHAMID, 2013 ; KAMATOU, 2008).

Ces espèces possédant des activités biologiques telles que l'activité antioxydante, antidiabétique, antibactérienne, anti-tumorale, antiplasmodique, antiseptique et anti-inflammatoires. En outre, les espèces peuvent être utilisées en tant qu'alternative de conservation des denrées alimentaires traditionnelles (ABDULHAMID, 2013 ; KAHRAMAN *et al.*, 2010). On peut citer quelque exemple de ces espèces :

Les racines de *Salviamiltiorrhiza* et de *S. grandifolia* sont utilisés pour traiter les maladies cardiovasculaires (KANG *et al.*, 2015 ; QIU JUN *et al.*, 2013 ; YUANYUAN *et al.*,2015).

Salviaofficinalis : Elle peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer. Cette espèce présente plusieurs autres activités biologiques dont une activité tranquillisante, antiseptique et astringente. Régularise le cycle menstruel, la transpiration, les bouffées de chaleur et modifications hormonales. Les feuilles séchées à fumer contre l'asthme, morsures, piqûres, diarrhées, sueurs nocturnes, Aphtes et angines (ISERIN, 2001). Une décoction de racines est utilisée en cas de maladies cardiaques et lors de la ménopause (SALHI *et al.*,2010).

Salviaspinosa : Cette sauge est utilisée pour le traitement de la diarrhée, les troubles urinaires et pour les pieux et douleurs de l'estomac (BAHADORI *et al.*, 2015).

Salviafruticosaa des effets sur divers maladies de la peau, du sang, et les maladies infectieuses, ainsi que des maladies de l'appareil digestif, circulatoire, respiratoire, et des systèmes de l'ostéomusculaires. Elle est également utilisée comme une herbe hypoglycémique et contre les inflammations, l'hépatite et la tuberculose (ABDULHAMID, 2013).

I.2.2.2. Effets pharmacologiques

En corrélation avec ces différents usages traditionnels, diverses études ont été menées afin de confirmer les différents effets des composés phénoliques de quelques espèces de genre *Salvia*. Par exemple, les composés phénoliques de *S. miltiorrhiza* ont des activités antioxydantes, anti-ischémie, anti-thrombose, anti-hypertension, anti-fibrose, antivirale et autres (WANYANG, 2016).

Plusieurs espèces de *Salvia* ont une importance économique en raison de leurs utilisations dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (EBRAHIMI *et al.*, 2013 ; BAHADORI *et al.*, 2015).

Le tableau I illustre une liste des activités pharmacologiques, en précisant les molécules présentes dans ces plantes qui ont été testées.

Tableau I- Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre *Salvia*.

Espèces	Composés phénoliques	Activités biologiques	Références
<i>Salvia officinalis</i> L.	acide gallique, acide caféique, acide rosmarinique, acides phénoliques.	Antioxydante	(APAK <i>et al.</i> , 2007; YINRONG et YEAP, 2001)
<i>S. africana – caerulea</i>	acide caféique acide rosmarinique acide carnosique	Antioxydante (ABTS, DPPH) Anti-inflammatoire	(KAMATOU <i>et al.</i> , 2010)
<i>S. africana-lutea</i>	acide rosmarinique acide carnosique		
<i>S. albicaulis</i>	acide caféique acide rosmarinique Carnosole		
<i>S. virgata</i> , <i>S. nemorosa</i> , <i>S. officinalis</i> , <i>S. sclarea</i> , <i>S. persica</i> , <i>S. reuterana</i> <i>S. cereal</i>	Composés phénoliques	Antioxydante	(JESHVAGHANI <i>et al.</i> , 2015)
<i>S. bulleyana</i> , <i>S. campanulata</i> <i>S. castanea</i>	acide caféique, acide rosmarinique, acide salvianolique	Antioxydante	(LI <i>et al.</i> , 2008)

I.3. Espèce : *Salviachudaie*Battandier&Trabut

Nom Tamahaq : Awhihat.

Nom vernaculaire (Français) : Sauge sauvage.

Nom arabe : Tagroufte (HAMMICHE et MAIZA, 2006).

La plante *Salviachudaie* est un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté. Elle a environ de 30 à 40 cm de haut et possède des tiges striés très feuilles. Les feuilles sont étroites et allongées, denticulées, au bord crénelé et crispé. A l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis courts au sommet de rameaux très nombreux portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs d'un bleu pâle. La plante entière dégage une forte odeur agréable, un peu camphrée (SAHKI et SAHKI, 2004 ; BENCHELAH *et al.*, 2011 ; OZENDA, 1977).

I.3.1. Position systématique (QUEZEL et SANTA, 1963)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèces	<i>Salviachudaie</i> Battandier&Trabut



Figure 01.-*Salvia chudaiei*Battandier&Trabut[1].



Figure 02.-Feuilles de *Salviachudaei*[1].**Figure 03.-** Fleurs de *Salviachudaei*[1].

I.3.2.Répartition géographique

Espèce caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes, ces aires de répartition sont le Hoggar, Tassili, Tibesti, assez commune dans le secteur du Sahara central et dans les Oueds rocailleux (JEAN-PIERRE, 2001 ; QUEZEL et SANTA, 1963) ou dans d'autres région à sables grossiers. On la rencontre par petites colonies aussi bien en altitude, à Dider ou dans les oueds de l'ouest, qu'au pied du plateau (SAHKI et SAHKI, 2004 ; BENCHELAH *et al.*, 2011).

Cette répartition est indiquée sur la carte suivante :

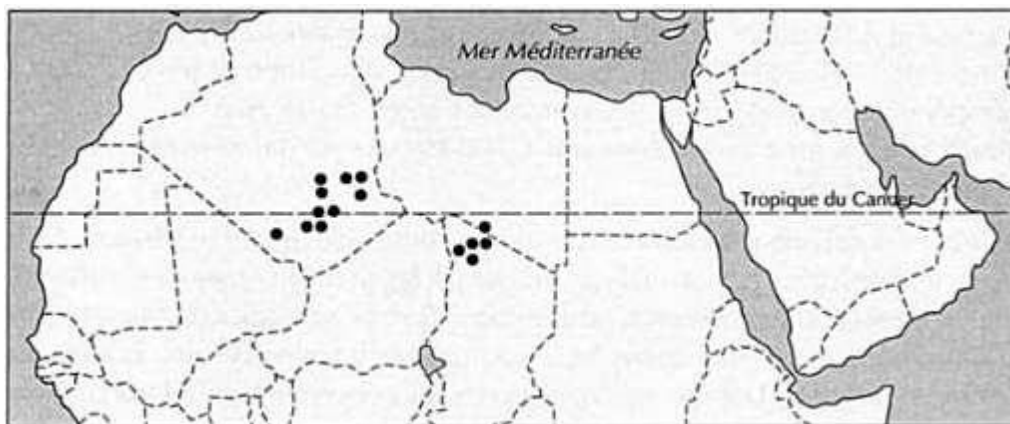


Figure 04.-Répartition de *Salviachudaei* dans les montagnes sahariennes (JEAN-PIERRE, 2001).

I.3.3. Utilisation traditionnelle

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicaux et culinaires multiples. *Salviachudaei* est utilisée pour les douleurs abdominales, les spasmes et les règles douloureuses, dysménorrhée (MAIZA *et al.*, 1993 ; HAMMICHE et MAIZA, 2006), contre les maladies vénériennes, les rhumatismes. Elle a une utilisation pour soulager les maux d'estomac et également utilisée dans l'alimentation (les sauces, les condiments, les

épices, les arômes et aussi pour parfumer le thé des Touaregs et aux plats) et dans l'agrichorticulture (fourrage) (BURKILL, 1985 ; OZENDA, 1977; SAHKI et SAHKI, 2004; BENCHELAH *et al.*, 2011 ; HAMMOUDI, 2015).

I.3.4. Travaux antérieurs sur la plante

D'après la littérature consultée, il ya deux études sur les composés phénoliques de *Salviachudaei* dans l'Algérie, le premier travail sur l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes, la première est assistée par ultrasons avec une optimisation des conditions d'extraction (solvant, % de solvant, temps, température), et la seconde a été réalisée par macération dans des solvants de polarité croissante. Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur, son rendement par rapport à la drogue sèche, son contenu phénolique total et flavonoïde total. Les résultats ont montré que les conditions optimales se sont avérées être l'éthanol comme solvant, une durée de 40 min et une température de 15 °C. Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par quatre méthodes différentes : le test de DPPH, le FRAP, l'ABTS et le test de Phosphomolybdate. Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré un effet antimicrobien remarquable sur les différentes souches microbiennes testées : *Staphylococcus aureus* ATCC 27923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Proteus mirabilis* ATCC 39452, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Candida albicans*. (HAMMOUDI, 2015). Un deuxième travail sur les activités antioxydante (par le test de DPPH et le test d'acide β -carotène-linoléique), antimicrobienne (contre 9 bactéries et une levure) et aussi l'activité cytotoxique de l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes de *Salviachudaei* (KRIMAT *et al.*, 2015)

I.4. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002). Ils sont très inégalement répartis chez les différentes espèces végétales et pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique. Cependant, ils sont trouvés dans tous les niveaux et les organes de la plante (fruits, feuilles, tiges, racines,...) (MACHIEX *et al.*, 2005), ceci montrait est montré leur rôle dans différents aspects de la vie de la plante (la physiologie, critères de la qualité, interactions des plantes avec leur environnement,...) (PETTI et SCULLY, 2009).

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ces composés se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et par les liaisons possibles avec d'autres molécules (MACHIEX *et al.*, 2005). Ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec d'autres fonctions (éther, ester, hétéroside), avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002 ; STOCLET *et al.*, 2004 ; FERGUSON, 2001).

Ces différenciations structurales contribuent à l'extension de leurs spectres d'activité dans les différents domaines fondamentaux et appliqués liées aux plantes ou aux activités humaines à des fins diététiques et thérapeutiques mais aussi à l'échelle du laboratoire de recherche puis la production industrielle (PETTI et SCULLY, 2009).

De nombreuses études ont montré que les composés phénoliques réduisent le développement de cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies et capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL, d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et plusieurs classes d'enzyme incluant les hydrolases, oxydoréductase, les ADN synthéses, les ARN polymérases, la lipoxigénase, la glutathion-S-transférase à cause de leur capacité de lier et précipiter les protéines (GONÇALVES *et al.*, 2011; FERGUSON, 2001 ; HE *et al.*, 2007; BANERJEE, 2006), aussi ces composés capables d'empêcher l'agrégation plaquettaire, de stabiliser les cellules immunitaires et de promouvoir le relâchement des cellules musculaires lisses vasculaires (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

Les études cliniques réalisées chez l'homme révèlent un intérêt thérapeutique évident des composés phénoliques, telles que des antioxydants, des anti-agrégats plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux, (FERGUSON, 2001). Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler l'activité de

nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylatecyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases, le cytochrome P450) (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

I.4.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représente une très large gamme de composés phénoliques, plus de 5000 composés ont été décrits (FERGUSON, 2001). Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux (ONO *et al.*, 2006).

La contribution des flavonoïdes au régime alimentaire humaine sous forme fruits, légumes et boissons est très importante; également ils ont utilisés en médecine traditionnelle à base des plantes riche en flavonoïdes. Cette importance liée par leur structure chimique à caractère antioxydante. L'activité Antioxydante est la propriété fondamentale des flavonoïdes et la plus marquer, qu'elle s'agit à plusieurs niveaux (GHEDIRA, 2005):

- inhibition d'enzyme (comme la xanthine oxydase);
- chélation des éléments traces impliqués dans la formation de radicaux;
- piégeage de radicaux libres très oxydés comme les super oxydes, les radicaux peroxydes ou les radicaux hydroxyles à cause leur faible potentiel redox;

Egalement, la dernière situation comme anti radicalaire impliqué les flavonoïdes dans l'état de prévention des dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur les molécules cellulaires; par exemple l'empêchement d'altération de l'ADN par les ERO est contribué à la limite les mutations et les processus de carcinogenèses, de ce fait est semblable dans la prévention de cancers, athérosclérose, hypertension, les maladies cardiovasculaires et tous les maladies qui dégénéré par les ERO.

Outre leur pouvoir antioxydante, les flavonoïdes sont utilisés pour tout un éventail d'activités pharmacologiques pour leurs propriétés anti-hépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires (DESOUZA *et al.*, 2007 ; TIEPPO *et al.*, 2007 ; APOSTOLIDIS *et al.*, 2007 ; CARVALHO *et al.*, 2006).

En plus, des propriétés antibactériennes et antivirales vis-à-vis de différentes souches microbiennes (NOWAKOWSKA, 2007). Aussi, ils sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes en tant qu'agents antiulcéreux, anti diarrhéiques (USTÜN *et al.*, 2006; SANNOMIYA *et al.*, 2005).

En raison de leur abondance dans les plantes consommées par l'homme et de leurs bénéfices potentiels pour la santé humaine, les flavonoïdes sont l'objet de nombreux articles et études intéressantes par l'importance des effets des flavonoïdes *in vitro* sur différents modèles biologiques, en particulier enzymatiques. La réussite de ces preuves ne complète que par une application *in vivo*; ce qui est difficile pour la plus part des résultats à cause de la faible biodisponibilité des flavonoïdes chez l'homme (PETTI et SCULLY, 2009 ; BENSANIA, 2011).

En générale, les polyphénols végétaux et notamment les flavonoïdes ont prouvé leurs effets bénéfiques auprès de nombreuses affections, ainsi ils sont considérés en thérapeutique comme des agents préventifs de plusieurs maladies parmi lesquels celles associées au stress oxydant, tel que le cancer et les maladies cardio-vasculaires (NICKAVAR *et al.*, 2008 ; MEDART, 2009 ; PINCEMAIL et DEFRAIGNE, 2004) et qui ont fait l'objet de nombreuses recherches comme antioxydants naturels très puissants pouvant remplacer des antioxydants synthétiques (APOSTOLIDIS *et al.*, 2007 ; MA *et al.*, 2009 ; MEDART, 2009 ; PINCEMAIL et DEFRAIGNE, 2004 ; SHAHIN *et al.*, 2008 ; XIUZHEN *et al.*, 2007). Aussi s'ajoutent à leurs propriétés biologiques leurs capacités d'inhiber l'activité d'un bon nombre d'enzymes digestives comme l' α -amylase, l' α -glucosidase, la pepsine, la trypsine et les lipases notamment par les flavonoïdes et leurs dérivés sucrés (ANDRADE-CETTO *et al.*, 2007 ; APOSTOLIDIS *et al.*, 2007 ; CHETHAN *et al.*, 2008 ; KALIDAS et MCCUE, 2004).

I.5. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

La complexité de la structure et la variabilité (avec les saisons, les récoltes, . . .) de la matière végétale ainsi que la large variété des composés à extraire (différents poids moléculaires, polarité, lien avec la structure, . . .) ont conduit à l'apparition d'une grande variété de technologies d'extraction. On peut citer quelques unes :

I.5.1.Extraction assistée par Ultrason

C'est une technique fréquemment utilisée pour l'extraction des composés bioactifs à partir des matières végétales. (JINCHAO et XUEGUANG, 2005 ; YA-QIN *et al.*, 2008; CHUNG *et al.*, 2010 ; ARCEUSZ *et al.*, 2013).

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute

pression) et de raréfaction (basse pression). Cette différence de pression va générer des mouvements moléculaires au sein du milieu. Lors d'un cycle de raréfaction la distance entre les molécules est augmentée et au-dessus d'une certaine distance dépendant de chaque milieu, des bulles de cavitations vont se former. Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression. La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie. Lorsque les bulles de cavitation sont formées à proximité d'une surface solide elles deviennent asymétriques, et l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide projetés à très grande vitesse vers la surface du solide, ainsi qu'une augmentation locale de la température et de la pression. Dans le cas d'une matrice végétale, ces jets de liquides vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide (YA-QIN, *et al.*, 2008; CHUNG *et al.*, 2010; MICHEL, 2011).

C'est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction, et simple à mettre en place. Permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément (ACHAT, 2013).

La réduction de la température de fonctionnement permettant l'extraction des composés thermolabiles, possibilité d'utilisation de n'importe quel type du solvant ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de composés naturels (WANG *et al.*, 2006 ; MICHEL, 2011).

I.5.2.Extraction assistée par micro-ondes

Les micro-ondes peuvent pénétrer les matières biologiques et agir sur les molécules polaires telles que l'eau pour leur communiquer un mouvement de fluctuation ce qui se traduit donc par une augmentation de la température de la matière en question à la profondeur de pénétration.

L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des microondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (KAUFMANN, CHRISTEN *et al.*, 2001; BESOMBES, 2008 ; MICHEL, 2011; FLORENT, 2011).

Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide.

La température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction des antioxydants. Cette technique est d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait (PENICHEV, 2010).

I.5.3.Extraction par macération

C'est une méthode traditionnelle, a été couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction...etc (SPIGNO et DEFAVERI, 2007 ; BUDIC-LETOC *et al.*, 2005).

La macération est relativement peu coûteuse et aussi la plus simple, elle est utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles et se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules bioactifs qui sont sensibles aux changements de température. En outre, une matrice peut subir plusieurs extractions successives en utilisant des solvants de plus en plus polaires afin d'obtenir des mélanges enrichis en molécules d'intérêt (AL-BANDAK et OREOPOULOU, 2007; ESCRIBANO-BAILON et SANTOS-BUELGA, 2003).

Cette technique a été optimisée, notamment, pour l'analyse des composés non volatils (poly phénols, sucres) avec l'utilisation d'une quantité considérable de solvant (MACLEOD et TROCONIS, 1982 ; KOK *et al.*, 1987).

Pour être efficace, une macération a des temps d'extraction très longs (environ 4 à 10 jours), ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est l'eau (MACLEOD et TROCONIS, 1982 ; KOK *et al.*, 1987 ; NICOLAS, 2012).

I.5.4. Extraction au soxhlet

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des solides (matière végétale) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps en verre de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose (matière pénétrable pour le solvant) remplie de matière végétale. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant (QUAN *et al.*, 2004 ; SARKER *et al.*, 2006 ; HERZI, 2013).

Le ballon contenant le solvant d'extraction est chauffé, et le solvant ainsi vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec la matière végétale. Le solvant collecté dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et la matière végétale est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé (PIBIRI, 2005; POIROT, 2007 ; PENCHEV, 2010 ; LUQUEDECASTRO et PRIEGO-CAPOTE, 2010 ; BIMAKR *et al.*, 2011 ; NICOLAS, 2012).

Cette méthode ne nécessite pas la filtration après extraction. Il est simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec un solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (ALLAF K, 2008 ; PENCHEV, 2010 ; NICOLAS, 2012).

Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, donc il y a risque de destruction de certains composés thermolabiles avec une consommation d'une grande quantité de solvant. Cette technique est limitée d'un point de vue du choix du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants (PENCHEV, 2010).

Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction (ESCRI-BANOBAILON et SANTOS-BUELGA, 2003).

En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature des composés (par exemple, classes des molécules phénoliques spécifiques telles que des flavonoïdes, acides phénoliques, etc.), de la nature de l'échantillon (graines, feuilles, ramilles) et de son état physique. Indépendamment de la technique choisie, l'optimisation des conditions d'extraction peuvent être changer selon la préparation de l'échantillon (ANTOLOVICH *et al.*, 2000).

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes et souterraines de *Salvia chudaei* récoltée en octobre 2015 dans la région de Tamanrasset.

II.1.1. Séchage de la plante

Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante et stockés soigneusement dans un endroit sec en vue de leur analyse (CATIER et ROUX, 2007; HAMMOUDI *et al.*, 2009).

II.1.2. Broyage de matériel végétal

Le broyage à été réalisé dans un broyeur à marteau et à couteau (type : MFC) de diamètre des pores 0,5 mm, puis la poudre de chaque partie à été conservé soigneusement dans un endroit sec à fin de garder leur couleur, gout et principalement leur effet thérapeutique en vue de leurs extractions.

Les poussières qui existent dans la partie sous-terrainne sont éliminées à l'aide d'un tamis de diamètre 0,05mm. Les poudres finales de la plante sont soumises à différentes conditions d'extraction.

II.2. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei*

Cette étape consiste à déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans les parties aériennes et souterraines de *Salvia chudaei* par l'utilisation de deux méthodes d'extraction qui sont la macération et au soxhlet.

Des séries d'extractions ont été réalisées pour déterminer le type de solvant, la concentration (%), le nombre de cycle, la durée (min) et la température (°C) d'extraction appropriée sur le contenu phénolique total (TPC, Total Phenolic Content), TF (Total Flavonoid) et sur le pouvoir antioxydant.

II.2.1. Extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei* par macération

Cette étape consiste à laisser une quantité de chaque poudre précédemment obtenue en contact avec un volume de solvant d'extraction.

II.2.2. Extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei* par soxhlet

Nous mettons une quantité de chaque poudre précédemment obtenue dans une cartouche de cellulose et le solvant dans un récipient spécifique, après l'ébullition du solvant nous émergeons la cartouche dans le solvant. Les vapeurs de ce dernier montent par le tube et sont condensées dans le réfrigérant et retombent sur le produit solide, alors un flux descendant du solvant, passe à travers la poudre et est toujours neuf puisqu'il est distillé à chaque cycle.

A la fin de l'extraction nous déplaçons la cartouche à la position " washing " pour la récupération de la solution, ensuite laisse le solvant utilisé s'évaporer sous hot. L'extrait ainsi obtenu est prêt à l'emploi.



Figure 05.-Montage de l'appareil de soxhlet.

II.2.2.1. Effet du type de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de *S. chudaei*

Les polyphénols sont extraits dans différents solvants organiques (acétone, éthanol et méthanol) (ESCRIBANO BAILON et SANTOS-BUELGA, 2003; NACZK et SHAHIDI, 2004; MAKHLOUF *et al.*, 2013; VANESSA *et al.*, 2014; SHUANGQIN *et al.*, 2015; DUONG *et al.*, 2015), par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet).

L'extraction a été faite pendant 30 min, à température ambiante et répétée trois fois pour chaque solvant (CUJIC *et al.*, 2016). Après filtration les extraits organiques subissent une évaporation à l'air libre. Les extraits sont pesés pour calculer le rendement. Le meilleur type de solvant a été choisi en fonction de la capacité antioxydante la plus élevée.

II.2.2.2. Effet du pourcentage de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de *S. chudaei*

En utilisant le meilleur type de solvant choisi, le pourcentage de solvant a été étudiée en utilisant des mélanges éthanol/eau à: 20%, 40%, 60%, 80% et 100% (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; KIM *et al.*, 2007 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007; TELLI *et al.*, 2010). La meilleure concentration de solvant a été choisie en fonction de la valeur la plus élevée de l'activité antioxydante.

II.2.2.3. Effets du nombre des cycles d'extraction sur l'extraction des composés phénoliques de *S. chudaei*

Cet effet a été étudié en utilisant un, deux et trois cycles d'extraction (DUONG *et al.*, 2015; MICHEL, 2012). Le nombre de cycle efficace est choisi selon l'activité antioxydante.

II.2.2.4. Effet de la durée d'extraction sur l'extraction des composés phénoliques de *S. chudaei*

L'impact de la durée d'extraction sur le contenu phénolique a été changé de 20, 30, 40, 60, 80 et 100 min (MEHMET *et al.*, 2015 ; SHUANGQIN *et al.*, 2015). L'extraction a été accomplie en appliquant la meilleure fraction de solvant, sous la température ambiante. Les procédures d'extraction ont été répétées comme décrit précédemment. Le meilleur temps d'extraction a été choisi en fonction de la valeur la plus élevée de l'activité antioxydante.

II.2.2.4. Effet de la température d'extraction sur l'extraction des composés phénoliques de *S. chudaei*

L'extraction par la macération a été exécutée en employant le meilleur solvant, concentration, cycle d'extraction et temps d'extraction, sous les diverses températures, qui étaient 15, 25, 30, 45 et 60°C (YAP *et al.*, 2009 ; HISMATH *et al.*, 2011; BANDAR *et al.*,

2013). La meilleure température d'extraction était choisie en fonction de valeur la plus élevée de l'activité antioxydante.

II.3. Etude quantitative

Les extraits obtenus ont été soumis à une série de dosages spectrophotométriques afin de quantifier leur taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et l'évaluation de l'activité antioxydante.

II.3.1. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par FALLEH *et al.*, (2008):

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

Où :

R : le rendement en (%);

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

$M_{\text{éch}}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

II.3.2. Détermination de la concentration en composés phénoliques totaux (TPC, Total Phenolic Content)

La concentration en phénols totaux des extraits des différentes parties de la plante étudiée a été déterminée par la méthode de SINGLETON et ROSS, (1965), utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), qui absorbent fortement à une longueur d'onde de 765 nm.

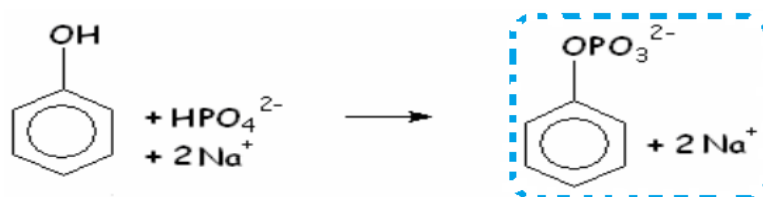


Figure 06.- Principe de la réduction du réactif de Folin Ciocalteu (SINGLETONetROSSI, 1965).

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir d'une solution mère préparée de l'acide gallique de concentration massique 10 mmol/L, des solutions filles sont préparées avec des concentrations allant de 0,2 mmol/L à 2,4 mmol/L dissous dans le méthanol. 300 µL de chaque solution ont été introduit dans des tubes à essai. Puis sont ajoutés 1500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu à (10%). Après 2 minutes, nous ajoutons 1200 µL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% (m/v) (favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS contre un blanc (même solution sans la solution d'acide gallique).

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure. Toutes les mesures sont répétées 3 fois. Le contenu phénolique total (TPC) est exprimé par mg EAG/mg d'extrait.

II.2.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (BAHORUM *et al.*, 1996). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 415 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la rutine.

A partir de la solution mère de la rutine préparée dans le méthanol à une concentration de 1 mmol/L, des solutions filles de concentrations allant de 0.01 à 0.05 mmol/L sont préparées. 1 mL de chaque solution fille de la rutine, est ajouté à 1 mL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 20% (m/v) dans l'eau distillé. Après incubation à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante, le dosage s'effectue par spectrophotométrie UV/Visible à 415 nm.

Pour les extraits phénoliques, les mesures ont été réalisées par la même procédure. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. La concentration de flavonoïde (TF) est exprimée par mg ER/mg d'extrait.

II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

Les antioxydants sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à faible concentration par rapport au substrat oxydable, retardent ou stoppent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre redox cellulaire (ARUOMA, 1996 ; HAMMOUDI, 2015).

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour déterminer cette activité qui impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydantes capables d'inhiber la génération de radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs (ORDOUDI, 2006; PRIOR et SCHAICH, 2005): soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron. Les méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène mesurent la capacité globale d'un antioxydant à réprimer les radicaux libres par donation d'un atome d'hydrogène, alors que les méthodes basées sur le transfert d'électron mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron qui réduira n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux. Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physicochimiques des molécules, le type de test employé ou l'état d'oxydation des substrats, il est recommandé d'utiliser au moins deux tests pour confirmer une activité antioxydante.

D'après une étude récente (ALAM *et al.*, 2013), 19 méthodes sont utilisées actuellement pour l'estimation *in vitro* du pouvoir antioxydant d'un échantillon et la méthode au DPPH• représente le test le plus souvent adopté (figure 07). Il est important de sélectionner et d'employer des méthodes fiables et rapides dans le but d'évaluer cette activité.

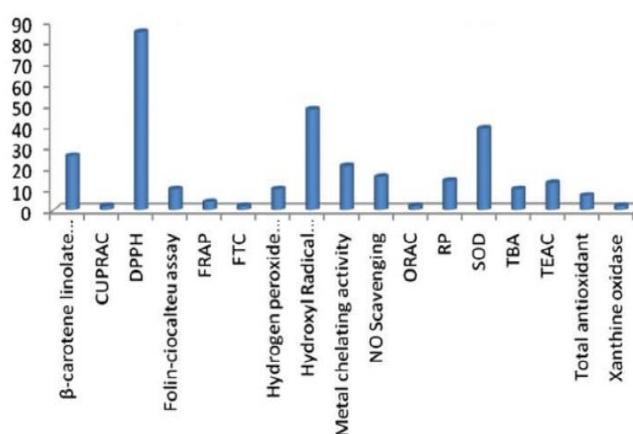


Figure 07.-Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante (ALAM *et al.*, 2013).

Dans notre étude la capacité antioxydante de chaque extrait à concentration (1 mg/mL) a été déterminée *in vitro* par deux tests chimiques : la méthode utilisant le radical 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH•) et la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).

II.3.4.1. Mesure du pouvoir antioxydant par le test DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

Cette méthode a été mise en place par MARSDEN BLOIS en 1958 puis par un travail à l'Université de Stanford (MOLYNEUX, 2004) et ensuite elle a été proposée par BRAND-WILLIAMS *et al.*, (1995).

La méthode du DPPH• (diphénylpicryl-hydrayl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H (diphényl picryl-hydrazine). La réduction du DPPH• en DPPH-H induit un changement de sa couleur violette en jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (figure 08). Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (MANSOURI *et al.*, 2005).

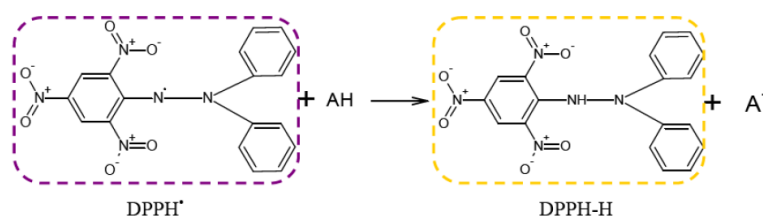


Figure 08.-Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (MICHEL, 2011).

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti radicalaires des extraits végétaux (YI *et al.*, 2008).

Un volume de 100 μL d'extrait est ajouté à 3 mL de la solution du DPPH (5,9mg/250mL d'éthanol) préparée fraîchement dans le méthanol. Laisser 30 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre le blanc. L'activité anti radicalaire des extraits a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation (ASADI *et al.*, 2010):

$$\% \text{ Inhibition} = ((\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Où: -% inhibition: pourcentage d'inhibition;

-Abs_{contrôle} : absorbance du contrôle;

-Abs_{échantillon}: absorbance de l'échantillon;

L'antioxydant utilisé comme référence dans cette méthode est l'acide ascorbique (vitamine C) (MOLYNEUX, 2004).

II.3.4.2. Test de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

La méthode de FRAP développée par BENZIE et STRAIN (1996), correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] de couleur bleu, par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer, ce qui permet de la quantifier par spectrophotométrie (figure 09).

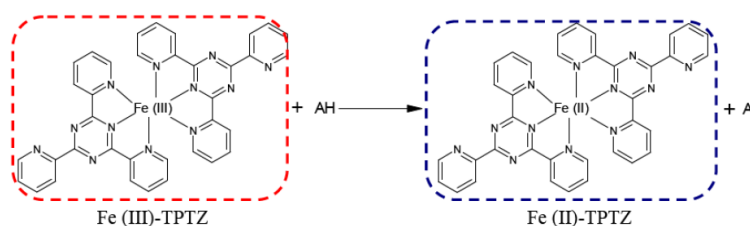


Figure 09.-Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH) (MICHEL, 2011).

On prépare le réactif de FRAP par les mélanges suivants : 25 mL de Tampon acétate (PH 3.6), 2.5 mL de TPTZ (10 mmol) et 2.5 mL de chlorure de fer (FeCl₃- 3H₂O) à 20 mmol/L (MICHEL, 2011).

150 μL d'extrait précédant et 2850 μL de la solution du FRAP sont ajoutés aux tubes à essai. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est réalisée après 30 min à 593 nm contre le blanc. L'activité antioxydante de l'extrait est mesurée à partir de la variation de l'absorbance du complexe (BOUGANDOURA et BENDIMERAD, 2013).

La courbe d'étalonnage d'acide ascorbique à partir différentes concentrations (10-100 $\mu\text{mol/L}$) est utilisée pour calculer le potentiel d'antioxydant.

II.4. Activités biologiques des meilleurs extraits phénoliques de *Salvia chudaei*

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antioxydante et anti-hémolyse des meilleurs extraits pour les deux parties de la plante *Salvia chudaei* par les deux méthodes d'extraction.

II.4.1. Activité antioxydante

Le but de cette activité est pour déterminer la concentration effective EC_{50} des meilleurs extraits phénoliques.

L'efficacité antioxydante des extraits est déterminée par le calcul du paramètre EC_{50} qui représente la concentration inhibitrice nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres dans le milieu réactionnel.

Le paramètre EC_{50} a été présenté récemment pour l'interprétation des résultats. Ce paramètre a été présenté par BRAND-WILLIAMS *et al.*, (1995).

II.4.1.1. Test DPPH'

Pour réaliser le test DPPH', dans un tube à essai 100 μL de chaque concentration d'extrait phénolique dilué dans le méthanol a été additionné à 3mL d'une solution de DPPH' (5×10^{-5} M) préparé dans le méthanol. Laisser 30 minutes à l'obscurité.

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc. Nous avons également, mesuré le pouvoir anti radicalaire par la même procédure pour la vitamine C pris comme d'antioxydant de référence à fin de référer l'activité de nos extraits.

II.4.2. Activité anti-hémolytique

Cette activité est basée sur le pouvoir des meilleurs extraits phénoliques de *Salvia chudaei* à empêchées la destruction des globules rouges. Pour cela, nous avons maintenu en incubation dans un premier temps les cellules érythrocytes avec les composés phénoliques à différentes concentrations, ensuite ajoute l'eau oxygénée (H_2O_2) et dans un deuxième temps en évaluer la libération d'hémoglobine en mesurant l'absorbance du surnageant à 540 nm.

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de différentes concentrations allant de 5% à 100% à partir de la solution mère préparée dans le tampon phosphate à une concentration de 0,1 mg/mL.

L'activité anti-hémolytique est réalisée *in vitro* selon le protocole décrit par MANNA et al.,(2002), avec quelques modifications. Le sang humain utilisé dans ce test est obtenu par prélèvement veineux d'un volontaire non fumeur. Le sang collecté dans un tube héparine est centrifugé à 1500g/5min, après élimination du plasma, le culot est lavé trois fois par certaines volumes de tampon phosphate (PBS sans potassium, pH 7,4 et 0,1 M).

Pendant chaque lavage, la suspension est homogénéisée par un simple retournement du tube, le surnageant et la couche d'interface est éliminée juste après la centrifugation. À l'issue de la dernière centrifugation le culot cellulaire obtenu est dilué avec le même tampon phosphate pour obtenir un hématocrite de 4%. Deux millilitres de la suspension d'érythrocytes sont mélangés avec 5 mL de solution de PBS.

L'attaque radicalaire est induite par l'addition de 0,5 mL du H_2O_2 à la suspension érythrocytaire préalablement incubée (15 min) avec 1 mL de chaque solution fille de l'acide ascorbique ou de l'extrait à différentes concentrations. Après deux heures d'incubation avec le H_2O_2 à 37°C°, le mélange réactionnel est centrifugé à 1500g/10min et l'hémolyse (libération d'hémoglobine) est évaluée en mesurant l'absorbance du surnageant à 540 nm.

La concentration de H_2O_2 dans le mélange réactionnel a été ajustée pour provoquer 90% d'hémolyse des globules rouges après 2 h d'incubation.

La résistance du sang à l'attaque radicalaire est exprimée par le pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{ Inhibition d'hémolyse} = ((\text{Abs } 540_{\text{contrôle}} - \text{Abs } 540_{\text{échantillon}}) / \text{Abs } 540_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Où :

-% inhibition d'hémolyse: pourcentage d'inhibition d'hémolyse;

-Abs 540_{contrôle}: absorbance du contrôle à 540 nm;

-Abs 540_{échantillon}: absorbance de l'échantillon à 540 nm.

II.5. Analyse statistique

Les données expérimentales des dosages du taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante ont été répétées trois fois.

La différence entre les extraits et la détermination des taux de signification sont effectués par le test ANOVA (utilisé quand il y a trois variables) suivi du test Tukey par logiciel R for Windows GUI front-end. Pour les comparaisons statistiques multiples et la détermination des taux de signification, les valeurs de $p < 0.05$ sont considérées statistiquement significatives. De même, des corrélations ont été établies entre les différentes variables.

Chapitre III

Résultats et discussions

Cette étude a porté sur l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir des parties aérienne et souterraine de la plante *Salvia chudaei* (Lamiaceae) par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet), et l'évaluation de quelques activités biologiques (antioxydante et anti-hémolyse) des meilleurs extraits.

Dans notre étude, nous allons évaluer la capacité antioxydante des extraits phénoliques de manière *in vitro* grâce à deux tests. Le premier consiste à évaluer le piégeage des radicaux libres par l'utilisation du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle sous sa forme radicalaire (DPPH•), impliquant le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron. Le deuxième test consiste à déterminer le pouvoir réducteur antioxydant FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) basé sur le transfert d'électron. La détermination du rendement, la concentration en composés phénoliques totaux (TPC, Total Phenolic Content) et flavonoïdes totaux (TF, Total Flavonoïd) ont également été évalués. pour compléter l'analyse chimique des extraits.

III.1. Résultats de l'optimisation d'extraction des composés phénoliques

Les deux parties de *Salvia chudaei* ont été soumises à l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes : la macération et au soxhlet.

III.1.1. Choix du type de solvant d'extraction

III.1.1.1. Effet du type de solvant sur l'extrait phénolique de *Salvia chudaei*

Les extraits phénoliques obtenus à partir de l'extraction dans différents solvants : l'acétone, l'éthanol et le méthanol possèdent des caractéristiques différentes. Les résultats de la couleur et l'aspect sont indiqués dans le tableau II.

D'après ces résultats, on observe que les extraits phénoliques au soxhlet de la partie aérienne et l'extrait à l'acétone par macération présentent un aspect visqueux vert, tandis que les autres extraits possèdent un aspect poudre et des couleurs différentes.

Tableau II : Effet du type de solvant sur la couleur et l'aspect des extraits phénoliques de *S. chudaei*.

	Extrait	Couleur	Aspect
Ma	EA	Vert	Visqueux
	EE	Vert	Poudre
	EM	Vert	Poudre
Ms	EA	Marron foncé	Poudre
	EE	Jaune marron	Poudre
	EM	Marron foncé	Poudre
Sa	EA	Vert	Visqueux
	EE	Vert foncé	Visqueux
	EM	Vert	Visqueux
Ss	EA	Marron foncé	Poudre
	EE	Jaune marron	Poudre
	EM	Marron foncé	Poudre

Ma : extrait de la partie aérienne par macération ; **Ss** : extrait de la partie souterraine par soxhlet ; **EE** : extrait éthanolique ;
Ms : extrait de la partie souterraine par macération ; **EA** : extrait acétonique ; **EM** : extrait méthanolique.
Sa : extrait de la partie aérienne par soxhlet ;

Les rendements d'extraction par macération et au soxhlet des composés phénoliques de la plante *S. chudaei* sont illustrés par la figure 10.

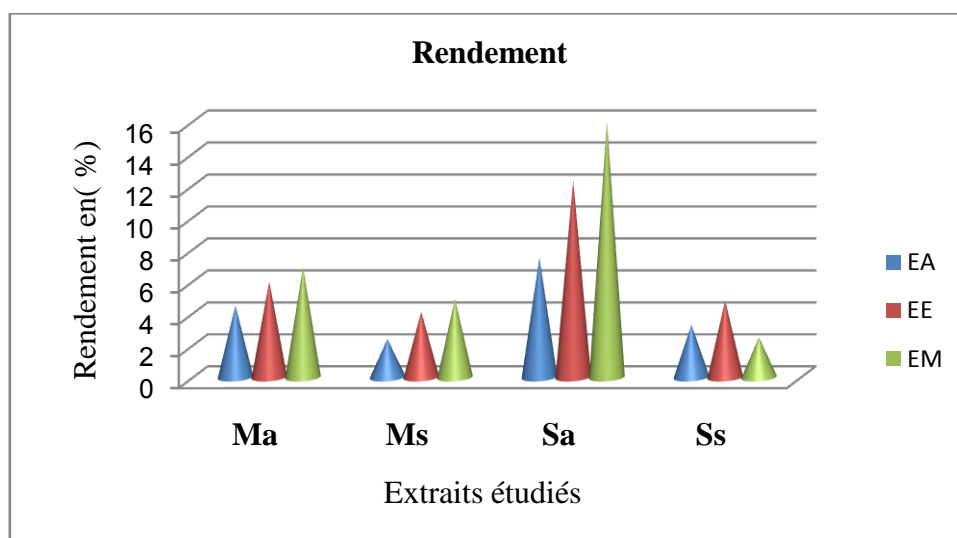


Figure 10.- Effet du type de solvant sur le rendement des composés phénoliques de *S. chudaei*.

D'une part, le rendement de la partie aérienne est plus élevé que la partie souterraine, et d'autre part, l'extrait méthanolique donne le rendement le plus élevé pour les deux méthodes d'extraction. Mais pour la partie souterraine, l'extrait éthanolique obtenu au Soxhlet possède le rendement le plus élevé suivi de l'extrait à l'acétone et enfin l'extrait méthanolique.

Les résultats de la partie aérienne au Soxhlet ont montré que le rendement le plus élevé est obtenu pour le méthanol (16 %), suivi de l'extrait éthanolique (12.3 %) et celui à l'acétone (7.5 %). Mais pour la partie souterraine l'extrait éthanolique présente le rendement le plus élevé (4.8 %), puis l'extrait acétonique (3.3 %) et enfin l'extrait méthanolique (2.5 %).

Le rendement le plus élevé pour la méthode de macération était celui au méthanol (6.9%), puis l'éthanol (6 %) et enfin l'acétone (4.5 %). Concernant la partie souterraine, le rendement le plus élevé est celui obtenu par le méthanol (4.9 %), ensuite l'éthanol (4.1 %) et enfin l'acétone (2.4 %).

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre et d'une partie de la plante à une autre. Cette différence est expliquée par la différence de diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction (NACZK et SHAHIDI, 2004).

A titre indicatif, les résultats obtenus par MAHMOUDI *et al.*, (2013), montrent que l'acétone est le meilleur solvant d'extraction avec un rendement de 19,29 %, suivi par l'eau et le méthanol avec les valeurs (16,75 %) et (14 %) respectivement.

SENOL *et al.*, (2010), utilisent d'autres solvants pour l'extraction des composés phénoliques de différentes espèces de *Salvia* (*S. adenocaulon*, *S. adenophylla*, *S. divaricata*, *S. spinosa*, *S. virgata*, *S. staminea*, *S. potentillifolia*). Les solvants sont le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol. Les rendements les plus importants sont obtenus pour le méthanol, suivi du dichlorométhane et enfin de l'acétate d'éthyle.

III.1.1.2. Effet du type de solvant sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de *Salvia chudaei*

La concentration en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/mg d'extrait). Tandis que la quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la rutine et exprimée en milligrammes d'équivalents de la rutine par milligramme d'extrait (mg ER/mg d'extrait). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.

Tableau III- Effet du type de solvant sur le TPC et le TF de *Salvia chudaei*.

		EA	EE	EM
TPC (mg EAG/mg d'extrait)	Ma	0.071 ± 0.0004	0.065 ± 0.0009	0.057 ± 0.001
	Ms	0.045 ± 0.003	0.034 ± 0.001	0.047 ± 0.0008
	Sa	0.044 ± 0.001	0.043 ± 0.0004	0.038 ± 0.0009
	Ss	0.027 ± 0.001	0.021 ± 0.0003	0.017 ± 0.001
TF (mg ER/mg d'extrait)	Ma	0.070 ± 0.003	0.077 ± 0.007	0.066 ± 0.001
	Ms	0.068 ± 0.0003	0.041 ± 0.002	0.046 ± 0.003
	Sa	0.08 ± 0.007	0.064 ± 0.003	0.049 ± 0.002
	Ss	0.039 ± 0.0008	0.032 ± 0.002	0.029 ± 0.004

TPC : Total Phenolic Content

Ms : Extrait de la partie souterraine par macération ;

EA : Extrait acétonique ;

TF : Total Flavonoid

Sa : Extrait de la partie aérienne par soxhlet ;

EE : extrait éthanolique ;

Ma : extrait de la partie aérienne par macération ;

Ss : Extrait de la partie souterraine par soxhlet ;

EM : Extrait méthanolique.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes ont révélé la présence de ces composés dans les deux parties de *Salvia chudaei* avec des quantités différentes selon la méthode d'extraction, la partie de la plante et le type du solvant. La partie aérienne était la plus riche en ces composés.

Pour la TPC, l'extrait acétonique de la partie aérienne obtenu par macération présente la valeur la plus élevée (0.071 ± 0.0004). Cependant, les résultats de la partie souterraine nous ont permis de déduire que l'extrait méthanolique présente le taux le plus élevé en composés phénoliques totaux (0.047 ± 0.0008), suivi par l'extrait acétonique (0.045 ± 0.003) et l'extrait éthanolique (0.034 ± 0.001 mg EAG/mg d'extrait).

Dans le cas de l'extraction au soxhlet, les extraits acétoniques des parties aérienne et souterraine représentent les valeurs les plus élevées (0.044 ± 0.001 mg EAG/mg d'extrait) et (0.027 ± 0.001 mg EAG/mg d'extrait) respectivement.

En ce qui concerne la quantification des flavonoïdes, nous remarquons que pour la macération, l'extrait éthanolique de la partie aérienne donne la concentration la plus élevée (0.077 ± 0.007), suivi par l'extrait acétonique (0.070 ± 0.003) et l'extrait méthanolique (0.066 ± 0.001 mg ER/mg d'extrait). Pour la partie souterraine, l'extrait acétonique donne la meilleure concentration de TF (0.068 ± 0.0003), suivi par l'extrait méthanolique (0.046 ± 0.003) et l'extrait éthanolique (0.041 ± 0.002 mg ER/mg d'extrait).

La valeur maximale de TF a été remarquée chez l'extrait acétonique au soxhlet, suivi par l'extrait éthanolique et enfin l'extrait méthanolique pour les deux parties de la plante.

MAHMOUDI *et al.*, (2013), montrent que les extraits éthanoliques enregistrent les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées (21,9 mg EAG/g matière végétale sèche), suivi par les extraits acétoniques et méthanoliques qui donnent les teneurs (20,64) et (19,17 mg EAG/g matière végétale sèche) respectivement. VOLKAN *et al.*, (2008) ont obtenu les teneurs en TPC (116.64 ± 1.31 g pyrocatechol/mg extrait) et en TF (24.44 ± 0.45 g quercétine/mg d'extrait) pour l'extrait acétonique de *Salvia cedronella*.

Statistiquement, les variations des concentrations en TPC et TF en fonction du type des solvants dans la présente étude montrent qu'il y a une différence non significative ($p > 0,05$) pour TPC, mais pour TF il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les trois solvants (Annexe 01, figures 01 et 02).

Dans notre étude, le choix du meilleur solvant ne se fait pas à partir du dosage de TPC, car cette méthode est peu spécifique, puisque beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer lors de l'extraction, telles que les sucres, les protéines et les pigments (MACHEIX *et al.*, 2005 ; ATHAMENA *et al.*, 2010).

Or les valeurs obtenues n'ont pas été très satisfaisantes, car elles restent très vastes et ne donnent aucune indication sur les différents composés présents dans nos échantillons, sachant que chacun d'entre eux peut réagir de manière différente dans la réaction colorée. Le

réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique pour détecter tous les groupes phénoliques présents dans les extraits (NACZK et SHAHIDI, 2004 ; ATHAMENA *et al.*, 2010).

III.1.1.3. Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)

La valeur de FRAP de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait (mg EAA/mg d'extrait). La détermination du pourcentage d'inhibition dans nos extraits a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures suivantes:

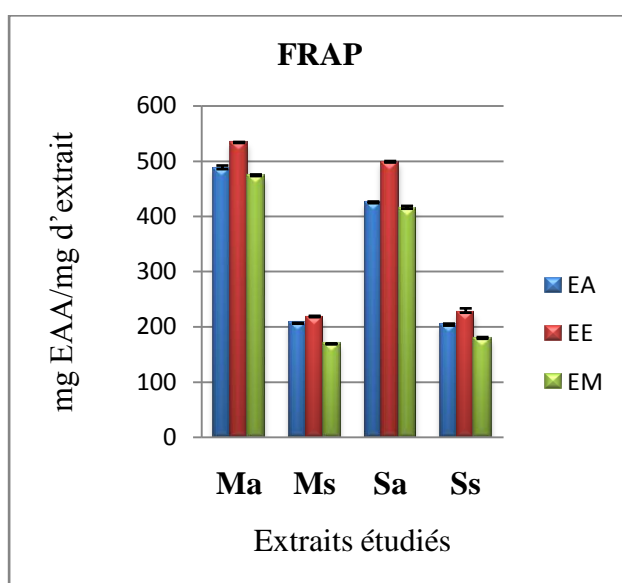


Figure 11.- Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par FRAP.

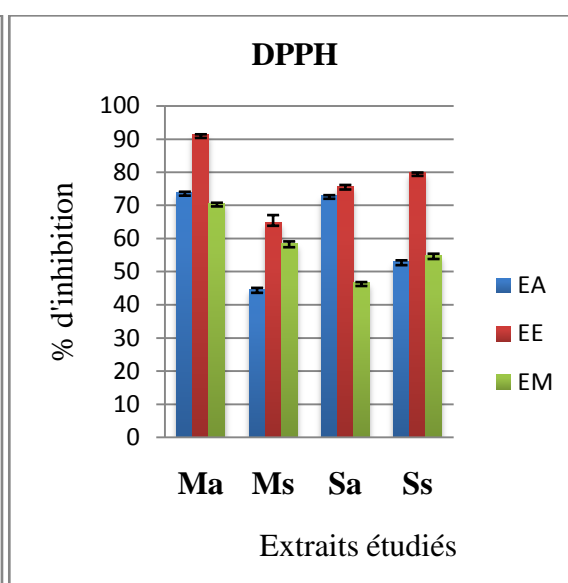


Figure 12.- Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par DPPH.

Les résultats présentés dans les histogrammes des figures 11 et 12, indiquent que l'éthanol est le meilleur solvant, suivi par l'acétone et enfin le méthanol pour les deux tests, les deux parties de la plante et les deux méthodes d'extraction.

Statistiquement, la différence entre les solvants est très hautement significative ($p < 0,001$) pour le DPPH, tandis que pour le test du FRAP, la différence est significative ($0,01 < P < 0,05$), mais le meilleur solvant est toujours l'éthanol (Annexe 01, figures 03 et 04).

Selon DUONG *et al.*, (2015), l'activité antioxydante par le test de DPPH des composés phénoliques des graines de soja obtenus par l'acétone, le méthanol et l'éthanol, montre que le pourcentage d'inhibition le plus élevé était observé pour l'extrait acétonique (76,4%).

Plusieurs études ont montré que l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des proanthocyanidines et des tanins (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; TABART *et al.*, 2007).

Les résultats de la présente étude sont similaires avec ceux de MOHSEN et AMMAR, (2009), qui ont étudié l'extraction des composés phénoliques dans différents solvants où l'éthanol était le meilleur solvant, en raison de leur polarité et de leur bonne solubilité pour ces composés (ATHAMENA *et al.*, 2010).

Selon ST-PIERRE, (2012), les extractions ont été faites dans un solvant vert, accessible et universel : l'éthanol. Bien qu'étant un solvant organique, il possède une grande polarité qui lui permet d'extraire autant les molécules polaires, comme les polyphénols, que non-polaires, comme les triterpènes ou les phytostérols.

L'étude statistique réalisée dans notre travail montre que la variation de la concentration en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux en fonction de la partie de la plante est très hautement significative ($p < 0,001$) (Annexe 01, figures 05 et 06). Le DPPH indique qu'il y a une différence hautement significative ($0,001 < P < 0,01$), cependant pour le FRAP, la différence est très hautement significative ($p < 0,001$) entre les deux parties de la plante, dont les meilleurs résultats sont observés pour la partie aérienne (Annexe 01, figures 07 et 08). Ceci peut être dû à l'influence de la répartition des composés phénoliques dans la plante (aux niveaux tissulaires, niveaux cellulaires et subcellulaires). Les phénols insolubles sont les composants des parois cellulaires, tandis que les composés phénoliques solubles sont cloisonnés dans les vacuoles des cellules végétales. Au niveau tissulaire et les couches externes, les plantes contiennent plus de composés phénoliques que celles situées dans leurs parties intérieures (NACZK et SHAHIDI, 2004).

Les concentrations en polyphénols totaux obtenus par les deux méthodes d'extraction, présentées dans le tableau III, révèlent une différence significative ($0,01 < P < 0,05$). Mais il y a une différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les valeurs de TF de ces deux méthodes d'extraction (Annexe 01, figures 09 et 10). Une différence non significative ($P > 0,05$) entre les valeurs de FRAP des deux méthodes d'extraction a été observée. Tandis que le DPPH présente une différence significative ($0,01 < P < 0,05$) entre les deux méthodes d'extraction (Annexe 01, figures 11 et 12). Toutefois, la macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.

Suite aux dosages des composés phénoliques, les flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante par deux tests (FRAP, DPPH) dans les extraits des deux parties de *Salvia chudaei*, une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée par le logiciel R. Cette analyse a montré qu'il y a une corrélation entre ces composés et leur activité.

MAISUTHISAKUL *et al.*, (2008), ont constaté que la teneur totale des flavonoïdes des extraits éthanoliques de 28 plantes est liée à la teneur des composés phénoliques totaux.

De même dans notre étude, nous avons trouvé que la concentration des polyphénols totaux des extraits s'est corrélée avec la concentration des flavonoïdes à 80.8 %. Cependant nous avons trouvé un pourcentage de corrélation entre TPC et FRAP de 71.4 %, et un plus faible pourcentage avec le DPPH (41.3 %).

La quantité des flavonoïdes des extraits s'est corrélée significativement (74 % et 38,4%) avec leurs activités antioxydantes (FRAP, DPPH) respectivement. La corrélation entre le FRAP et DPPH est de l'ordre de 59,6 % (Annexe 06, tableau 01).

Selon TLILI, (2015), il y a une corrélation entre la teneur des polyphénols totaux des extraits du *Pergularia tomentosa* et la teneur des flavonoïdes (44,3 %). La teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits s'est corrélée significativement, 76,1 % et 52,6 % respectivement, avec leurs activités antioxydantes.

Pour extraire les composés phénoliques antioxydants à partir de diverses sources végétales, l'acétone et l'éthanol sont les solvants couramment utilisés (DENEV *et al.*, 2010 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007 ; BAZYKINA *et al.*, 2002). En général, ils donnent des rendements d'extrait sec total assez élevés, même s'ils ne sont pas très sélectifs pour les phénols. Aussi leur nature chimique et la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques hydroxylés chez tous les composés phénoliques qui sont responsables de certaines propriétés communes, ils sont utilisés pour les extraire à partir du matériel végétal, les doser et les caractériser chimiquement (SPIGNO et DEFAVERI, 2007).

A la lumière de ces résultats, nous constatons que l'éthanol est le solvant le plus indiqué pour l'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei*.

III.1.2. Choix de la pourcentage de solvant (éthanol)

III.1.2.1. Effet de la pourcentage d'éthanol sur l'extrait phénolique de *Salvia chudaei*

L'extraction des composés phénoliques s'est faite dans différentes pourcentages du solvant, l'éthanol à 20 %, 40 %, 60 %, 80 % et 100 %. Les résultats sont indiqués dans le tableau IV et la figure 13 ci-dessous:

Tableau IV : Effet de la pourcentage d'éthanol sur la couleur des extraits phénoliques de *S.chudaei*.

% d'éthanol	20	40	60	80	100
Partie aérienne	Jaune marron	Jaune marron	Vert	Vert foncé	Vert foncé
Partie souterraine	Jaune	Jaune	Marron foncé	Marron foncé	Jaune marron

A partir les données mentionnées dans le tableau IV, nous remarquons qu'il y a une dégradation de l'intensité de la couleur d'extrait selon le pourcentage. Les extraits phénoliques des deux parties présentent un aspect poudre pour tous les extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction.

L'histogramme de la figure 13 indique que le rendement le plus élevé de l'extrait de la partie souterraine obtenu par soxhlet était celui de l'éthanol à 20 % (23.2 %), suivi par (17.2%) de la partie aérienne à 80 %, alors que l'éthanol à 60 % donne les valeurs les moins importantes de (14.3%) pour la partie aérienne et de (7.3%) pour la partie souterraine. Pour la méthode de macération, le rendement le plus élevé est obtenu à 40 % (22.3%) pour la partie aérienne et (18%) de celui de la partie souterraine à une concentration de solvant 60%, tandis que l'éthanol à 100% donne les rendements les moins importants pour les deux parties, de (6%) pour la partie aérienne et de (3.1%) pour la partie souterraine.

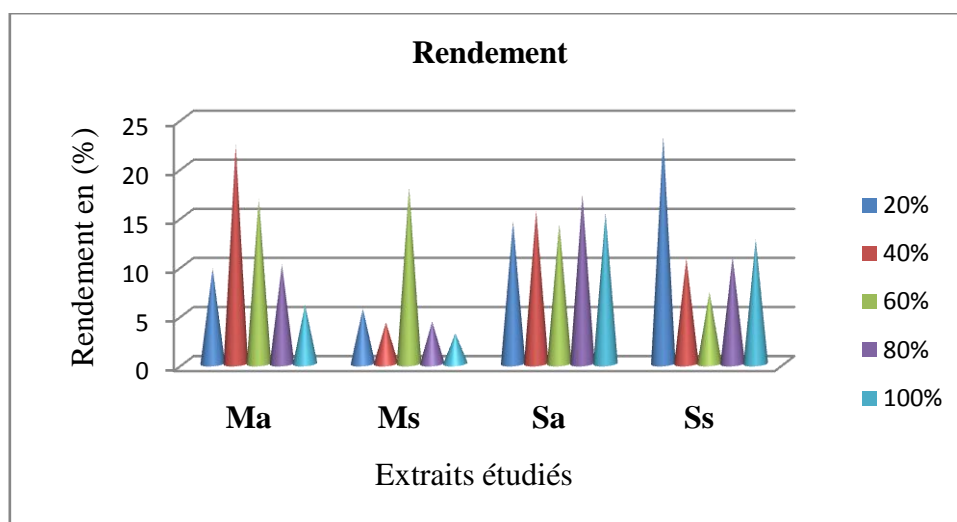


Figure 13.- Effet de la concentration d'éthanol sur le rendement des extraits phénoliques du *S. chudaei*.

III.1.2.2. Effet de la pourcentage d'éthanol sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de *Salvia chudaei*

L'effet de la pourcentage en solvant (l'éthanol) sur le contenu en polyphénols et flavonoïdes des extraits de la plante à caractère médicinal étudiée est illustré sur le tableau V.

D'après la synthèse du tableau V, les concentrations des extraits en TPC varient de (0.002 ± 0.0005 à 0.023 ± 0.0006 mg EAG/mg d'extrait) et de (0.0026 ± 9.62 à 0.15 ± 0.001 ER/mg d'extrait) pour la TF dans les différentes parties étudiées. La valeur la plus importante est observée à 80% pour TPC et 100% pour TF pour les deux parties de la plante par macération.

En ce qui concerne les résultats du soxhlet, pour la TPC nous remarquons que la valeur maximale est observée pour la partie aérienne (0.002 mg EAG/mg d'extrait) à 40 %, 80 % et aussi à 100 %, alors que pour la partie souterraine la quantité la plus importante était observée à 100 % (0.016 ± 0.0005 mg EAG/mg d'extrait). Pour la TF la valeur la plus élevée est obtenue à 80%.

Tableau V- Effet de la pourcentage d'éthanol sur le TPC et le TF du *Salvia chudaei*.

Concentrations de l'éthanol (%)		20	40	60	80	100
TPC (mg EAG/mg d'extrait)	Ma	0.006±0.0002	0.016±0.0003	0.019±0.0005	0.023±0.0006	0.018±0.0001
	Ms	0.006±0.0003	0.007±0.0002	0.016±0.0004	0.018±0.0001	0.009±0.0004
	Sa	0.015±0.0004	0.02±0.0004	0.016±0.0001	0.02±0.0002	0.02±0.0005
	Ss	0.002±0.0005	0.002±0.0001	0.015±0.0001	0.011±0.0002	0.016±0.0005
TF (mg ER/mg d'extrait)	Ma	0.0049±0.0002	0.025±0.0002	0.030±0.0003	0.074±0.0003	0.085±0.016
	Ms	0.0026±9.62	0.0026±9.62	0.011±5.55	0.014±0.0003	0.035±0.0002
	Sa	0.018±0.0004	0.063±0.001	0.095±0.0002	0.15±0.001	0.1±0.0007
	Ss	0.01±0.0005	0.018±0.0007	0.05±0.001	0.12±0.0005	0.044±0.0005

TPC : Total Phenolic Content
 TF : Total Flavonoid

Ma : extrait de la partie aérienne par macération ;
 Ms : extrait de la partie souterraine par macération ;
 Sa : extrait de la partie aérienne par soxhlet ;
 Ss : extrait de la partie souterraine par soxhlet.

Selon HAMMOUDI (2015), il ya une augmentation de la concentration des composés phénoliques en fonction des pourcentages d'éthanol utilisés pour la partie aérienne de la même plante *Salvia chudaei*. D'après KRIMAT *et al.*, (2015), l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne de *S. chudaei* donne des teneurs en TPC et en TF de (39.03 ± 4.83 mg EAG/g d'extrait) et (4.68 ± 0.05 mg EQ/g d'extrait) respectivement. Par contre, dans la littérature consultée, aucune étude sur la partie souterraine de la plante *Salvia chudaei* n'a été abordée.

L'étude réalisée par MATKOWSKI *et al.*, (2008), sur la quantification des TPC et TF des extraits hydrométhanolique (80%), des feuilles et racines pour trois espèces de *Salvia* (*S.miltiorrhiza*, *S.przewalskii*, *S.verticillata*) ont trouvé que la teneur en TPC des feuilles est plus élevée que celles des racines pour les deux premières espèces, par contre les racines de *S.verticillata* ont une teneur en TPC plus élevée que les feuilles. Alors que la teneur en TF n'est pas détectée pour les racines des trois espèces, mais détectées pour les feuilles.

Dans la littérature consultée, l'extrait hydro-éthanolique (80%) donne la teneur maximale en TPC, tandis que les teneurs les plus faibles ont été obtenues lorsque le milieu d'extraction est entièrement fait d'eau ou d'éthanol (TELLI *et al.*, 2010 ; CHIRINOS *et al.*, 2007 ; KIM *et al.*, 2007 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007).

Selon YAP *et al.*, (2009), une proportion élevée en eau dans le système du solvant favoriserait l'extraction des composés phénoliques totaux.

III.1.2.3. Effet de la pourcentage d'éthanol sur l'activité anti-antioxydante (FRAP et DPPH)

Les résultats de l'effet de la pourcentage d'éthanol sur l'activité anti-antioxydante réalisés par les deux méthodes FRAP et DPPH sont regroupés dans les figures suivantes :

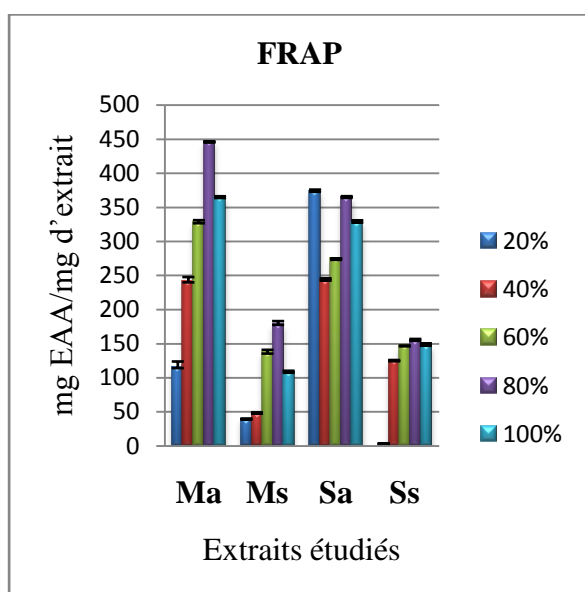


Figure 14.-Effet du pourcentage d'éthanol sur l'activité antioxydante des extraits étudiée par FRAP.

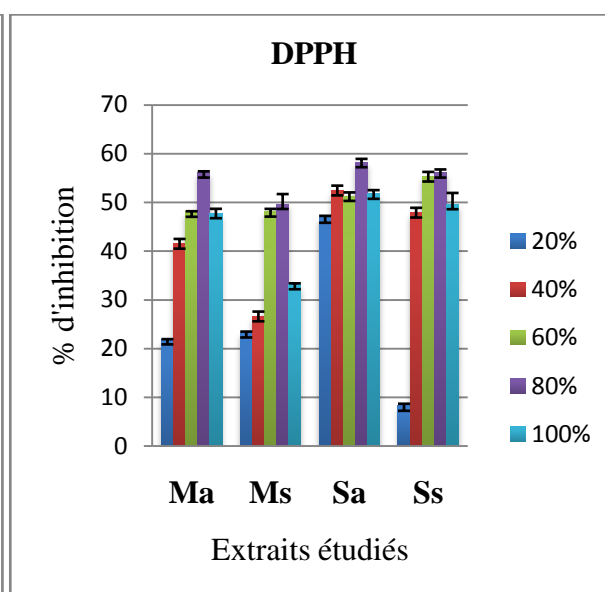


Figure 15.- Effet du pourcentage d'éthanol sur l'activité antioxydante des extraits étudiée par DPPH.

Les histogrammes illustrés par les figures 14 et 15 montrent que les effets antioxydants varient considérablement entre les extraits des différents pourcentages étudiés. Ces résultats révèlent que les extraits à 80% ont un pouvoir antioxydant important avec les deux tests. A l'exception d'extrait de partie aérienne par l'éthanol à 20 % pour soxhlet présente le pouvoir anti-radicalaire le plus important avec le test de FRAP.

DUONG *et al.*, (2015), déterminent le pourcentage d'inhibition qui est de (70%) par le test de DPPH des extraits acétoniques des graines de soja (*Glycine max L. Merrill*).

L'analyse de la variance à deux facteurs, pourcentage du solvant et l'activité antioxydante, suivi par le test Tukey, a montré une différence très hautement significative ($P < 0,001$) par le DPPH et une différence significative ($0,01 < P < 0,05$) par le test FRAP. La meilleure concentration est estimée à 80% d'éthanol (Annexe 02, figure 02).

Cependant une différence entre les résultats de l'activité antioxydante par le test du FRAP des deux parties de la plante étudiée est très hautement significativement ($p < 0.001$) et elle significative par le test DPPH, Toutefois la meilleure partie est la partie aérienne (Annexe 02, figures 01 et 02).

Alors qu'on observe une différence significative ($0,01 < P < 0,05$) entre les deux méthodes d'extraction selon le test de DPPH et une différence non significative ($P > 0,05$) selon FRAP. Dont la meilleure méthode d'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei* est le soxhlet (Annexe 02, figures 05 et 06).

WISSAM *et al.*, (2012) montrent que la meilleure pourcentage d'éthanol est de 80% car les composés phénoliques dans les plantes sont des composés polaires et sont généralement extraites avec des solvants polaires. Les combinaisons des solvants tels que le méthanol, l'éthanol, et l'acétone avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; KIM *et al.*, 2007 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007 ; TABART *et al.*, 2007 ; TURKMEN *et al.*, 2007 ; NACZK et SHAHIDI, 2004; HISMATH *et al.*, 2011).

En particulier, les mélanges éthanol-eau sont plus efficaces pour l'extraction des composés phénoliques que l'eau pure et l'éthanol pur (YILMAZ et TOLEDO, 2006 ; PINELO *et al.*, 2005 ; PENCHEV *et al.*, 2010). L'eau joue un rôle important dans le gonflement de la matière végétale, tandis que l'éthanol est responsable de perturber la liaison entre les solutés et la matrice végétale et permettre aussi un meilleur transfert de masse des composés. Par conséquent, le mélange d'eau et de l'éthanol en tant qu'agent solvant montre synergique l'effet qui facilite l'extraction phénolique.

Selon WANG et WELLER, (2006), l'eau et l'éthanol sont les solvants les plus couramment utilisés pour l'obtention d'extraits phénoliques possédant un pouvoir antioxydant.

L'eau et les solvants à faible pourcentage en éthanol peuvent accéder aux cellules, mais une forte pourcentage d'éthanol peut provoquer la dénaturation des protéines, ce qui empêche la dissolution des polyphénols lors de l'extraction (YANG *et al.*, 2009).

Après l'analyse de la corrélation de notre résultats, on trouve que une corrélation plus importante entre TPC et DPPH (88.1%), suivie par la corrélation entre FRAP et TPC (84.7%), alors que la corrélation entre FRAP et DPPH est estimée à un pourcentage (68%), tandis que le TF corrélé à (63.7%, 59.8%, 55.6%) avec le DPPH, TPC et FRAP respectivement (Annexe 06, tableau 02).

Le système éthanol à 80 % a été choisi pour la détermination de l'effet des cycles, du durée et de la température d'extraction sur la TPC, la TF et l'activité antioxydante pour les extraits de la plante étudiée.

III.1.3. Choix du nombre de cycle d'extraction

III.1.3.1. Effet du nombre de cycle d'extraction sur les extraits phénoliques de *Salvia chudaei*

Les extraits bruts obtenus après différents cycles d'extraction présentent le même aspect poudre mais des couleurs différentes d'un cycle à un autre. Les résultats sont présentées dans le tableau VI et l'histogramme de la figure 16.

Tableau VI -Effets du nombre de cycle d'extraction sur la couleur des extraits phénoliques de *Salvia chudaei*.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
Partie aérienne	Vert	Vert foncé	Vert foncé
Partie souterraine	Marron	Marron	Marron foncé

Les résultats obtenus indiquent que l'intensité de la couleur augmente avec l'augmentation du nombre de cycle d'extraction.

Selon les résultats illustrés dans la figure 16, on distingue que le meilleur rendement est obtenu par la macération de la partie aérienne et l'extraction par soxhlet de la partie souterraine après deux cycles d'extraction. Alors que pour les extraits restants le rendement le plus élevé était observé après le troisième cycle.

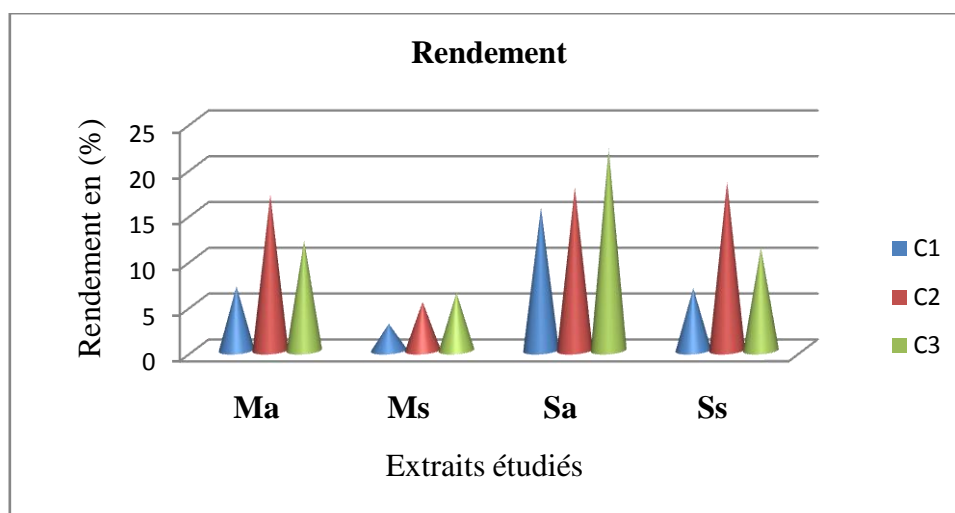


Figure 16.- Effet du nombre de cycle d'extraction sur le rendement des extraits phénoliques de *S.chudaei*.

III.1.3.2. Effet du nombre de cycle d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de *Salvia chudaei*

Les résultats de l'effet du nombre de cycle d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de la plante étudiée sont regroupés dans le tableau VII.

Tableau VII -Effet du nombre de cycle d'extraction sur le TPC et le TF des extraits phénoliques du *Salvia chudaei*.

Cycles d'extraction		C1	C2	C3
TPC (mg EAG/mg d'extrait)	Ma	0.026±0.0004	0.023±0.0004	0.024±0.0002
	Ms	0.011±0.0004	0.01±0.0002	0.009±0.0003
	Ma	0.015±0.0004	0.018±0.0003	0.018±0.0002
	Ms	0.009±0.0005	0.001±0.0002	0.011±0.0001
TF (mg ER/mg d'extrait)	Ma	0.026±0.0004	0.081±0.0002	0.066±0.0007
	Ms	0.011±0.0004	0.051±8.33	0.036±0.0008
	Ma	0.015±0.0004	0.07±0.0003	0.086±0.0004
	Ms	0.009±0.0005	0.026±0.0005	0.031±0.0002

TPC :Total Phenolic Content

TF : Total Flavonoid

Ma : extrait de la partie aérienne par macération ;

Ms : extrait de la partie souterraine par macération ;

Sa : extrait de la partie aérienne par soxhlet ;

Ss : extrait de la partie souterraine par soxhlet ;

C1 : cycle 1 ;

C2 : cycle 2 ;

C3 : cycle 3.

Les résultats du tableau VII montre nettement que les extraits phénoliques obtenus juste par un cycle de la macération ont une valeur de TPC la plus élevée, cependant les extraits obtenus après deux cycles donnent la valeur maximale de TF.

Dans le cas de l'extraction par soxhlet, les extraits obtenus les deuxièmes et troisièmes cycles donnent la même valeur de TPC, mais la valeur la plus élevée en TF est observé avec les extraits obtenus après deux cycles.

Selon DUONG *et al.*, (2015), l'effet de nombre de cycle d'extraction des composés phénoliques à partir des graines de soja (2, 3 et 4 cycle) sur la teneur en TPC et en TF révèlent que le troisième cycle donne la meilleure teneur pour les deux dosages.

III.1.3.3. Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)

Les résultats de l'effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante sont représentés dans les figures suivantes :

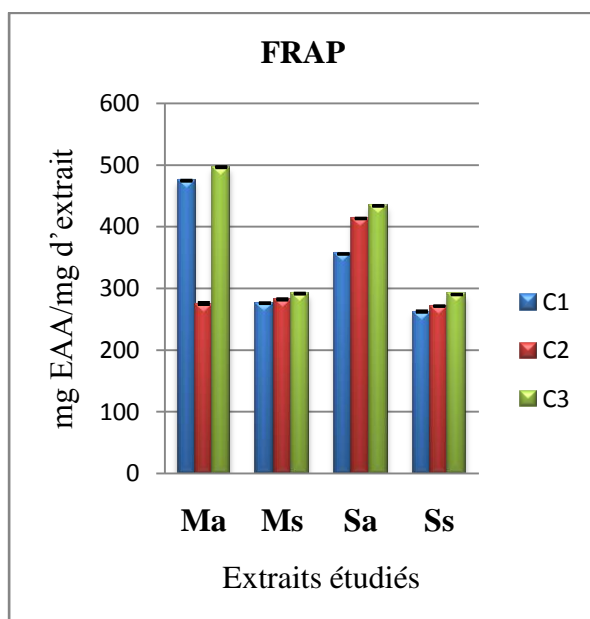


Figure 17.- Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

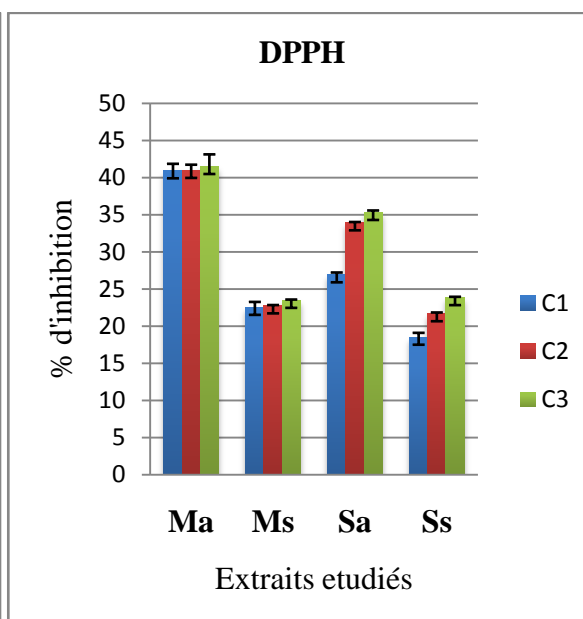


Figure 18.- Effet du nombre de cycle d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Les figures 17 et 18 indiquent que l'effet antioxydant le plus important est obtenu à partir du troisième cycle par les deux tests et le moins important est celui obtenu après un cycle d'extraction pour les deux tests. Les résultats mentionnés dans les figures précédentes et l'analyse statistique (différence non significative $P > 0,05$) (Annexe 03, figures 01 et 02) montrent que le meilleur cycle d'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei* est le troisième cycle.

Par la comparaison de ces résultats avec les travaux de MICHEL, (2011), on confirme que plus le nombre de cycle d'extraction augmente, plus la capacité antioxydante des extraits augmente.

L'analyse statistique de ces résultats indiquent qu'il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les deux parties de la plante étudiée pour les deux tests de l'activité antioxydante (FRAP et DPPH). Dont la meilleure partie est l'aérienne (Annexe 03, figures 03 et 04).

Cependant la différence entre les deux méthodes d'extraction est significative ($0,01 < P < 0,05$) selon le test de DPPH et non significative ($P > 0,05$) selon le test de FRAP. Dont la meilleure méthode d'extraction est la macération (Annexe 03, figures 05 et 06).

Concernant la corrélation entre les différents paramètres étudiés, on trouve statistiquement qu'il y a une corrélation entre ces paramètres à des pourcentages différentes. Le DPPH est corrélé fortement avec le FRAP à un pourcentage de 99%, la TPC est corrélée à des pourcentages (93.4%, 93% et 80%) avec le FRAP, DPPH et TF respectivement. Alors que la TF est corrélée à 76.3% avec FRAP et 72.6% avec DPPH (Annexe 06, tableau 03).

Le troisième cycle a été choisi comme meilleur cycle pour l'extraction des composés phénoliques.

III.1.4. Choix de la durée d'extraction

III.1.4.1. Effet de la durée d'extraction sur l'extrait phénolique de *Salvia chudaei*

Les extraits bruts obtenus dans différentes durées d'extraction présentent le même aspect qui est en poudre avec des couleurs différentes d'une durée à une autre, mais ces extraits sont de mêmes couleurs pour les deux méthodes d'extraction. Les couleurs des extraits sont consignés dans le tableau VIII et leurs rendements dans l'histogramme de la figure 19.

Tableau VIII -Effets de la durée d'extraction sur la couleur des extraits phénoliques de *Salvia chudaei*.

Partie de la plante	durée d'extraction en (min)					
	20	30	40	60	80	100
aérienne	Vert claire	Vert	Vert	Vert foncé	Vert foncé	Vert foncé
Souterraine	Jaune	Jaune marron	Jaune marron	Marron foncé	Marron foncé	Marron foncé

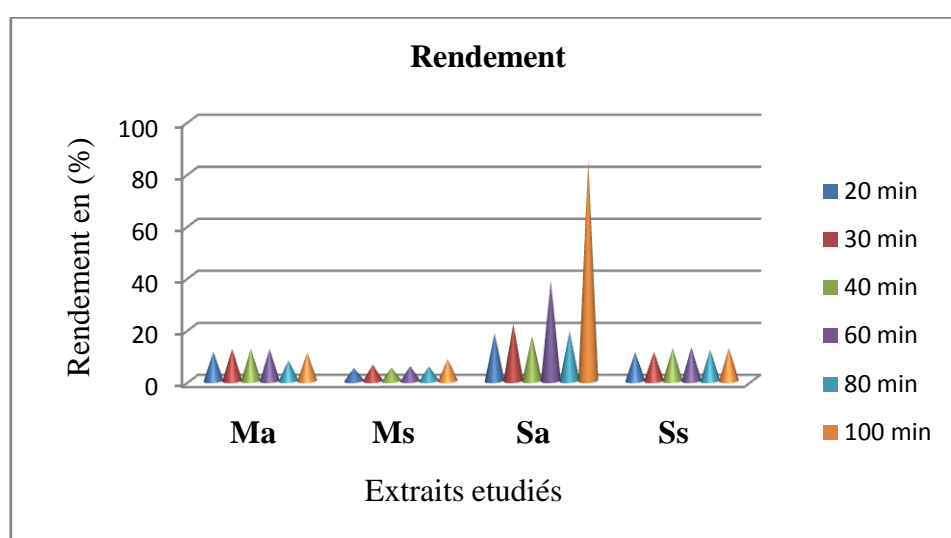


Figure19.-Effet de la durée d'extraction sur le rendement des composés phénoliques du *Salvia chudaei*.

D'après les résultats de la figure 19, on remarque que le meilleur rendement obtenu à 100 min pour les deux parties de la plante extraient par soxhlet et la même durée a été signalée par macération de la partie souterraine. Alors que la partie aérienne par macération est donnée le rendement le plus important à 30 et 40 min.

La prolongation du temps d'extraction des composés phénoliques par des solvants d'extraction, fait accroître leur rendement selon plusieurs auteurs (TELLI *et al.*, 2010; CHIRINOS *et al.*, 2007; DRUŻYŃSKA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009; NICOLA *et al.*, 2007).

III.1.4.2. Effet de la durée d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de *Salvia chudaei*

L'effet de la durée d'extraction sur le contenu phénolique des extraits brut est montré sur le tableau IX.

Tableau IX-Effet du durée d'extraction sur le TPC et le TF du *Salvia chudaei*.

durée d'extraction	TPC (mg EAG/mg d'extrait)				TF (mg ER/mg d'extrait)			
	Ma	Ms	Sa	Ss	Ma	Ms	Sa	Ss
20 min	0.018±	0.015±	0.024±	0.015±	0.063±	0.033±	0.098±	0.033±
	0.0003	0.0006	0.0003	0.0008	0.0006	8.33	0.0009	0.0003
30 min	0.019±	0.012±	0.016±	0.02±	0.071±	0.038±	0.074±	0.042±
	0.0004	0.0005	0.001	0.0008	0.0001	0.005	0.0004	0.0006
40 min	0.019±	0.016±	0.019±	0.01±0.	0.069±	0.029±	0.068±	0.017±
	0.00	0.0003	0.0004	0.0004	0.001	0.0003	0.0003	0.0001
60 min	0.026±	0.021±	0.023±	0.017±	0.074±	0.032±	0.12±	0.026±
	0.001	0.0001	0.001	0.0006	0.0004	0.0004	0.0001	8.33
80 min	0.023±	0.015±	0.022±	0.014±	0.077±	0.029±	0.071±	0.028±
	0.0003	0.0004	0.0004	0.0009	0.0004	0.00	0.0009	0.0006
100 min	0.026±	0.017±	0.023±	0.015±	0.086±	0.026±	0.071±	0.024±
	0.0003	0.0008	0.0003	0.0002	0.0005	0.0005	0.0004	0.001

TPC : Total Phenolic Content
TF : Total Flavonoid
Ma : extrait de la partie aérienne par macération ;
Ms : extrait de la partie souterraine par macération ;
Sa : extrait de la partie aérienne par soxhlet ;
Ss : extrait de la partie souterraine par soxhlet ;

La comparaison des résultats obtenus pour les extraits phénoliques de *Salvia chudaei* nous a permis de déduire que l'extrait de la partie aérienne par macération a le taux le plus élevé de composés phénoliques totaux et de flavonoïdes (0.026 ± 0.0003 mg EAG/mg d'extrait) et (0.086 ± 0.0005 mg ER/mg d'extrait) respectivement à 100 min, mais nous observons la même valeur de TPC à 60 min. Une concentration de (0.021 ± 0.0001 mg EAG/mg d'extrait) pour l'extrait de la partie souterraine par macération a été relevée à 60 min présente la valeur maximale, cependant la concentration la plus élevée en flavonoïde a été remarquée à 30 min de (0.038 ± 0.005 mg ER/mg d'extrait).

Pour Soxhlet, les concentrations les plus élevées en TPC et en TF de la partie aérienne étaient de $(0.024 \pm 0.0003 \text{ mg EAG/mg d'extrait})$ et de $(0.098 \pm 0.0009 \text{ mg ER/mg d'extrait})$ à 20 min, alors que la partie souterraine était de $(0.02 \pm 0.0008 \text{ mg EAG/mg d'extrait})$ et la concentration de TF était de $(0.042 \pm 0.0006 \text{ mg ER/mg d'extrait})$ à 30 min.

TELLI *et al.*, (2010), ont trouvés que l'évolution de la teneur en TPC et en TF pour l'extrait hydroéthanolique (80%) à partir de dattes variété *Ghars* est rapide entre 30 min et 5 h, alors qu'elle est lente entre 5 h à 9 h.

HAMMOUDI, (2015), les valeurs de TPC des extraits éthanoliques de partie aérienne de *Salvia chudaei* par ultrason augmentent en fonction du durée, l'étude a montré une valeur maximale à 40 min, tandis que la diminution est observée à 60 min.

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (NAZCK et SHAHIDI, 2004 ; NAZCK et SHAHIDI, 2006 ; CHIRINOS *et al.*, 2007 ; DRUŻYŃSKA *et al.*, 2007; YAP *et al.*, 2009).

La cinétique d'extraction des polyphénols à partir d'un matériel végétal a été présentée dans de nombreuses études (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; SILVA *et al.*, 2009 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007). De même, la cinétique d'extraction des antioxydantes à partir des feuilles de *Melissa officinalis* a été reportée. Ce processus est divisé en deux phases (HERODEZ *et al.*, 2003), une phase rapide qui est expliquée par le fait que les solutés sont présents sur des sites superficiels de la matière première, et une phase lente correspondant à la diffusion moléculaire des solutés à partir des sites internes à travers des pores (HERODEZ *et al.*, 2003 ; SPIGNO et DEFAVERI, 2007).

III.1.4.3. Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)

Il ressort de ces histogrammes que l'effet antioxydant le plus important est révélé à 60 min pour la macération des deux parties de la plante avec les deux tests (différence non significative $p < 0.5$) (Annexe 04, figures 01 et 02), mais l'extrait de la partie aérienne avec le test du FRAP à 80 min donne un pouvoir antioxydant important.

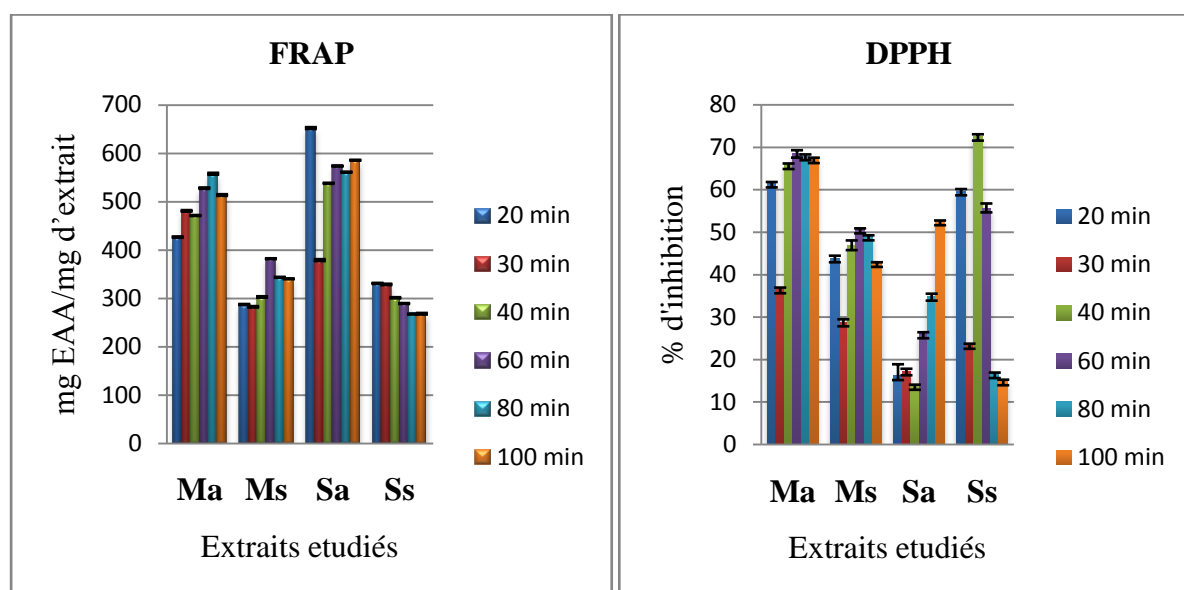


Figure 20.-Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP. **Figure 21.-**Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Concernant les extraits de la partie aérienne et souterraine, obtenus par soxhlet à 100 min et 40 min respectivement, donnent des pourcentages d'inhibition les plus importants utilisant le test DPPH mais pour le test de FRAP la meilleure valeur a été remarquée à 20 min pour les deux parties. Dans cette étude, le de la durée d'extraction a un effet significatif sur l'activité antioxydante.

Selon l'analyse statistique de ces résultats, on trouve qu'il ya une différence non significative ($P > 0,05$) entre les différents de la durée d'extraction par soxhlet des parties souterraines de la plante étudié selon le test (DPPH). Dont la meilleure durée d'extraction est 40 min (Annexe 04, figures 01 et 02). Alors que il ya une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les deux partie de *Salvia chudaei* par FRAP et une différence non significative ($p < 0.5$) par DPPH. Dont la meilleure partie est toujours la partie aérienne (annexe 04, figures 03 et 04).

Cependant la différence entre les deux méthodes d'extraction est très hautement significative ($P < 0,001$) par DPPH, et non significative ($P < 0.5$) par FRAP. Et la meilleure méthode d'extraction est la macération (Annexe 04, figures 05 et 06).

Concernant la corrélation, le TPC est corrélé à des pourcentages (79.9, 84.4 et 13%) avec TF, FRAP et DPPH respectivement, et le TF corrélé avec FRAP à un pourcentage de

91%, alors qu'il n'a pas une corrélation entre le TF et DPPH et le FRAP et DPPH (Annexe 06, tableau 04).

Plusieurs études ont montré que l'extraction prolongée conduit à une diminution de la teneur en composés phénoliques des extraits bruts due à l'oxydation de ces composés en prolongeant l'exposition à des facteurs environnementaux tels que la lumière et de l'oxygène (NAZCK et SHAHIDI, 2004; YAP *et al.*, 2009 ; UMA *et al.*, 2010; HISMATH *et al.*, 2011).

Ces circonstances pourraient être bien expliqué par la seconde loi de diffusion de Fick, qui prédit qu'au bout d'un certain temps, il y aura un équilibre final entre le soluté dans la matrice solide (échantillon de plante) et dans la solution en vrac (solvant d'extraction) (CHEW *et al.*, 2011).

Selon GALVAN *et al.*, (2012), deux phases d'extraction ont pu être observées, une première augmentation de la concentration en polyphénols dans le début du processus suivi par une extraction lente (après 60 min) caractérisé par une faible amélioration de la teneur en polyphénols des progrès l'extraction.

A l'issu de ces résultats, nous allons constater que l'éthanol à 80%, le troisième cycle et une durée de 100 min pour l'extraction des polyphénols de la partie aérienne et une durée de 20 min pour la partie souterraine, sont les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques de la plante *Salvia chudaei* par soxhlet.

L'extrait phénolique obtenu par macération à 80 % d'éthanol, après trois cycles d'extraction et une durée de 60 min a été choisi pour étudier l'effet de la température.

III.1.5. Choix de la température d'extraction

III.1.5.1. Effet de la température d'extraction sur l'extrait phénolique de *Salvia chudaei*

L'impact de la température sur l'extraction des composés phénoliques est évalué dans la gamme de 15°C à 60°C. Les résultats de l'influence de la température sur les couleurs des extraits sont présentés dans le tableau X et leurs rendements sont exposés par l'histogramme de la figure 22.

Tableau X -Effets de la température sur la couleur des extraits phénoliques de *S.chudaei*.

Partie de la plante	Températures d'extraction (°C)				
	15	25	30	45	60
aérienne	Vert Claire	Vert	Vert	Vert foncé	Vert foncé
Souterraine	Jaune	Jaune marron	Jaune marron	Marron foncé	Marron foncé

D'après les résultats illustrés dans le tableau précédent, on remarque que plus la température augmente plus l'intensité de la couleur augmente.

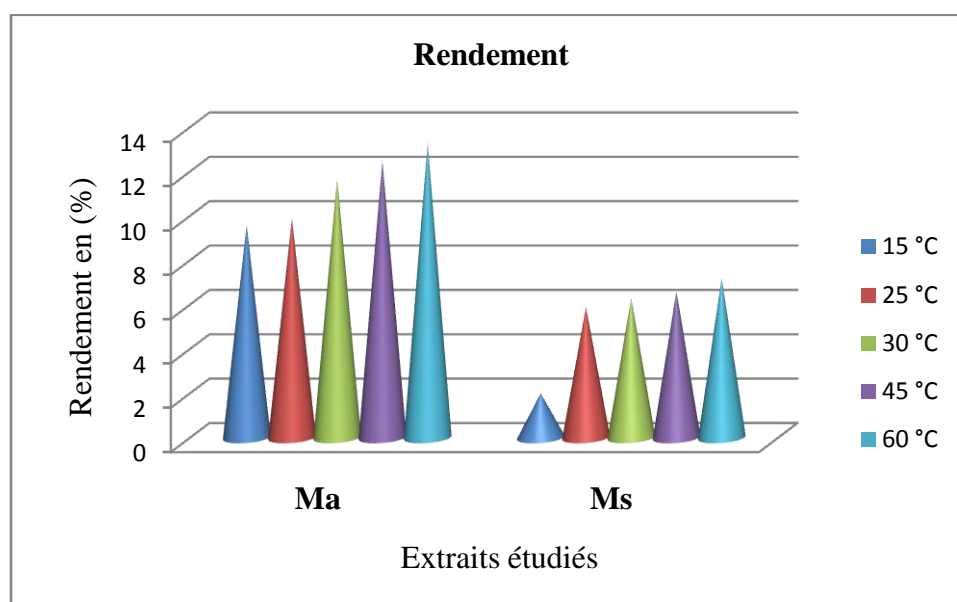


Figure 22.-Effet de la température sur le rendement des composés phénoliques du *Salvia chudaei*.

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction illustrés dans la figure 22, que les rendements d'extraction les plus élevés a été donnés à la température la plus élevée (60°C).

Il a été démontré que pour l'extraction par les solvants à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenu à température ambiante (MAJHENIC *et al.*, 2007).

III.1.5.2. Effet de la température d'extraction sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes de *Salvia chudaei*

Les résultats de dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits de la plante obtenus à différentes température d'extraction sont présentés dans le tableau XI.

Tableau XI -Effet de températures d'extraction sur le TPC et le TF du *Salvia chudaei*.

		Températures d'extraction (°C)				
		15	25	30	45	60
TPC (mg EAG/mg d'extrait)	Ma	0.014±0.0006	0.027±0.0005	0.016±0.0004	0.014±0.001	0.01±0.001
	Ms	0.004±0.0001	0.0031±0.0002	0.0031±0.0005	0.0035±0.0006	0.019±0.0004
TF (mg ER/mg d'extrait)	Ma	0.047±8.33	0.055±0.0002	0.062±0.0005	0.058±0.0002	0.053±0.0003
	Ms	0.03±0.0003	0.032±0.0008	0.028±8.33	0.027±8.33	0.026±0.0001

TPC : Total Phenolic Content **TF** : Total Flavonoid Content **Ma** : extrait de la partie aérienne par macération ; **Ms** : extrait de la partie souterraine par macération ;

Après l'analyse du tableau XI, une variation irrégulière de la TPC est constatée en fonction de l'élévation de la température d'extraction. La valeur la plus importante de TPC est obtenue à température 25°C de (0.027 ± 0.0005 mg EAG/mg d'extrait) pour la partie aérienne, tandis que pour la partie souterraine la valeur maximale est (0.019 ± 0.0004 mg EAG/mg d'extrait) à température 60°C.

Concernant la TF une valeur maximale de (0.062 ± 0.0005 mg ER/mg d'extrait) est remarquée à 30°C pour la partie aérienne. Cependant, une TF de (0.032±0.0008 mg ER/mg) d'extrait à 25°C est la meilleure concentration pour la partie souterraine.

D'après les résultats de HAMMOUDI, (2015), une diminution de la TPC de la partie aérienne de *Salvia chudaei* est relevée. Elle varie de (88.75 ± 1.21 mg EAG/g d'extrait) à (64.61 ± 2.64 mg EAG/g d'extrait) pour les températures inférieures à 30°C. Cependant, une TPC de (78.14 ± 1.62 51 mg EAG/g d'extrait) à 40°C puis une valeur de (66.06 ± 0.7551mg EAG/g) d'extrait est obtenue à 60°C.

III.1.5.3. Effet de la température sur l'activité antioxydante (FRAP et DPPH)

Le choix de la température d'extraction est une étape importante dans une série d'expériences effectuées pour optimiser les conditions d'extraction. Les résultats sont présentés dans les figures suivantes :

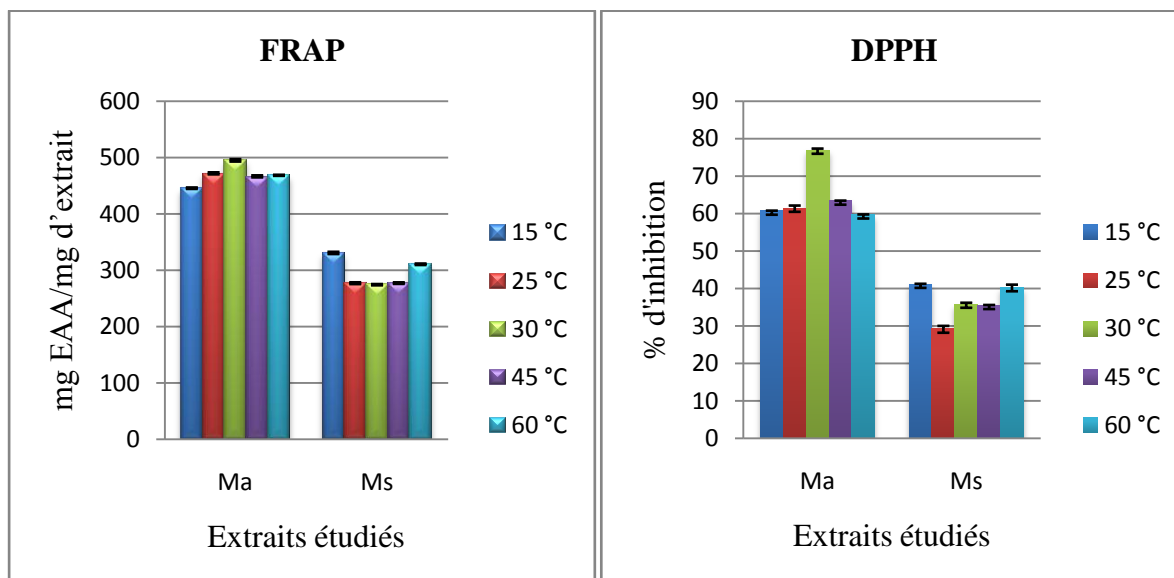


Figure 23.-Effet de la température sur l'activité antioxydante par FRAP.

Figure 24.-Effet de la température sur l'activité antioxydante par DPPH.

Les résultats de l'activité antioxydante révèlent que la température 30°C pour l'extraction de la partie aérienne a une différence non significative ($P > 0,05$) comparons les différentes températures pour les tests (FRAP et DPPH) (Annexe 05, figures 01 et 02). La température 15°C pour l'extraction de la partie souterraine donne un pouvoir antioxydant plus important avec les deux tests.

Statistiquement la différence entre les deux parties de la plante est très hautement significative ($P < 0,001$), mais toujours la meilleure partie est l'aérienne (Annexe 05, figures 03 et 04).

Après l'analyse de la corrélation, le DPPH est corrélé avec le TPC, TF et FRAP à des pourcentages (65.7%, 94.4% et 96.9%) respectivement, tandis que le FRAP est corrélé à (67.9% et 96.6%) avec TPC et TF respectivement, alors que la plus faible corrélation est entre TF et TPC à 60.1% (Annexe 06, tableau 05).

Généralement, la température a un effet positif sur l'extraction des composés phénoliques à partir de sources végétales (BUCIC-KOJIC *et al.*, 2007; HARBOURNE *et al.*, 2009; SPIGNO et DEFAVERI, 2007). Cet effet pourrait être expliqué par la plus grande solubilité des polyphénols dans le solvant, une diffusivité plus élevée des molécules extraites, réduit sa viscosité et l'amélioration du transfert de matière à des températures plus élevées. Une augmentation de la température d'extraction pourrait aussi modifier la structure de la matrice végétale par l'augmentation de la perméabilité des parois cellulaires, affaiblir les interactions entre les composés phénoliques et les macromolécules (protéines, polysaccharides) et par conséquent faciliter le processus d'extraction (PRASAD *et al.*, 2009; AL-FARSI et LEE, 2007). Alors que des températures excessives au cours de l'extraction ou du séchage affectent la stabilité de certains composés phénoliques en raison de réactions impliquant des dégradations chimique et enzymatique, ou une décomposition thermique de certaines composés (de 45 à 100°C) (LEANDRO, 2013 ; FISCHER *et al.*, 2013, KECHINSKI *et al.*, 2010; CISSE *et al.*, 2012).

Nous allons donc opter pour le choix de la température optimale pour l'extraction des composés phénoliques de *Salvia chudaei* par macération est de 30°C et 15°C pour les parties aériennes et souterraines respectivement.

A la lumière de ces résultats, on constate que les meilleures conditions pour extraire les composés phénoliques par macération des parties aériennes et souterraines de *Salvia chudaei* sont l'éthanol à 80%, trois cycles d'une durée 60 min pour chaque une et à température 30°C pour la partie aérienne et 15°C pour la partie souterraine. Tandis que l'extraction par soxhlet l'éthanol à 80%, trois cycles d'extraction à une durée de 100 min pour la partie aérienne et 40 min pour la partie souterraine.

Après la sélection des conditions optimales d'extraction des composés phénolique des parties aériennes et souterraines de *Salvia chudaei* Batt. & Trab par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet), l'étude des activités biologiques pour ces extraits a été réalisée.

III.2. Estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des meilleurs extraits phénoliques de *Salvia chudaei*.

Les résultats de l'estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des meilleurs extraits phénoliques des parties aériennes et souterraines de *Salvia chudaei* sont

présentés dans le tableau suivant :

Tableau XII -Contenus en phénols totaux et en flavonoïdes des meilleurs extraits phénoliques de *Salvia chudaei*.

Méthodes d'extraction	Partie de la plante	TPC (mg EAG/mg d'extrait)	TF (mg ER/mg d'extrait)
macération	Aérienne	0.016 ± 0.0004	0.062 ± 0.0005
	Souterraine	0.004 ± 0.0001	0.03 ± 0.0003
Soxhlet	Aérienne	0.023 ± 0.0003	0.071 ± 0.0004
	Souterraine	0.015 ± 0.0008	0.033 ± 0.0003

Dans le tableau XII, nous présentons les résultats relatifs aux quantités des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux dans quatre extraits obtenues à partir de l'extrait hydroéthanolique (80 %) de deux parties de *Salvia chudaei* (aérienne et souterraine) par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet).

Les résultats du dosage révèlent que la quantité des composés phénoliques dans les extraits bruts est plus importante en utilisant le soxhlet comme méthode d'extraction. Les plus grandes quantités en phénols totaux sont enregistrées dans la partie aérienne que celle de souterraine pour les deux méthodes. Ces quantités sont égales à (0.023 ± 0.0003 mg EAG/mg d'extrait) pour le soxhlet et (0.016 ± 0.0004 mg EAG/mg d'extrait) pour macération de la partie aérienne. Par contre ces quantités démuniraient pour la partie souterraine avec les valeurs (0.015 ± 0.0008 mg EAG/mg d'extrait) pour soxhlet et (0.004 ± 0.0001 mg EAG/mg d'extrait) pour macération.

Comparativement à d'autres plantes locales de genre (*Salvia*) déjà étudiées : *S.hydrangea* (238 ± 30 mg EAG/g d'extrait), *S.lachnocalyx* (38 ± 12 mg EAG/g d'extrait), *S.macilenta* (326 ± 20 mg EAG/g d'extrait), *S.multicalis* (266 ± 18 mg EAG/g d'extrait), *S.sclarea* (268±8 mg EAG/g d'extrait), *S.xanthocheila* (104 ± 3 mg EAG/g d'extrait) (ASADI *et al.*, 2010), il est claire qu'elle représente une source prometteuse en ces composés.

La partie aérienne est la plus riche en flavonoïde, les quantités varient de (0.071 ± 0.0004) pour soxhlet et (0.062 ± 0.0005) pour macération, suivies par les fractions de la partie souterraine dont les quantités s'échelonnent de (0.033 ± 0.0003) pour soxhlet et (0.03 ±

0.0003 mg ER/mg d'extrait) pour macération. Par comparaison de nos résultats avec ceux réalisés par ASADI *et al.*,(2010), *S.hydrangea* (169 ±42 mgE catechine/g d'extrait), *S.lachnocalyx* (253 ± 88 mgE catechine/g d'extrait), *S.macilenta* (185±32 mgE catechine/g d'extrait), *S.multicalis* (245 ± 58 mg E catechine/g d'extrait), *S.sclarea* (91±29 mgE catechine/g d'extrait), *S.xanthocheila* (144 ± 62 mgE catechine/g d'extrait), on trouve que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques.

Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (AGANGA et MOSASE, 2001 ; HAMIA *et al.*, 2014).

III.3. Activités biologiques des meilleurs extraits de *Salvia chudaei*

Dans la présente étude, les activités antioxydante et anti-hémolyse des meilleurs extraits phénoliques des partie aérienne et souterraine de la plante étudiée, sont données à fin de valoriser cette plante.

III.3.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de tous les extraits a été évaluée par le test DPPH, ce test nous a permis de déterminer la capacité de nos extraits à neutraliser le radical stable DPPH présent dans le milieu réactionnel. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par le calcul de la valeur EC₅₀ qui indique la concentration nécessaire de l'extrait à inhiber 50% du radical libre DPPH. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son EC₅₀ est petite.

Les résultats relatifs à ce test sont consignés dans le tableau XIII. D'après ces résultats, nous remarquons que les valeurs d'EC₅₀ varient d'une méthode d'extraction à une autre, Les composés phénoliques de la partie aérienne et souterraine de macération ont d'EC₅₀ presque similaire qui sont 0.15 et 0.14 mg/ml respectivement. Cependant les extraits de soxhlet ont la même valeur d'EC₅₀ qui est 0.34 mg/ml et que les extraits de macération sont généralement les plus antioxydants par rapport aux extraits de soxhlet car les valeurs d'EC₅₀ dans les extraits de macération sont relativement faible, malgré qu'elle ne contienne pas une grande quantité en phénols totaux ni en flavonoïdes. Ce résultat peut être expliqué que cet extrait de macération renferme des molécules en petites quantités et qui sont douées par des activités antioxydantes importantes.

Afin de comparer l'activité antioxydante de nos extraits, nous avons également calculé la valeur d'EC₅₀ de la vitamine C commerciale utilisée comme antioxydant de synthèse dans les industries agroalimentaires, nous avons remarqué que les extraits de macération ont un pouvoir antioxydant très élevé par rapport à la vitamine C (EC₅₀=0.22 mg/ml), par contre les extraits de soxhlet ont un pouvoir antioxydant très faible par rapport à la vitamine C.

Nous n'avons pas trouvés une corrélation linéaire qui relie les valeurs d'EC₅₀ et les quantités en phénols ou en flavonoïdes. Ce résultat est attendu car d'après les valeurs consignées dans les tableaux XII et XIII qui montrent une indépendance de l'activité antioxydante aux quantités des phénols totaux et des flavonoïdes. La seule explication de cette indépendance semble être que l'activité antioxydante des extraits de cette plante dépend des structures chimiques des composés antioxydantes renfermés dans ces extraits.

Tableau XIII -Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test DPPH des extraits phénoliques de *Salvia chudaei* Batt. & Trab.

Méthodes d'extraction	Partie de la plante	EC ₅₀ (mg/ml)
macération	Aérienne	0.15
	Souterraine	0.14
Soxhlet	Aérienne	0.34
	Souterraine	0.34
	Etalon	0.22

KRIMAT *et al.*, (2015), déterminent l'EC₅₀ de l'extrait hydro-méthanolique, l'extrait de chloroforme et l'extrait diethyl éther par le test DPPH de la partie aérienne de *Salvia chudaei* et trouvent que la fraction diethyl éther représente la meilleure activité antioxydante.

MATKOWSKI *et al.*, (2008), étudient l'activité antioxydante des extraits phénoliques des racines et des feuilles des trois plantes du genre *Salvia* (*S.miltiorrhiza*, *S. verticillata*, *S.przewalskii*) et trouvent que l'EC₅₀ des racines des premiers espèces plus faible que les extraits des feuilles, alors que pour la troisième espèce l'EC₅₀ des feuilles est plus faible que les racines.

VICTOR *et al.*, (2007), trouvent que les extraits de dichlorométhane, d'éthyle d'acétate, de méthanol et l'extrait aqueuse de *Salvia pratensis* ne possèdent pas une activité antioxydante.

De nombreuses études réalisées sur les produits naturels ont prouvé que ce sont particulièrement les composés phénoliques qui sont responsables de leur activité antioxydante (APOSTOLIDIS *et al.*, 2007 ; NICKAVAR *et al.*, 2008 ; CHAO-MEI, 2009 ; HAMMOUDI, 2015 ; KAMATOU *et al.*, 2008).

III.3.2. Activité anti-hémolyse

L'incubation *in vitro* des érythrocytes isolés du sang humain avec des concentrations variables des extraits a été réalisée à fin de d'évaluer l'activité anti-hémolyse. Les résultats des concentrations des extraits provoquant 50% d'hémolyse sont mentionnés dans le tableau XIV.

Tableau XIV-Concentrations des extraits provoquant 50% d'hémolyse.

Méthode d'extraction	Partie de la plante	EC ₅₀ (mg/mL)
Macération	Aérienne	0,087
	souterraine	0.055
Soxhlet	Aérienne	0,12
	souterraine	0,22
	Etalon	0,016

Nous avons observé une diminution de taux des globules rouges restantes en fonction de la concentration des extraits.

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de leurs facilités d'isolement, leurs simplicités, la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (ARBOS *et al.*, 2008 ; ÇIMEN, 2008; WAJEMAN *et al.*, 1992).

Ce système cellulaire aurait pu être très utile pour l'étude de l'effet protecteur des extraits phénoliques des parties aérienne et souterraine de la plante étudiée contre l'hémolyse oxydative induite par le H₂O₂.

L'acide ascorbique s'est avéré l'antioxydant primaire dans le plasma (FREI, 1990) il est classé parmi les antioxydants les plus puissants connus, Il a été démontré que l'interaction de l'hémoglobine avec H₂O₂ produit des espèces réactives de l'oxygène et induit la peroxydation lipidique (D'SOUZA et PRABHU, 2006).

Les résultats de l'activité anti-hémolytique des différents extraits phénoliques présentés dans le tableau XIV, ont montré que la vitamine C présente la capacité inhibitrice la plus importante que les extraits phénoliques de *Salvia chudaei*. Nous avons observé que l'extrait de la partie souterraine par soxhlet présente l'EC₅₀ le plus élevé de (0,22 mg/mL), par contre le faible EC₅₀ est détecté pour l'extrait de la partie souterraine de la macération. Tandis que les EC₅₀ des extraits de la partie aérienne du soxhlet et macération sont (0,12 et 0,087 mg/ml) respectivement.

Dans la littérature consultée, aucune étude sur l'activité anti hémolyse de *Salvia chudaei* Batt. & Trab. n'a été abordée, mais il y a des études sur l'activité anti hémolyse des extraits des autres plantes ont été réalisées que les travaux de SUBOH *et al.*, (2004), ont rapporté que l'extrait des graines de *Nigella sativa* protègent les érythrocytes contre les endommagements oxydatifs induits par l'eau oxygénée (H₂O₂).

Dans ce test biologique les hématies sont soumises à une agression oxydante (production contrôlée de radicaux libres). L'oxydation radicalaire des acides gras des membranes lipidiques (peroxydation lipidique) des globules rouges conduite finalement à l'hémolyse et à la libération d'hémoglobine. Les composés possédant une activité antioxydante retardent l'hémolyse par rapport au témoin. Les interactions entre les espèces réactives et les antioxydants putatifs dépendent de plusieurs paramètres biologiques, physiques et chimiques tel que la structure, la taille, la solubilité et le potentiel oxydo-réducteur.

A fin d'étudier l'activité antioxydante des extraits phénoliques vis-à-vis de l'agression radicalaire, nous avons suivis l'influence de la concentration des extraits phénoliques sur le pouvoir d'inhibition. Généralement, un bon inhibiteur est un agent ayant une activité antioxydante qui varie proportionnellement avec sa concentration. Dans le cas où l'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait phénolique, l'inhibiteur joue le rôle d'un pro-oxydant (LESGARDS, 2000).

Dans les conditions de ce test, les radicaux libres sont générés dans le milieu aqueux et réagissent avec les lipides membranaires des érythrocytes durant l'hémolyse. Néanmoins, les antioxydants lipophiles sont les plus efficaces, en effet les antioxydants hydrophiles agissent de façon significative mais ils ne peuvent pas protéger directement la membrane des hématies. En outre, les composés hydrophobes qui s'insèrent dans la double couche lipidique où

indirectement régénèrent autres antioxydants et/ou entrent dans divers processus enzymatiques (LESGARDS, 2000).

Puisque l'acide ascorbique (vitamine C) est classé comme un composé hydrosoluble, il peut agir alors contre la propagation radicalaire dans la phase aqueuse. Or nos extraits phénoliques montrent des activités à l'encontre des radicaux libres moins efficaces que celle observée pour l'acide ascorbique.

III.3. Corrélation entre les taux en phénols totaux, flavonoïdes, l'activité antioxydante et anti-hémolyse des meilleurs extraits phénoliques de *Salvia chudaei*

En établissant la relation entre les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et la capacité antioxydante totale des différents extraits de la plante étudiée et leur activité antihémolyse, le tableau 06 montre qu'il y a une corrélation entre les teneurs en phénols totaux (68.4%) et la capacité antioxydante totale mais cette relation est faible avec les flavonoïdes (19.1%). Par contre, il n'y a pas une corrélation entre l'activité antihémolyse et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes et leur activité antioxydante (Annexe 06, tableau 06).

Conclusion

Dans ce travail, nous avons déterminé les meilleures conditions de l'extraction des composés phénoliques des parties aérienne et souterraine de *Salvia chudaei* par deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet). Les résultats indiquent que les conditions optimums pour l'extraction des composés phénoliques par soxhlet ont été : mélange d'éthanol/eau à 80 %, trois cycles d'extraction, une durée de 100 min. pour la partie aérienne et de 40 min. pour la partie souterraine. Alors que l'extraction par macération se fait pendant 60 min, à 30 °C pour la partie aérienne et à 15°C pour la partie souterraine.

Le potentiel anti radicalaire des meilleurs extraits a été déterminé par le test de DPPH, qui montre que les extraits phénoliques des parties aériennes et souterraines obtenus par macération ont des EC₅₀ presque similaires qui sont 0,14 et 0,15 mg/mL respectivement, alors que les extraits phénoliques des deux parties obtenus par soxhlet, les valeurs d'EC₅₀ sont les mêmes (0,34 mg/mL), alors que L'EC₅₀ de l'étalon (acide ascorbique) est 0,22 mg/mL.

Nous avons utilisé le test du H₂O₂ comme test biologique pour évaluer l'activité anti-hémolyse des composés phénoliques de la plante étudiée. Les résultats montrent que tous les extraits étudiés ont un pouvoir anti-hémolyse moins important que le standard utilisé (la vitamine C) à savoir 0.016 mg/mL, et que l'extrait de la partie souterraine par macération (EC₅₀= 0.055 mg/mL) a présenté une bonne activité, alors que l'extrait de la partie aérienne possède une activité de (EC₅₀=0.087 mg/mL). Tandis que l'activité anti hémolyse des extraits phénoliques, des parties aérienne et souterraine de la plante étudiée, obtenus par soxhlet sont: EC₅₀= 0.12 mg/mL et 0.22 mg/mL, respectivement.

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

- Elargir le cadre de l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par l'utilisation d'autres méthodes d'extraction et d'autres parties de plante avec l'étude de l'effets des autres paramètres comme: la taille des particules, le rapport solide /liquide.
- Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques: anti tumorale, anti cancéreux, anti inflammatoire, anti diabétique, anti coagulant et autres.
- Identification des principes actifs responsables de ces activités pharmacologiques, avec la détermination des conditions optimales pour l'extraction de ces principes actifs.

Références

bibliographiques

- ABDULHAMID A., GIWELI A.M., DŽAMIĆ M.S., RISTIĆ M.S., JANAČKOVIĆ P., MARIN P.D. 2013.-The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *salvia fruticosa* growing wild in Libya. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 65 (1):321-329.
- ACHAT S. 2013.-Polyphénols de l'alimentation: Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat en Chimie. Université de corse-pascal paoli. 234 p.
- AGANGA A.A., MOSASE K.W. 2001.- Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. Animal Feed Science and Technology, 91:107-113.
- ALAM MD. N., BRISTI N. J., RAFIQUZZAMAN M.D. 2013.-Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, 21: 143–152.
- AL-BANDAK G., OREOPOULOU V. 2007.-Antioxidant properties and composition of Majorana syriaca extracts. European Journal of Lipid science and technology, 109 (3): 247-255.
- AL-FARSI M. A., LEE C. Y. 2007.-Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seeds. Journal of Food Chemistry, 108: 977-985.
- ALICE T., MARIELLA L., RITA M., HAANA M., TANIA S., PAOLO V., ANNA M., ALBERTO P. 2016.-Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. Industrial Crops and Products, 83: 241-254.
- ALLAF K., KRISTIAWAN M., SOBOLIK V. 2008.-Isolation of Indonesian cananga oil using multi-cycle pressure drop process. Journal of Chromatography A., 1192(2): 306-318.
- ANDRADE-CETTO A., BECERRA-JIMÉNEZ J., CÀRDENAS-VÀZQUEZ R. 2007.-Alpha-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type II diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 116: 27-32.
- ANTOLOVICH M., PRENZLER P., ROBARDS K., RYAN D. 2000.-Sample preparation in the analysis of phenolic compounds in fruits. Analyst, 125: 989-1009.
- APAK R., GÜÇLÜ K., DEMIRATA B., ÖZYÜREK M., ESIN ÇELİK S., BEKTAŞOĞLU B., İŞİL BERKER K., ÖZYURT D. 2007.-Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC. Assay Molecules, 12:1496-1547.

- APOSTOLIDIS E., KWON Y.I., ET SHETTY K. 2007.-Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type II diabetes and hypertension. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 46-54.
- ARBOS K.A., CLARO L.M., BORGES L., SANTOS C.A.M., WEFFORT-SANTOS A.M. 2008.-Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28: 457-463.
- ARCEUSZ A., WESOLOWSKI M., KONIECZYNSKI P. 2013.-Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants. *Natural Product Communications*, 8(12): 1821-1829.
- ARUOMA O. I., SPENCER J. P., ROSSI R., AESCHBACH R., KHAN A., MAHMOOD N., MUNOZ A., MURCIA A., BUTLER J., HALLIWELL B. 1996.-An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology*, 34 (5): 449-456.
- ASADI S., AHMADIANI A., ESMAEILI M.A., SONBOLI A., ANSARI N., KHODAGHOLI F. 2010.-In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. *Food Chem Toxicol*, 48(5):1341-9.
- ATHAMENA S., CHALGHEM I., KASSAH-LAOUAR A., LAROUI S., KHEBRI S. 2010.-Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11:1-13.
- BAHADORI M., VALIZADEH H., ASGHARI B., DINPARAST L., MORIDI F.M. 2015.-Shahram Bahadori f Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L. *Journal of Functional Foods*, 18 : 727-736.
- BAHADORI M.B., MIRZAEI M. 2015.-Cytotoxicity, antioxidant activity, total flavonoid and phenolic contents of *Salvia urmiensis* Bunge and *Salvia hydrangea* DC. *Ex Benth. Research. Journal of Pharmacognosy*, 2: 27-32.
- BAHORUN T., GRINIER B., TROTIN F., BRUNET G., PIN T., LUNCKY M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN C ET PINKAS M. 1996.-Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11):1086-1089.
- BANDAR H., HIJAZI A., RAMMAL H., HACHEM A., SAAD Z., BADRAN B. 2013.-Techniques for the Extraction of Bioactive Compounds from Lebanese *Urtica dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1(6):507-513.

- BANERJEE S. 2006.-Inhibition of mackerel (*Scomber scombrus*) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols. *Food Research International*, 39: 486-491.
- BAZYKINA N. I., NIKOLAEVSKII A. N., FILIPPENKO T. A., KALOEROVA V. G. 2002.- Optimization of conditions for the extraction of natural antioxidants from raw plant materials. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 36(2): 100-103.
- BENCHELAH A C., BOUZIAN H., MAKKA M. 2011.-Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Edition Ibis press, paris. 255 p.
- BENDIMERAD N., BOUGANDOURA N. 2013.-Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. *Journal of Nature and Technologie*, 14-19p.
- BENSANIA W. 2011.-Etudes du pouvoir antioxydant et de l'effet inhibiteur des extraits phénoliques d'*Agatophora alopecuroïdes* sur l' α - amylase. Thèse de Magister. Université Amar Telidji-Laghouat. 133p.
- BENZIE I.F.F., STRAIN J.J. 1996.-The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1): 70-76.
- BESOMBES C. 2008.-Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse doctorat en Génie des Procédés Industriels. Université de la rochelle Orléans. 289p.
- BIMAKR M., RAHMAN R.A., TAIP F.S., GANJLOO A., SALLEH L.M., SELAMAT J., HAMID A., ZAIDUL I.S.M. 2011.-Comparison of different extraction method of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing*, 89:67-72.
- BRAC DE LA PERRIERE R. A., HAMMICHE V., MAIZA K. 1993.-Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et aliments: l'approche ethnopharmacologique. Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11ème Conférence internationale d'Ethnomédecine, 169-171p.
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C. 1995.-Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28: 25-30.
- BUCIC-KOJIC A., PLANINIC M., TOMAS S., BILIC M., VELIC D. 2007.-Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81: 236-242.

- BUDIC-LETOC I., LOVRIC T., PEZO I., KLUJUZURIC J.G. 2005.-Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1): 47-53.
- BURKILL H.M. 1985.-The Useful Plants of West Tropical Africa, 2nd ed., Vol. 1, Royal Botanical Gardens.
- CARRUBBA A., LA TORRE R., ZAFFUT G. 2006.-Exploitation of native Labiatae in sicily. *Biotechnology and Utilization*, 22-25p.
- CARVALHO M., PENIDO C., SIANI A., VALENTE L., HENRIQUES M. 2006.-Investigations on the anti-inflammatory and anti-allergic activities of the leaves of *Uncaria guianensis* (Aublet) J. F. Gmelin. *Inflammopharmacology*, 14 (1-2): 48-56.
- CATIER O., ROUX D. 2007.-Botanique pharmacognosie phytothérapie. Édit.3. Wolters Kluwar, 141 p.
- CHETHAN S., SREERMA Y., MALLESHI N. 2008.-Mode of inhibition of finger millet malt amylases by the millet phenolics. *Journal of Food Chemistry*, 111: 187-191.
- CHEW K.K., KHOO M.Z., NG S.Y., THOO Y.Y., WAN AIDA M., HO C.W. 2011.-Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18(4): 1427-1435.
- CHIRINOS R., ROGEZ H., CAMPOS D., PEDRESCHI R., LARONDELLE Y. 2007.-Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.
- CHUNG H., JI X., CANNING C., SUN S., ZHOU K. 2010.-Comparison of different strategies for soybean antioxidant extraction. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 4508-4512.
- ÇIMEN M.Y.B. 2008.-Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 39: 1-11.
- CISSE M., BOHUON P., SAMBE F., KANE C., SAKHO M., DORNIER M. 2012.-Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* : experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering*, 109:16-21.
- CUJIC N., ŠAVIKIN K., JANKOVIC T., PLJEVLJAKUŠIĆ D., ZDUNIC G. 2016.-Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique Svetlana Ibric. *Food Chemistry*, 194: 135-142.

- D'SOUZA H. P., PRABHU R. H. 2006.-*In vitro* inhibition of lipid peroxidation in fish by turmeric (*Curcuma longa*). *Ind. J. Clin. Biochem.*, 29: 305-312.
- DE SOUZA K., BASSANI V., SCHAPOVAL E. 2007.-Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and Achyrocline satureioides (Lam.) D.C. extracts by oral route. *Phytomedicine*, 14 (2-3): 102-108.
- DRUŻYŃSKA B., STEPNIEWSKA A., WOŁOSIAK R. 2007.-The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6: 27-36.
- DUONG T., PHAN T., HA T. 2015.-Effects of extraction process on phenolic content and antioxidant activity of soybean. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3(1-2): 33-38.
- EBRAHIMI S. N., ZIMMERMANN S., ZAUGG J., SMIESKO M., BRUN R., HAMBURGER M. 2013.-Abietane diterpenoids from *Salvia sahendica*—antiprotozoal activity and determination of their absolute configurations. *Planta Medica*, 79:150-156.
- ESCRIBANO-BAILON, SANTOS-BUELGA. 2003.-Polyphenols extraction from foods. In *Methods in polyphenol analysis*. Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Science.
- FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C. 2007.-Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.*, 331: 372-379.
- FERGUSON L. 2001.-Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, 475: 89- 111.
- FISCHER U.A., CARLE R., KAMMERER D.R. 2013.-Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and model solutions. *Food Chemistry*, 138:1800-1809.
- FLORENT D. 2011.- Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corsésar daigne: *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. Thèse de doctorat en Chimie. Université de corse-pascal paoli. 234 p.
- GALVAN D., KRIAA K., NIKOV I., DIMITROV K. 2012.- Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, 93: 42-47.
- GEORGIEV M., ALIPIEVA K., PASHOVA S., DENEV P., ANGELOVA M., KERNS G., BLEY T. 2010.-Antioxidant activity of devil's claw cell biomass and its active constituents. *Food Chemistry*, 121: 967-972.

- GHEDIRA K. 2005.-Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 162-169 p.
- GONÇALVES R., MATEUS N., FREITAS V. 2011.-Inhibition of α -amylase activity by condensed tannins. *Food Chemistry*, 125: 665-672.
- GUIGNARD J.L. 2001.-In: *Botanique systématique moléculaire*. 12^{ème} Edition Masson. (Paris), 304 p.
- HAMIA C., GUERGAB A., RENNANE N. E. BIRACHE M., HADDAD M., SAIDI M., YOUSFI M. 2014.-Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressium*. *Annales des Sciences et Technologie*, 47: 33-38.
- HAMMICHE V., MAIZA K. 2006.-Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 358-367.
- HAMMOUDI R., 2015.-Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah – Ouargla. 166 p.
- HAMMOUDI R., 2009.-Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la région Tamanrasset. Diplôme de magister .Université d'Ouargla. 130 p.
- HAMZAA N., BERKEA B., CHEZEA C., AGLIB A.N., ROBINSONA P., GINC H., MOOREA N. 2010.-Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 513–518.
- HARBOURNE N., MARETE E., JACQUIER J.C., O'RIORDAN D. 2009.-Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT-Food Science and Technology*, 42: 1468-1473.
- HE Q., LV Y., YAO K. 2007.-Effects of tea polyphenols on the activities of α - amylase, pepsin, trypsin and lipase. *Food Chemistry*, 101: 1178-1182.
- HERODEŽ S.S., HADOLIN M., ŠKERGET M., KNEZ Z. 2003.-Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Journal of Food Chemistry*, 80(2): 275-282.

- HERZI N. 2013.-Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de docteur. Université de toulouse.
- HIRASA K., TAKEMASA M. 1998.-Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.
- HISMATH I., WAN A. M., HO C.W. 2011.-Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. International Food Research Journal, 18(3): 931-939.
- ISERIN P., 2001.-Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed.Vol. 14. Paris.335p.
- JEAN-PIERRE L. 2001.-Introduction à la flore d'Afrique .Ed cirad, ibis press. 155p.
- JESHVAGHANIA Z., RAHIMMALEKB M., TALEBIA M., GOLIC S. 2015.-Comparison of total phenolic content and antioxidant activity in different *Salvia* species using three model systems. Industrial Crops and Products, 77: 409-414.
- JINCHAO S., XUEGUANG S. 2005.-A comparison of accelerated solvent extraction, Soxhlet extraction, and ultrasonic-assisted extraction for analysis of terpenoids and sterols in tobacco. Anal. Bioanal. Chem., 383: 1003-1008.
- KAHRAMAN A., CELEP M., DOGAN M. 2010.-Anatomy, trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). South African Journal of Botany, 76:187-195.
- KALIDAS S., MCCUE P. 2004.-Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. Asia Pacific J Clin Nutr, 13: 101-106.
- KAMATOU G.P.P., VANZY I., VANVUUREN S.F., FIGUEIRDO., BARROSO G., PEDRO., VILJOEN. 2008.-Seasonal Variation in essential oil composition, oil toxicity and the biological activity of solvent extracts of three south African *Salvia* Species. South African, 74:230-237.
- KAMATOU G.P.P., VILJOEN A.M., STEENKAMP P. 2010.-Antioxidant, anti-inflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. Food Chemistry, 119: 684-688.
- KANG J., LI L., WANG D., WANG H., LIU C., LI B., YAN Y., FANG L., DU G., CHEN R. 2015.-Isolation and bioactivity of diterpenoids from the roots of *Salvia grandifolia*. Phytochemistry, 116: 337-348.

- KARMAKAR I., DOLAI N., SAHA P., SARKAR N., BALA A., KANTI P. 2011.- Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine*, 11:221-228.
- KAUFMANN B., CHRISTEN P. 2001.-"Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides." *Phytochemical Analysis*, 12: 327-331.
- KECHINSKI C.P., GUIMARAES P.V.R., NORENA C.P.Z., TESSARO I.C., MARCZAK L.D.F. 2010.-Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Journal of Food Science*, 75(2):C173-C176.
- KIM J. M., CHANG S. M., KIM I. H., KIM Y. E., HWANG J. H., KIM K. S., KIM W. S., 2007.-Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 271-278.
- KOK M.F., YONG F.M., LIM G. 1987.-Rapid extraction method for reproducible analysis or aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35: 779-781.
- KRIMAT S., DOB T., TOUMI M., KESOURI A., NOASRI A. 2015.-Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia chudaiei Batt. et Trab.* endemic medicinal plant from Algeria. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (1):70-78.
- KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C., ABDELLY C., 2007.-Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.*, 45: 244-249.
- LARRAURI J.A., RUPEREZ P., SAURA-CALIXTO F. 1997.-Mango peel fibres with antioxidant activity. *Zeit. Leben.-Unter. Forsch. A.*, 205:39-42.
- LEANDRO G.D. 2013.-Eco-procédés pour la recuperation selective d'antioxydants à partir d'*Aronia melanocarpa* et ses co-produits. Thèse de doctorat. Université Lille 1. 195 p.
- LESGARDS J.F. 2000.-Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme ; aspect chimiques et biochimiques. Thèse de doctorat. 19-20 p.
- LI M., LI Q., ZHANG C., ZHANG N., CUI Z., HUANG L., XIAO P. 2013.-An ethnopharmacological investigation of medicinal *Salvia* plants (Lamiaceae) in China. *Acta Pharmaceutica Sinica B.*, 3: 273-280.
- LUQUEDECASTRO M.D., PRIEGO-CAPOTE F. 2010.-Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A.*, 1217: 2383-2389.

- MA C. M., SATO N., LI X. Y., NAKAMURA N., HATTORI M. 2009.-Flavan-3-ol contents, anti-oxidative and a -glucosidase inhibitory activities of *Cynomorium songaricum*. *Food Chemistry*, 32:281-286
- MACHIEUX J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. 2005.-Composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires Romandes, 75-85 p.
- MACLEOD J.L., TROCONIS N.G. 1982.-Volatile flavour components of mango fruit. *Phytochemistry*, 21: 2523-2526.
- MAHMOUDI S., KHALI M., MAHMOUDI N. 2013.-Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature et Technologie*, 2:35-40.
- MAISUTHISAKUL P., PASUK S., RITTHIRUANGDEJ P. 2008.-Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Food Composition and Analysis*, 21: 229-240.
- MAJHENIC L., KNEZ Z., KERGET M.S. 2007.-Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104:1258-1268.
- MAKHLOUF C., NOUREDDINE T., HAYETTE L. 2013.-Extraction des compounds phénoliques et activité antioxydante *in vitro* des graines de figue de barbarie. *Journal of economic development*, 67: 467-475.
- MANNA C., D'ANGELO S., MIGLIARDI V., LOFFREDI E., MAZZONI O., MORRICA P., GALLETTI P., ZAPPIA V. 2002.-Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50: 6521-6526.
- MANSOURI A., EMBAREK G., KOKKALOU E., KEFALAS P. 2005.-Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89: 411-420.
- MARTIN S., ANDRIANTSITOHAINA R. 2002.-Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304-315.
- MATKOWSKI A., ZIELIN´SKA S., OSZMIAN´SKI J., LAMER-ZARAWSKA E. 2008.-Antioxidant activity of extracts from leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim., and *S. verticillata* L. *Bioresource Technology*, 99: 7892-7896.
- MEDART J. 2009.-Manuel pratique de nutrition : L'alimentation préventive et curative. Edition Boeck. 46-52 p.

- MEHMET A., AKALINA K., KUBILAY T., SELHAN K. 2015.-Sage oil extraction and optimization by response surface methodology Mehmet. *Industrial Crops and Products*, 76:829-835.
- MICHEL T. 2011.-Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de doctorat en chimie Analytique Phytochimie. Université d'Orléans. 288 p.
- MICHEL T. 2012.-Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de doctorat. Université d'Orléans. 289p.
- MIDDLETON E., KANDASWAMI C., THEOHARIDES T. 2000.-The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52: 673-751.
- MIRJALILI M., PEYMAN S., SONBOLI A., VALA M. 2006.-Essential oil of variation *Salvia officinalis* aerial parts during its phenological cycle. *Chemistry of Natural Compounds*, 42: 19-23.
- AMMAR A.S.M., MOHSEN S.M. 2009.-Total phenolic contents and antioxidant activity of corntassel extracts. *Food Chem*, 112: 595-598.
- MOLYNEUX P. 2004.-The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant Activity. *Journale of Science Technologie*, 26(2): 211-219.
- MOREL S. 2011.-Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat. Université d'Angers, 265p.
- NACZK M., SHAHIDI F. 2004.-Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.*, 1054: 95-111.
- NAZCK M., SHAHIDI F. 2006.-Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- NICKAVAR B., ABOLHASANI L., IZADPANA H. 2008.- α -amylase inhibitory activities of six *Salvia* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(4): 297-303.
- NICOLA E. D., OWEN J. C., J. G., ROSEMARY F. W., KEVIN A. M., YEAP F., NIGEL B. P 2007.-Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food Chemistry*, 101: 1417-1424.

- NICOLAS V. 2012.-Contribution chimique a la definition de la qualite : exemples des spiritueux de myrte (*Myrtus communis* L.) et de cedrat (*Citrus medica* L.).Thèse de doctorat en chimie. Université de Corse-pascal Paoli. 252 p.
- NIJVELDT J., VAN NOOD E., VAN HOORN D., BOELENS P., VAN NORREN K., VAN LEEUWEN P. 2001.-Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. American journal of clinical nutrition, 74: 418-425.
- NOWAKOWSKA Z. 2007.-A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European Journal of Medicinal Chemistry, 42 (2): 125-137.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé) 2003.- Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, 31-35p.
- ONO E., FUKUCHI-MIZUTANI M., NAKAMURA N., FUKUI Y., YONEKURA-SAKAKIBARA K., YAMAGUCHI M., NAKAYAMA T., TANAKA T., KUSUMI T.,TANAKA Y. 2006.-Yellow flowers generated by expression of the aurone biosynthetic pathway. Proc Natl Acad Sci U S A., 103: 11075-11080.
- ORDOUDI S.A., TSIMIDOU M.Z., VAFIADIS A.P., BAKALBASSIS E.G. 2006.-Structure-DPPH scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaiacol acid derivatives. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 5763-5768.
- OZENDA P., 1977.-Flore du Sahara. 2^{ème} ED. CNRS. Paris.
- PENCHEV P.I. 2010.-Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de docteur. Université de Toulouse. 239 p.
- PETTI S., SCULLY C. 2009.-Polyphenols, oral health and disease: A review. Journal of Dentistry, 37: 413-423.
- PIBIRI M.C. 2005.-Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'HEs. Thèse de doctorat. EPF Lausanne.
- PINCEMAIL., DEFRAIGNE J. 2004.-Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « Antioxydants et alimentation » Institut Danone.
- PINELO M., RUBILAR M., SINEIRO J., NUNEZ M. J. 2005.-Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ration the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components from grape pomace. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53: 2111-2117.

- PISTRICK K. 2002.-Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 211-225.
- POIROT R. 2007.-Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale .Thèse de docteur. Université de Toulouse. 133 p.
- PRASAD K.N., YANG B., ZHAO M.M., RUENROENGLIN N., JIANG Y.M. 2009.- Application of ultrasonication or high-pressure extraction of flavonoids from Litchi fruit pericarp. Journal Food Process Engineering, 32(6): 828-843.
- PRIOR R.L., SCHAICH K. 2005.-Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10): 4290-4302.
- QIU JUN W., LI P., HUI Y., JIANW. 2013.-Propagation of *Salvia miltiorrhiza* from hairy root explants via somatic embryogenesis and tanshinone content in obtained plants. Industrial Crops and Products, 50: 648-653.
- QUAN L., Li S.F., TIAN S.J., XU H., LIN A.Q., GU L. 2004.-Determination of organochlorine pesticides residue in Ginseng root by orthogonal array design Soxhlet Extraction and gas chromatography. Chromatographia, 1: 89-93.
- QUEZEL P., SANTA S. 1963.-Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed., CNRS, Paris, Tom. 2 :793.
- SAHKI A., SAHKI R. 2004.-Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope, 311 p.
- SALHI S., FADLI M., ZIDANE L., DOUIRA A. 2010.-Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). Lazaroa, 31: 133-146.
- SANNOMIYA M., FONSECA V. B., DA SILVA M.A., ROCHA L.R.M., DOS SANTOS L.C., HIRUMA-LIMA C.A., SOUZA-BRITO A.R.M., VILEGAS W. 2005.-Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. Journal of Ethnopharmacology, 97 (1): 1-6.
- SARKER S.D., LATIF Z., GRAY A.I. 2006.-Natural Products Isolation, Second Edition, Humana Press Inc.
- SENO L F., ORHAN I., CELEP F., KAHRAMAN A., DOGAN M., YILMAZ G., SENER B. 2010.-Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. Food Chemistry, 120: 34-43.

- SHAHIN S. A., NARESH K., ABHINAV L., ANGAD S., HALLIHOSUR S., ABHISHEK S., UTPAL BORA. 2008.-Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, 41: 1 -15.
- SHUANGQIN M., XIJUAN T., JIANGTAO D., PENG L., WENCHAO Y., XIAOQING M., WENBIN C., ZHENHONG W. 2015.-Soxhlet-assisted matrix solid phase dispersion to extract flavonoids from rape (*Brassica campestris*) bee pollen. *Journal of Chromatography B.*, 1005: 17-22.
- SILVA E. M., ROGEZ H., POMPEU D.R. 2009.-Optimisation of extraction of phenolics from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology*, 100: 6076-6082.
- SINGLETON V.L., ROSSI J.A. 1965.-Indice de Folin, polyphenols totaux. *J. Eol.Vitic.*, 16:144-158.
- SPIGNO G., TRAMELLI L., De FAVERI D. M. 2007.-Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.
- STOCLET J., CHATAIGNEAU T., NDIAYE M., OAK M., EL BEDOUI J., CHATAIGNEAU M., SCHINI-KERTH B. 2004.-Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology*, 500: 299-313.
- ST-PIERRE F. 2012.-Caractérisation physico-chimique de bois et d'écorces de *Betula alleghaniensis* et *Acer saccharum* de différentes vigueurs. Mémoire du grade de Maître ès sciences. Université Laval. 76p.
- SUBOH S.M., BILTO Y.Y., ABURJAI T.A., 2004.-Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy research*, 18: 280-284.
- TABART J., KEVERS C., SIPEL A., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J., DOMMES J. 2007.-Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and stability during storage. *Journal of Food Chemistry*, 105:1268-1275.
- TELLI A., MAHBOUB N., BOUDJENEH S., SIBOUKEUR O. E. K. , MOULTI-MATI F., 2010.-Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* l) variété *ghars*. *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2) : 107-115.
- TIEPPO J., VERCELINO R., DIAS S., SILVA VAZ M., SILVEIRA T., MARRONI C., MARRONI N., HENRIQUES J., PICADA N. 2007.-Evaluation of the protective effects of

- quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*, 45 (7): 1140-1146.
- TLILI M. L. 2015.-Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 120p.
- TURKMEN N., VELIOGLU Y.S., SARI F., POLAT G. 2007.-Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 484-496 p.
- UMA D.B., HO C.W., WAN AIDA W.M. 2010.-Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana*, 39(1): 119-128.
- USTÜN O., OZÇELİK B., AKYÖN Y., ABBASOĞLU U., YESİLADA E. 2006.-Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 108 (3): 457-461.
- VANESSA M., RENATA L., JOSÉ R., SOUZAB C., ZEQUIC E., LEITE M., GISELY C., LOPESA M. 2014.-Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. *Rev Bras Farmacogn*, 24: 576-583.
- VERPOORTE R., COTIN A., MEMELINK J. 2002.-Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*, 1 (1):13-25.
- VÍCTOR L., SILVIA A., ESTHER C., JOSE M., GARCÍA M., RITA Y. C. MARÍA I. C.2007.-In Vitro Antioxidant and Anti-rhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. *Plant Foods Hum Nutr*, 62:151–155.
- VOLKAN Y., BELKIS H., MEHMET O. Z., GU'LAC T. 2008.-Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food Chemistry*, 108:31-39.
- WAJEMAN H., LANTZ B., GIROT R. 1992.-Les maladies du globule rouge. Paris. INSERM.
- WANG L., WELLER C.L. 2006.-Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6): 300-312.
- WANG Z., DING L., LI T., ZHOU X., WANG L., ZHANG H., LIU L., LI Y., LIU Z., WANGH., ZENG H., HE H. 2006.-Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum L.* and *Zanthoxylum bungeannum Maxim.* *Journal of Chromatography A*, 1102: 11-17.
- WANYANG S., LING T., JINGZHUO M., JINGYI H., DONGXIANG L., YUNFEI L., HONGTING X., HENRY S., KAISHUN B. 2016.-Separation and analysis of phenolic acids

from *Salvia miltiorrhiza* and its related preparations by off-line two-dimensional hydrophilic interaction chromatography reversed-phase liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 1431: 79-88.

WISSAM Z., BASHOUR GHADA B., WASSIM A., AND WARID K., 2012.-Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3): 675-682.

XIUZHEN H., TAO S., HONGXIANG L. 2007.-Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950-988.

YAP.C.F., C.W. HO., WAN AIDA W.M., CHAN S.W., LEE C.Y., LEONG Y. S., 2009.- Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, 38(4): 511-520.

YA-QIN M., XING-QIAN Y., ZHONG-XIANG F., JIAN-CHU C., GUI-HUA X., DONG-HONG L. 2008.-Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (14): 5682-5690.

YI M. L., ZHI P.R., LIANG L.Z. 2008.-Evaluation of the Antioxydant Activity of *Syzygium cumini* Leaves. *Molecules*, 13: 2545-255.

YILMAZ Y., TOLEDO R. T. 2006.-Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 41-48.

YINRONG L., YEAP L. 2001.-Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75: 197-202.

YUANYUAN J., LONG W., LI Z., TAO W., YONGHONG Z.,CHUNBANG D., RUIWU Y., XIAOLI W., LIN Y.2015. -Optimization of extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza* Bunge residue. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79: 533-541.

Site électronique

[1] <http://WWW.Sahara-nature.com/plantes.php?plante= Salvia chudaei &aff=nom>

Annexes

Annexe.01: Effet du type de solvant

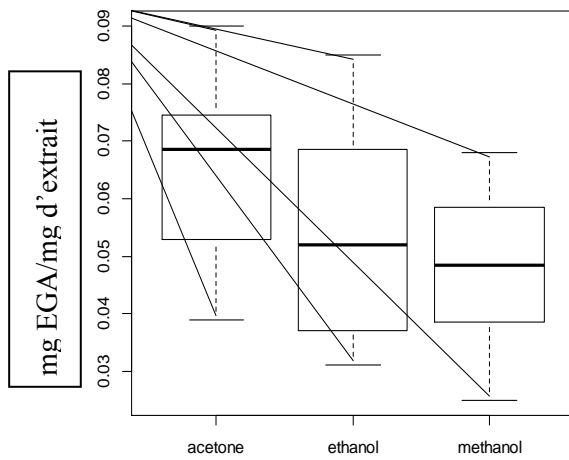


Figure 01.-Effet du type de solvant sur le TPC.

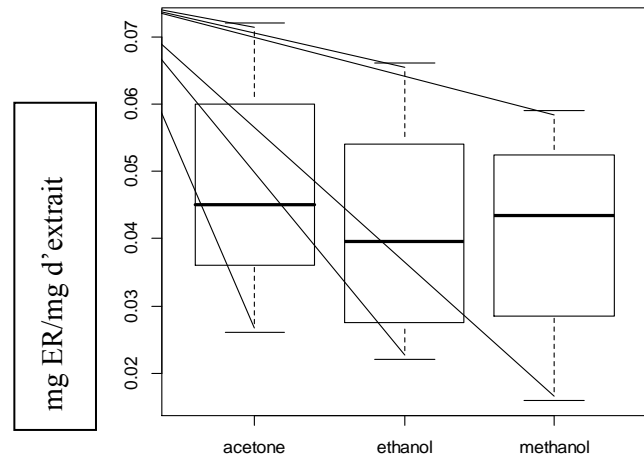


Figure 02.-Effet du type de solvant sur le TF.

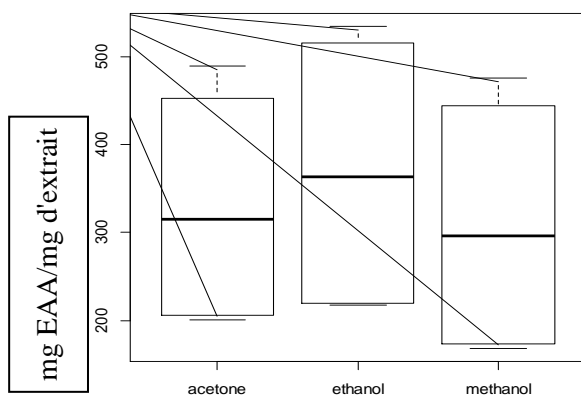


Figure03.-Effet des solvants sur l'activité antioxydante par FRAP.

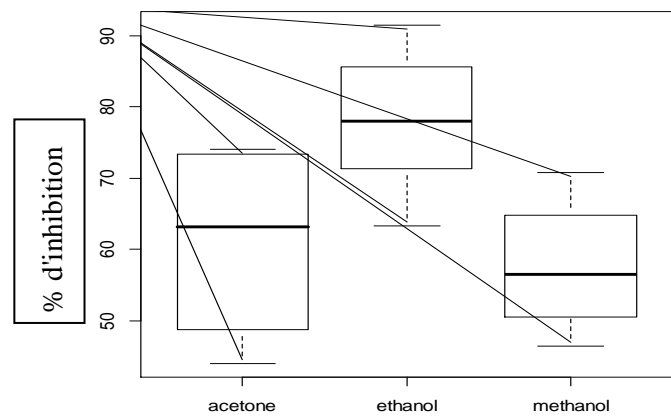


Figure04.-Effet des solvants sur l'activité antioxydante par DPPH.

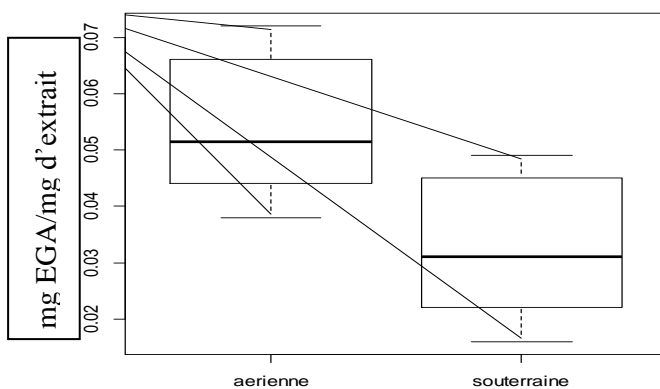


Figure 05.-Effet de partie de la plante sur TPC.

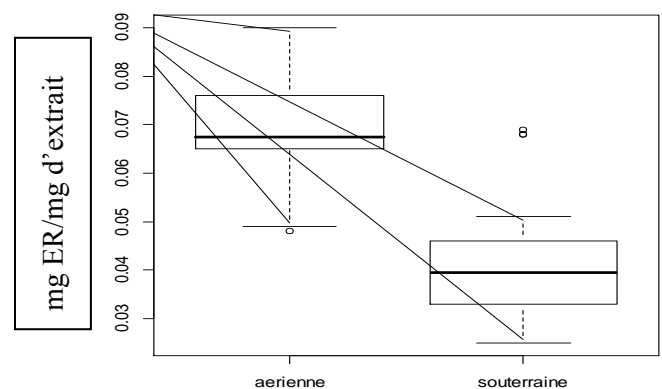


Figure 06.-Effet de partie de la plante sur TF.

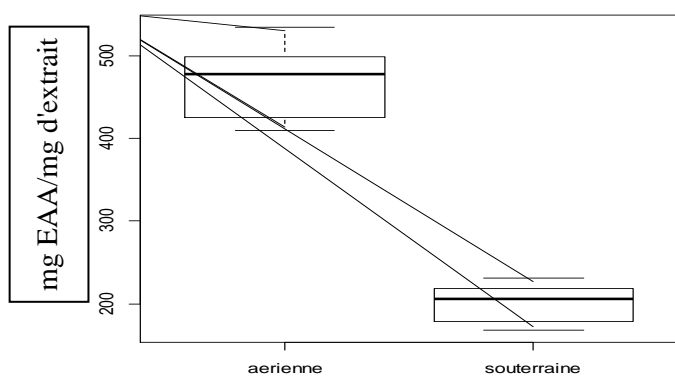


Figure 07.-Effet de partie de la plante sur FRAP.

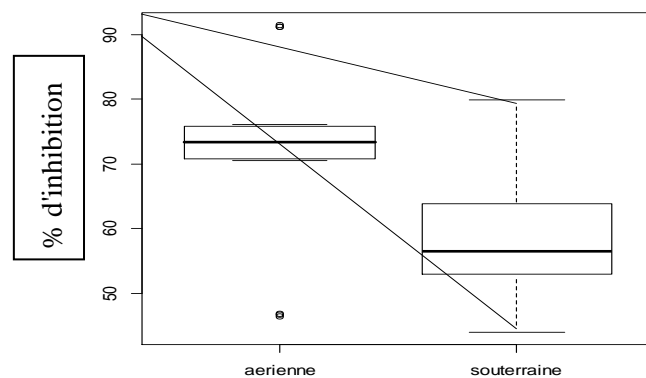


Figure 08.-Effet de partie de la plante sur DPPH.

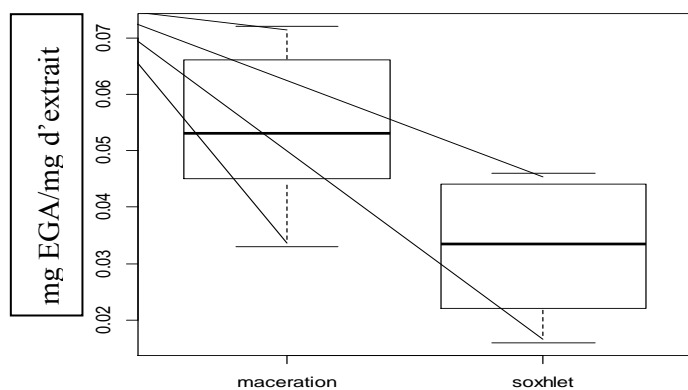


Figure 09.- Effet des méthodes d'extraction sur TPC.

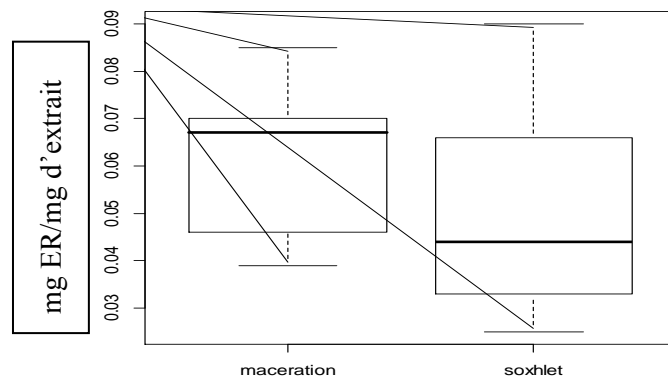


Figure 10.- Effet des méthodes d'extraction sur TF.

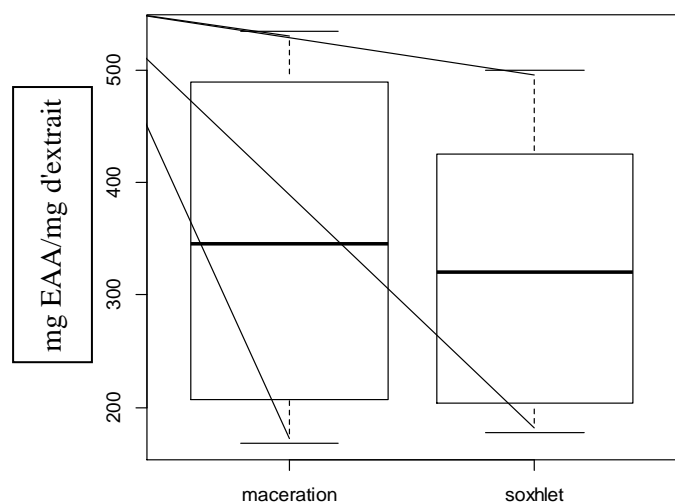


Figure 11.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

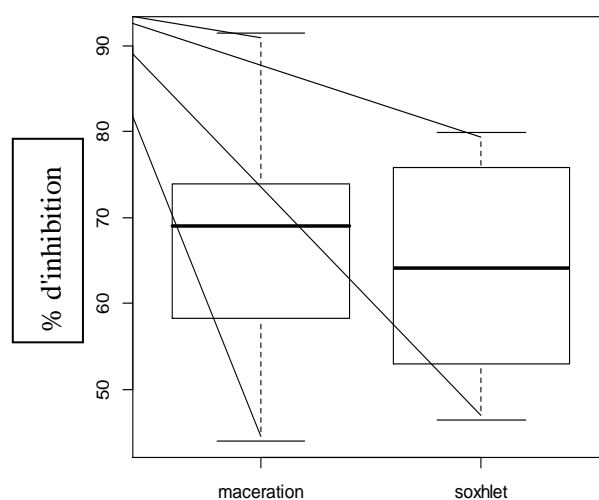


Figure 12.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Annexe 02. Effet du pourcentage du solvant

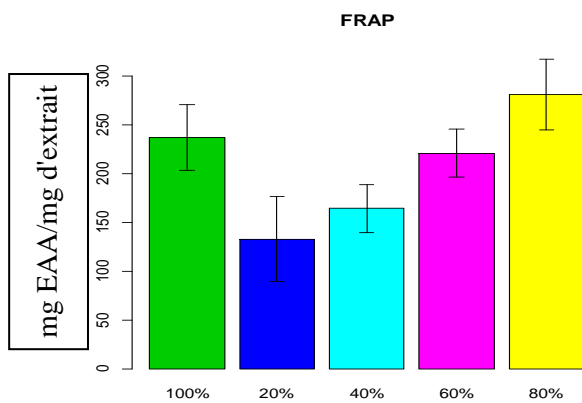


Figure 01.-Effet de la concentration du solvant sur l'activité antioxydante par FRAP.

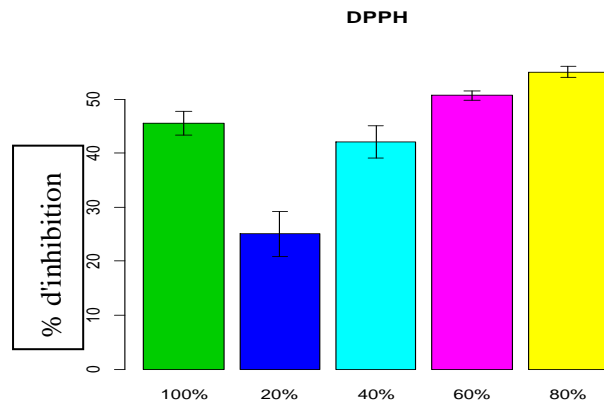


Figure 02.-Effet de la concentration du solvant sur l'activité antioxydante par DPPH.

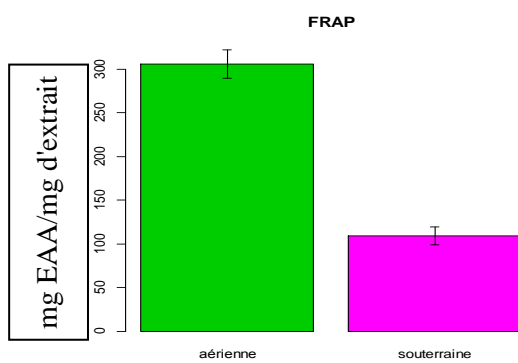


Figure 03.-Effet des parties de la plante étudiée sur l'activité antioxydante par FRAP.

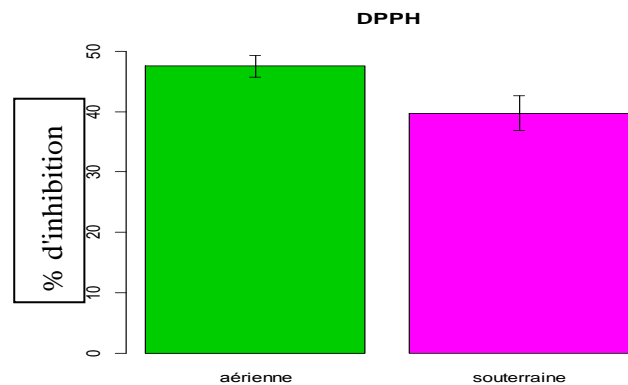


Figure 04.-Effet des parties de la plante étudiée sur l'activité antioxydante par DPPH.

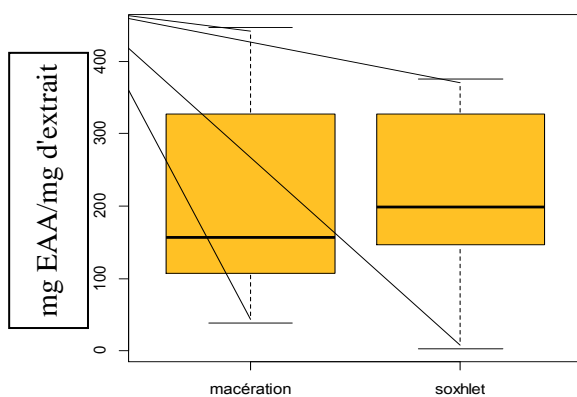


Figure 05.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

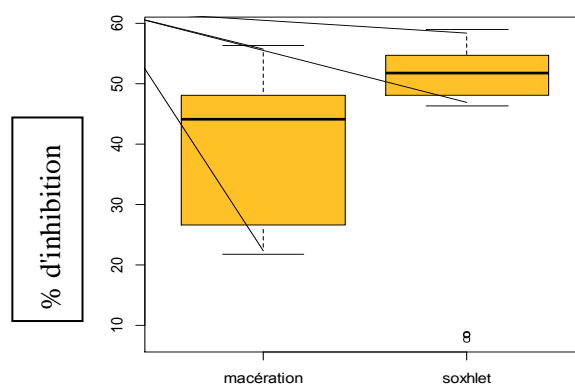


Figure 06.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Annexe 03: Effet du nombre des cycles d'extraction

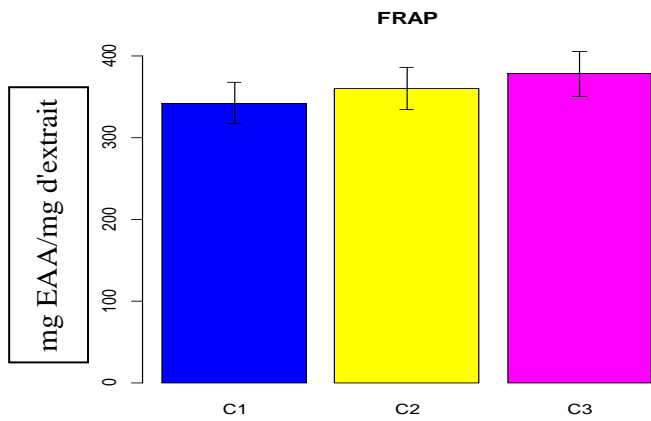


Figure 01.-Effet de nombre des cycles d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

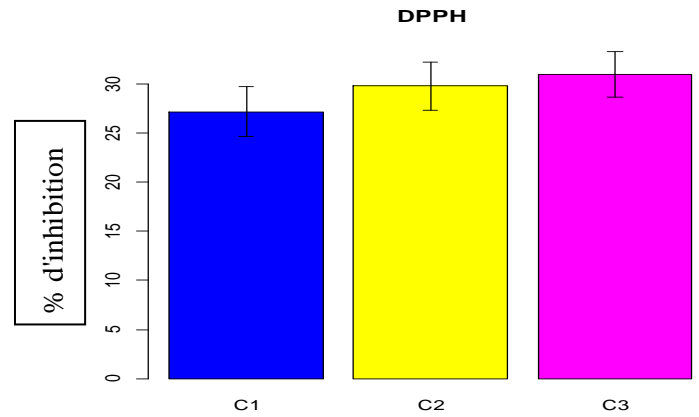


Figure 02.-Effet de nombre des cycles d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

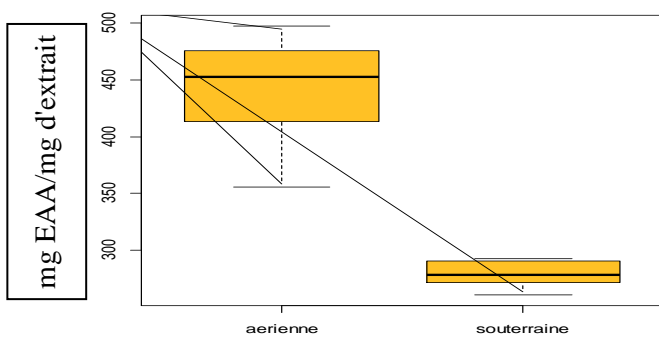


Figure 03.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par FRAP.

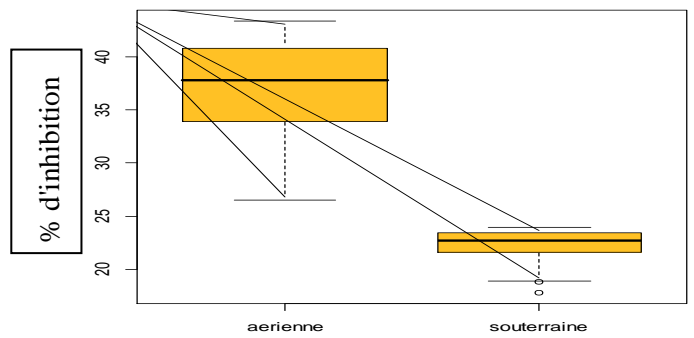


Figure 04.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par DPPH.

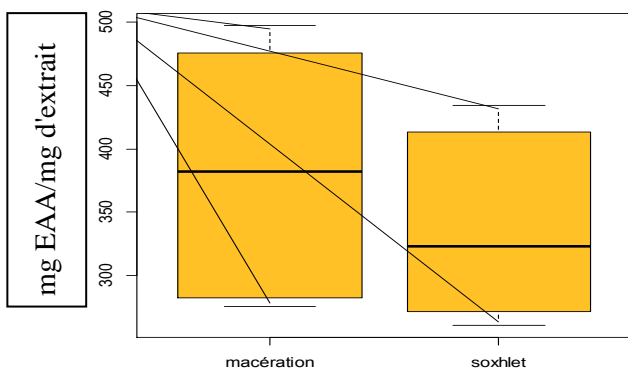


Figure 05.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

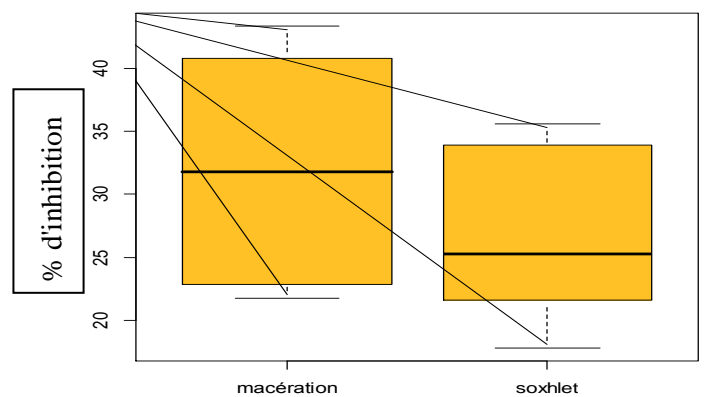


Figure 06.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Annexe 04: Effet de la durée d'extraction

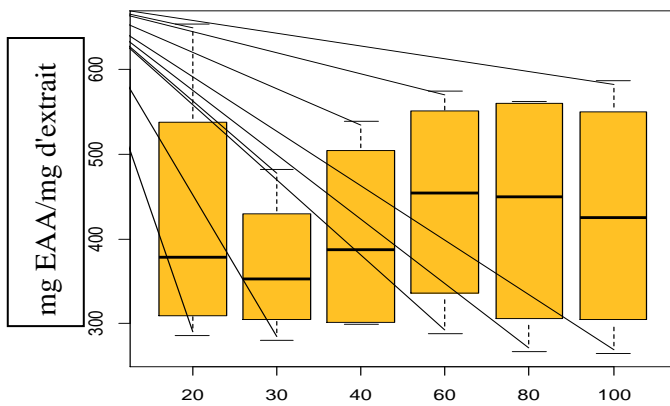


Figure 01.-Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

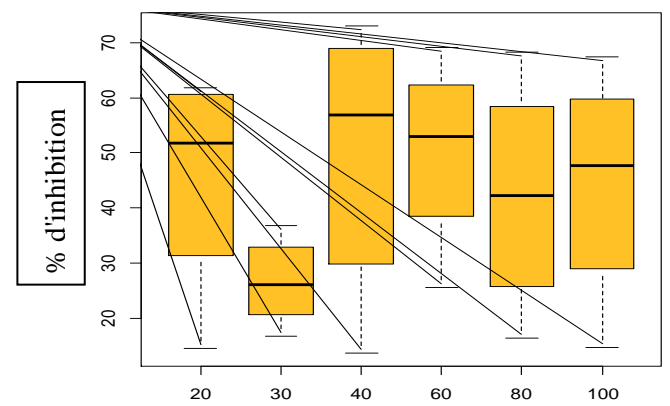


Figure 02.-Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

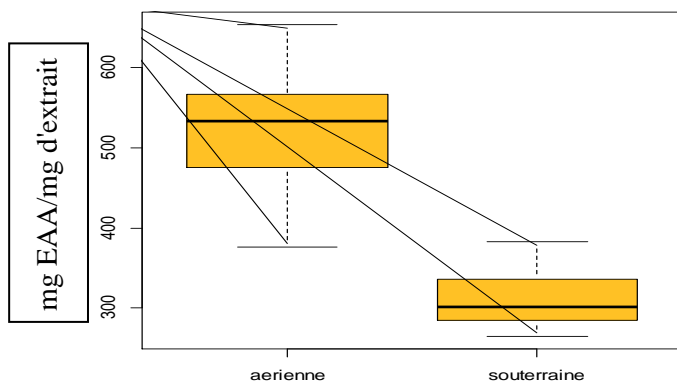


Figure 03.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par FRAP.

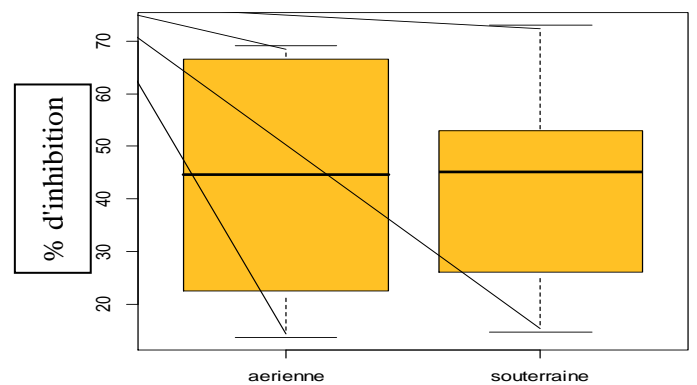


Figure 04.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par DPPH.

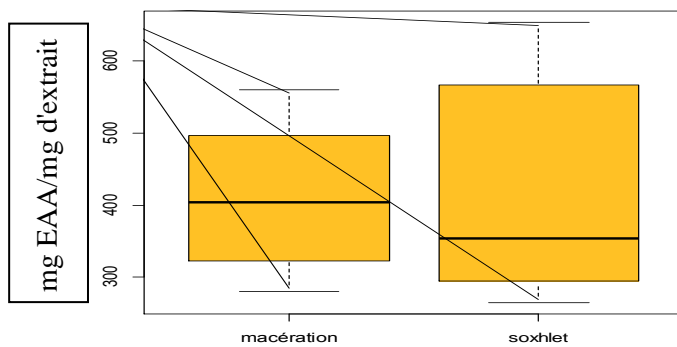


Figure 05.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par selon FRAP.

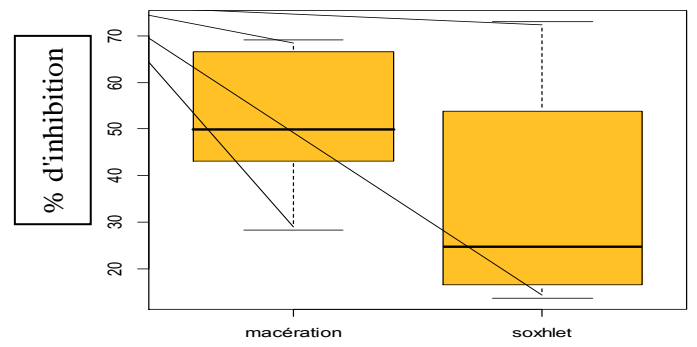


Figure 06.-Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

Annexe 05: Effet de la température d'extraction

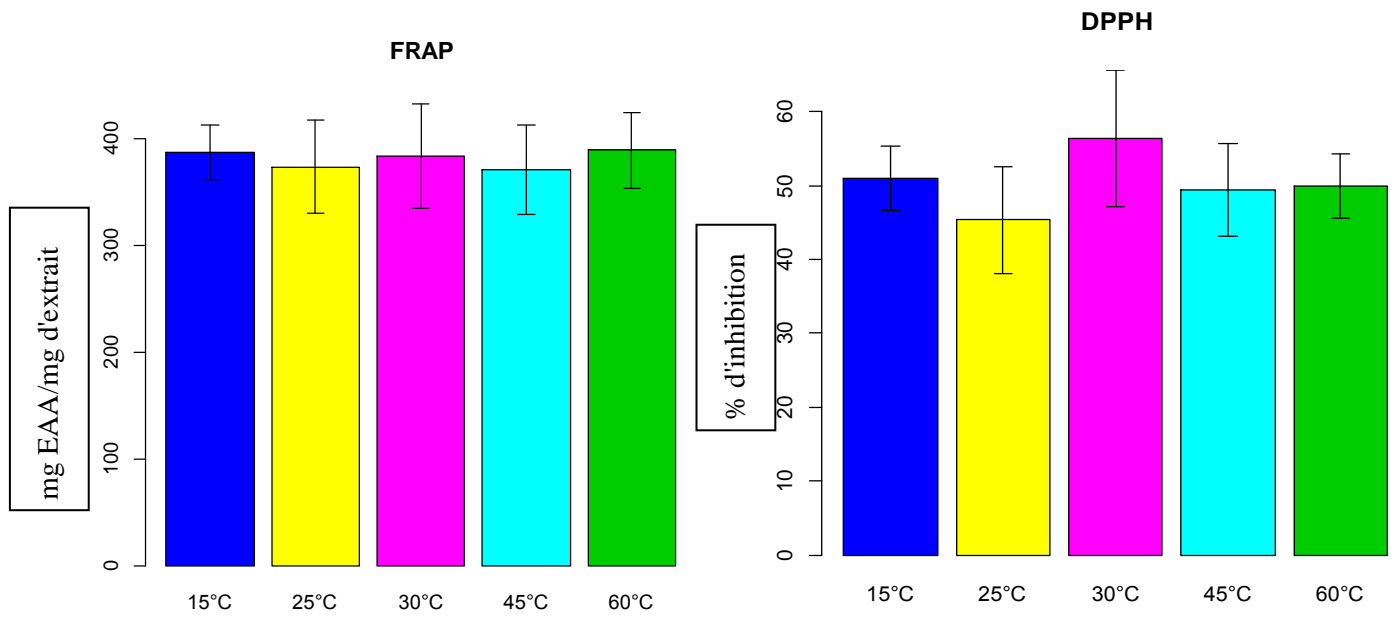


Figure 01.-Effet de la température d'extraction sur l'activité antioxydante par FRAP.

Figure 02.-Effet de la température d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.

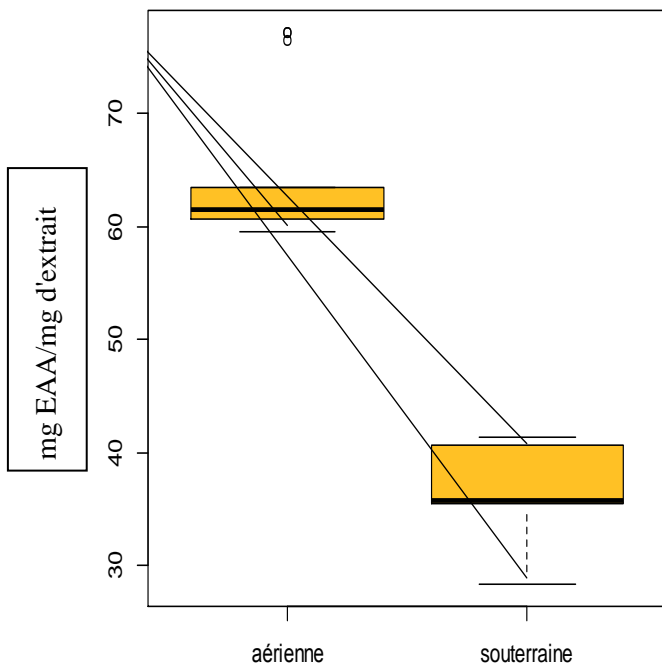


Figure 03.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par FRAP.

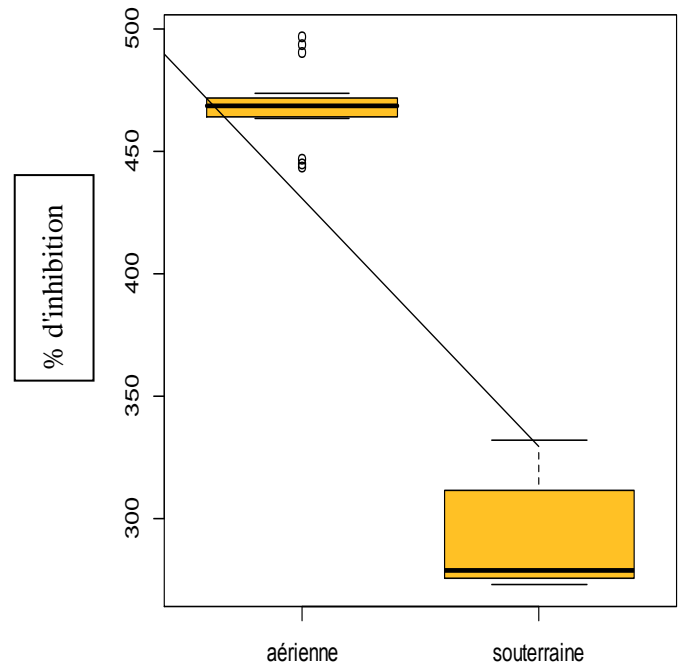


Figure 04.-Effet des parties de la plante sur l'activité antioxydante par DPPH.

Annexe 06 : matrice de corrélation

Tableau 01-Matrice de corrélation de l'effet de type de solvant.

	TPC	TF	FRAP	DPPH
TPC	1,000	0,808	0,714	0,413
TF	0,808	1,000	0,740	0,384
FRAP	0,714	0,740	1,000	0,596
DPPH	0,413	0,384	0,596	1,000

Tableau 02-Matrice de corrélation de l'effet de la concentration du solvant.

	TPC	TF	FRAP	DPPH
TPC	1,000	0,598	0,847	0,881
TF	0,598	1,000	0,556	0,637
FRAP	0,847	0,556	1,000	0,680
DPPH	0,881	0,637	0,680	1,000

Tableau 03-Matrice de corrélation de l'effet du nombre des cycles.

	TPC	TF	FRAP	DPPH
TPC	1,000	0,801	0,934	0,930
TF	0,801	1,000	0,763	0,726
FRAP	0,934	0,763	1,000	0,990
DPPH	0,930	0,726	0,990	1,000

Tableau 04-Matrice de corrélation de l'effet de la durée d'extraction.

	TPC	TF	FRAP	DPPH
TPC	1,000	0,799	0,844	0,130
TF	0,799	1,000	0,910	-0,080
FRAP	0,844	0,910	1,000	-0,005
DPPH	0,130	-0,080	-0,005	1,000

Tableau 05-Matrice de corrélation de l'effet de la température

	TPC	TF	FRAP	DPPH
TPC	1,000	0,601	0,679	0,657
TF	0,601	1,000	0,966	0,944
FRAP	0,679	0,966	1,000	0,969
DPPH	0,657	0,944	0,969	1,000

Tableau 06- Matrice de corrélation des meilleurs extraits

	TPC	TF	DPPH	antihémolyse
TPC	1,000	0,821	0,684	-0,890
TF	0,821	1,000	0,191	-0,616
DPPH	0,684	0,191	1,000	-0,603
antihémolyse	-0,890	-0,616	-0,603	1,000

Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien

Résumé

Ce travail consiste en premier lieu à extraire les composés phénoliques des parties aériennes et souterraines d'une plante médicinale, endémique au Sahara algérien issue de la région de Tamanrasset : *Salvia chudaei* (Lamiaceae). Cette plante a été soumise à deux types d'extractions (soxhlet et macération) avec une optimisation des conditions d'extraction (solvant, concentration, nombre de cycle, temps et température). Les meilleurs extraits choisis en fonction de la capacité antioxydante (FRAP et DPPH) sont enregistrés par l'éthanol à 80% après trois cycles et une durée de 100 min pour la partie aérienne et à 20 min pour la partie souterraine par soxhlet, alors que pour la macération l'extraction se fait durant 60 min à 30°C pour la partie aérienne et à 15°C pour la partie sous-terrainne. En deuxième lieu, nous avons évalué l'activité antioxydante (DPPH) et anti-hémolyse de ces extraits. Les extraits de la macération ont montré une forte activité antioxydante, cependant l'extrait de la partie souterraine par macération représente la bonne activité anti-hémolyse.

Mots clés : *Salvia chudaei*, composés phénoliques, méthodes d'extraction, activité antioxydante, activité anti-hémolyse.

تحديد الظروف استخلاص المركبات الفينولية لنبتة طبية من جنوب الصحراء الجزائرية

ملخص

من جنوب الصحراء يهدف هذا العمل أولاً لإستخراج المركبات الفينولية من الأجزاء الهوائية وال سفلية لنبتة طبية، soxhlet(العائلة الشفوية)، التي تعرضت لنوعين من طرق استخراج (*Salvia chudaei*) :الجزائرية في منطقة تمنراست أفضل المستخلصات المختارة والنقع) مع دراسة لظروف الاستخراج (المذيبات، التركيز، عدد الهورات، الوقت ودرجة الحرارة) تم تسجيلها من قبل الإيثانول 80٪، ثلاث دورات ومدة 100 دقيقة (DPPH) و (FRAP) على أساس القدرة المضادة للأكسدة عند 30 درجة ، في حين الاستخراج بطريقة النقع تم خلال 60 دقيقةsoxhletللجزء الهوائي و 20 دقيقة للجزء السفلي بطريقة والمضاد لإنحلال (DPPH) ثانياً، من أجل تقييم النشاط المضاد للأكسدة . مئوية للجزء الهوائي و 15 درجة مئوية للجزء السفلي أظهرت مستخلصات النقع نشاط قوي مضاد للأكسدة ، ولكن مستخلص الجزء ال سفلي بللنقع يمثل . الدم لهذه المستخلصات المضاد الجيد للانحلال الدم.

، المركبات الفينولية، طرق استخراج، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد لانحلال الدم*Salvia chudaei*: **مفتاحية كلمات**

Optimization of extraction conditions of phenolic compounds from a medicinal plant in the southern region of the Algerian Sahara

Abstract

This job is primarily to remove phenolic compounds of the aerial and the underground parts of a medicinal plant, endemic to the Algerian Sahara issue in the region of Tamanrasset: *Salvia chudaei* (Lamiaceae), which was subject to two types of extraction (soxhlet and maceration) with optimization of the extraction conditions (solvent, concentration, number of cycles, time and temperature). The best extracts selected based on the antioxidant capacity (FRAP and DPPH) are recorded by ethanol 80% after three cycles and a period of 100 min for the aerial part and 20 min for the underground part by soxhlet, while for maceration extraction is done for 60 min at 30°C for the air portion and 15°C for the underground part. In the second stage, it is to evaluate the antioxidant activity (DPPH) and anti-hemolysis of these extracts. Extracts of maceration showed strong antioxidant activity, however the extract of the underground part by maceration represents as good anti-hemolysis activity.

Keywords: *Salvia chudaei*, phenolic compounds, methods of extraction, antioxidant activity, anti hemolysis activity.