



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

N série :

Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمى لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des sciences de la nature et de vie

قسم البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences

Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Contribution à la caractérisation biologique des fractions de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaie*

Présenté par:

BA Khaoula et SETTOUR Hadjer

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} .Houmri Naouel . M.A.A, Université d'El Oued.

Examinatrice : M^{lle} . Allouche Djenette . M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : Mr. Tlili M L. M.B.A, Université d'El Oued.

- Année universitaire 2017/2018-

Remerciement

Avant de commencer nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir donné le courage, la patience et la chance d'étudier et suivre de chemin de la science.

Nous tenons en premier lieu à remercier notre encadreur TLILI Mohammed Laid, maitre-assistant à l'université d'El-Oued pour nous avoir fait confiance, son disponibilité et pour avoir nous orienter avec justesse tout au long de notre cheminement, son patience, ses encouragements et ses conseils. Nous soulignons particulièrement son sens de la pédagogie et son humanisme.

Nous tenons à exprimer mes vifs remerciements à M^{me}. Houmri Naouel Maitre-assistante à l'université d'El-Oued , pour l'honneur qu'il mes fait de présider le jury de ce mémoire.

Mes remerciements vont aussi à M^{lle}. Allouche Djenette maitre-assistante à l'université d'El-Oued pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université d'El-Oued, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en BIOCHIMIE. Notre remerciements vont également à tous les membres des Laboratoires biochimique .

Très grande merci pour toutes les personnes de tous les étudiants de BIOCHIMIE

Dédicace



*Je m'incline devant dieu le tout- puissant qui
m'a ouvert la porte du savoir m'a aidé à la
franchir.*

Je dédie ce modeste travail :

*A ma chère et tendre mère **Nadjma**, source
d'affection de courage et d'inspiration
qui autant sacrifié pour me voir attendre ce
jour.*

A mes frères et à mes sœurs

A tous mes chère amies

*A toute la famille **Settour***

*A mes chères collegues en master
biochimie applique*

Hadjer

Dédicace

*Au nom du **DIEU** clément et miséricordieux qui termine par leur aubaine tout les travaux et que le salut de **DIEU** soit sur son prophète*

MOHAMED

Je dédie ce modeste travail :

*A mes parents **lakhdare** et **Yamna** qui ceux donnent l'énergie et la résistance pour termine cette étape dans ma vie.*

A mes sœurs et a mes frères

*A mon fiancé "**Chaouki**"*

*A ma famille maternelle "**Ba**" et "**Baha**"*

A mes collègues de cours de ma classe 2ème année master biochimie applique surtout

*"**Maroua**", "**Maissa**" et "**Hadjer**"*

*A tous mes amis surtout "**Salha**"*

A vous par tous

Khaoula



Résumé

Résumé

Le travail effectué constitue une contribution à la caractérisation d'une plante médicinale du Sahara méridional algérien. Il a permis la mise en évidence de l'activité biologique des fractions de l'extrait éthanolique *Salvia chudaie* (Lamiaceae) de la région de Tamanrasset.

L'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia chudaie* a été soumis à fractionnement à grand échelle par chromatographie sur colonne par des solvants de polarité croissante, nous avons obtenues des 21 fractions.

L'analyse chromatographique par le CCM et la comparaison des profils phénoliques de ces fractions montre la richesse et la diversité en composés phénoliques.

Les teneurs des phénols totaux et des flavonoïdes des fractions étudiées ont été réalisée par méthode de colorimétrie. Celle-ci nous a permis de confirmer que les fractions à faibles polarité sont les plus riches en composés phénoliques de l'ordre de 279.1 ± 7.78 mg EAG/g pour les polyphénols et de 12.2 ± 0.01 mg EAG/g pour les flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant de méthode ; le piégeage du radical libre DPPH, a révélé une réponse antioxydante considérable. Il est clair que les produits obtenus après cette première purification ont une meilleure activité que celle observée dans l'extrait brut et la fraction F9 est le plus actif de l'ordre de 1.736 ± 0.501 mg/ml.

Mots clés : *Salvia chudaie*, chromatographie sur colonne, CCM, polyphénols, Activité antioxydant.

الملخص

ان العمل المنجز هو مساهمة في تثمين بعض النباتات الطبية في الصحراء الجنوبية الجزائرية. وقد سمح بتحديد النشاط البيولوجي لمستخلص الايثانولي ل *salvia chudaei* حصدت من منطقة تمنراست.

المستخلص الايثانولي للجزء الخارجي من *salvia chudaei* خضع لعملية تجزئة على نطاق واسع بواسطة كروماتوغرافيا العمود مع مذيبات ذات قطبية متزايدة ، فتحصلنا على 21 كسرا .

التحليل بكروماتوغرافيا العمود ومقارنة خصائص الفينول من هذه الكسور دل على ثرائها وتنوعها بالمركبات الفينولية.

تم اجراء تحليل لوني للفينولات والفلافونويدات للكسور المدروسة ، وقد مكن من التأكد بان الكسور ذات القطبية المنخفضة هي الاغنى بالمركبات الفينولية ترتيبيا : البوليفينول، الفلافونويد $7,78 \pm 279,1$ mg EAG/g ، $12,2 \pm 0,01$ EAG/g

كما تم دراسة نشاط مضادة الاكسدة باستخدام الاختبار DPPH التي كشفت استجابة مضادة الاكسدة، ومن الواضح ان المنتجات التي تم الحصول عليها بعد هذا الاختبار لديها نشاط افضل، لوحظ ان الكسر f9 هو الجزء الاكثر نشاطا $1,736 \pm 0,501$ mg/g .

الكلمات المفتاحية : *salvia chudaei*، كروماتوغرافيا العمود، بوليفينول، مضادة الاكسدة.

Abstract

The work done is a contribution to the characterization of a medicinal plant in the southern Algerian Sahara. It allowed the demonstration of the biological activity of the fractions of the ethanolic extract *Salvia chudaiei* (Lamiaceae) from the region of Tamanrasset.

The ethanolic extract of the aerial part of *Salvia chudaie* was subjected to fractionation on a large scale by column chromatography with solvents of increasing polarity, we obtained 21 fractions.

CCM chromatographic analysis and comparison of the phenolic profiles of these fractions shows the richness and diversity of phenolic compounds.

The contents of the total phenols and flavonoids of the fractions studied were carried out by colorimetric method. This allowed us to confirm that the fractions with low polarity are the richest in phenolic compounds of the order of 279.1 ± 7.78 mg EAG / g for the polyphenols and 12.2 ± 0.01 mg EAG / g for the flavonoids.

Evaluation of antioxidant activity using method; trapping of the free radical DPPH, revealed a considerable antioxidant response. It is clear that the products obtained after this first purification have a better activity than that observed in the crude extract and the F9 fraction is the most active of the order of 1.736 ± 0.501 mg / ml.

Key words : *Salvia chudaie*, column chromatography, CCM, polyphenols, Antioxidant activity.

Liste des abréviations

Phase mobile 1: Dichlorométhane/Méthanol (90:10) (v/v)

Phase mobile 2: Butanol/acide acétique/eau (12:3:5) (v/v/v)

DPPH : Diphényl picryl hydrazyl

R : rendement

MF : masse de fraction après évaporation du solvant

ME: la masse d'extrait éthanolique

CCM: chromatographie sur couche mince

CC : chromatographie sur colonne

R_f : le rapport frontal

EQ : équivalent de quercétine

EAG : équivalent d'acide gallique

IC₅₀ : concentration inhibitrice de 50%

Vit c : vitamine C (Acide ascorbique)

MeOH : méthanol

Abs : absorbance

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	<i>Salvia chudaei</i> .	12
Figure 02	Feuilles de <i>Salvia chudaei</i> .	13
Figure 03	Fleurs de <i>Salvia chudaei</i> .	13
Figure 04	Répartition de <i>Salvia chudaei</i> dans les montagnes sahariennes	14
Figure 05	Exemples structurales de polyphénols.	16
Figure 06	Structure du 2-phényle chromane	18
Figure 07	Structure générale des Flavonoïdes	18
Figure 08	Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes	19
Figure 09	Chromatographie sur colonne	27
Figure 10	Etape de stabilisation de phase stationnaire	28
Figure 11	l'extrait éthanolique dans la colonne.	29
Figure 12	Principe de chromatographie sur couche mince CCM.	32
Figure 13	Chromatogramme des fractions d'extrait éthanolique de <i>Salvia chudaei</i> .	47
Figure 14	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	48
Figure 15	Résultat des teneurs en polyphénols totaux.	48
Figure 16	Courbe étalonnage quercétine pour le dosage de flavonoïde.	49
Figure 17	Résultat des teneurs en flavonoïdes	50
Figure 18	Les résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH des différents fractions.	51

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Utilisations de quelques espèces du genre <i>Salvia</i> .	08
Tableau 02	Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre <i>Salvia</i>	11
Tableau 03	Classification des composés phénoliques	16
Tableau 04	Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes	20
Tableau 05	Pourcentages d'élution du système Dichlorométhane-MeOH.	30
Tableau 06	Systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.	32
Tableau 07	Résultats de chromatographie sur colonne de l'extrait éthanoïque de <i>Salvia chudaei</i> .	35
Tableau 08	Résultats de CCM des d'extrait éthanolique brute et de quiritine.	37
Tableau 09	Résultats de CCM des fractions à 100% Dichlorométhane.	38
Tableau 10	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (95% : 5%).	38
Tableau 11	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (90% : 10%).	39
Tableau 12	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (80% : 20%).	40
Tableau 13	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (70% : 30%).	41
Tableau 14	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (60% : 40%).	42
Tableau 15	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (50% : 50%).	43
Tableau 16	Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (25% : 75%).	44
Tableau 17	Résultats de CCM des fractions à 100% MeOH.	45
Tableau 18	Résultats de CCM des fractions à 100% Eau.	46

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
résumés	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur l'espèce <i>Salvia chudaie</i>	04
I.1.1.Famille des Lamiaceae	04
I.1.1.1.Présentation	04
I.1.1.2. Intérêt nutritionnel et pharmacologique	05
I.1.1.3.Chimie des Lamiaceae	05
I.1.1.4.Toxicité	05
I.1.2. Genre <i>Salvia</i>	06
I.1.2.1. Présentation	06
I.1.2.2. Description des plantes de genre <i>Salvia</i>	06
I.1.2.3. Utilisation traditionnelle de plante du genre <i>Salvia</i>	07
I.1.2.4. Propriétés pharmacologiques des espèces de genre <i>Salvia</i>	09
I.1.2.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle	09
I.1.2.4.2. Effets pharmacologiques	10
I.1.3. Espèce : <i>Salvia chudaie</i> Battandier&Trabut	12
I.1.3.1. Position systématique	12
I.1.3.2. Répartition géographique	13

I.1.3.3. Utilisation traditionnelle	14
Chapitre 2 : Généralités sur les composés phénoliques.....	15
I.2.1. Les polyphénols	15
I.2.1.1. Généralités	15
I.2.1.2. Classification des composés phénoliques	16
I.2.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques	17
I.2.1.4. Les flavonoïdes	17
I.2.1.4.1. Généralités	17
I.2.1.4.2. Structure chimique et classification	18
I.2.1.4.3. Biosynthèse des flavonoïdes	20
I.2.1.4.4. Localisation et distribution	20
I.2.1.4.5. Quelques propriétés des flavonoïdes	21
I.2.1.4.6. Activités biologiques des flavonoïdes	22
I.2.1.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques	22
I.2.1.6. Rôle des polyphénols dans les plantes	23

PARTIE II :PARTIE PRATIQUE

Chapitre 1 : Matériel et méthodes.....	25
II.1.1 Matériels	25
II.1.1.1. Matériel végétal	25
II.1.1.2. Matériels de laboratoire	25
II.1.1.3. Produits chimiques.....	25
II.1.2. Méthodes	26
II.1.2.1. Analyse chromatographique des extraits	26

II.1.2.1.1. Par chromatographie sur colonne	26
II.1.2.1.1.1 Mode d'opération	27
II.1.2.1.1.2. Détermination de rendement	31
II.1.2.1.2. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)	31
II.1.2.1.2.1. Principe	31
II.1.2.1.2.2. Mode opératoire	32
II.1.2.1.2.3. Révulation	33
II.1.2.1.2.4. Le rapport frontal Rf	33
II.1.2.2 Analyse quantitative	33
II.1.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux	33
II.1.2.2.2. Dosage de flavonoïdes	34
II.1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH)	34
Chapitre 2 : Resultats et discussions.....	35
II.2.1. Analyse chromatographique des extraits	35
II.2.1.1. Chromatographie sur colonne (CC)	35
II.2.1.2. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)	36
II.2.1.2.1. Analyse par CCM des fractions à 0% méthanol	38
II.2.1.2.2. Analyse par CCM des fractions à 05% et 10% méthanol	38
II.2.1.2.3. Analyse par CCM des fractions à 20% methanol	40
II.2.1.2.4. Analyse par CCM des fractions à 30 % méthanol	41
II.2.1.2.5. Analyse par CCM des fractions à 40 % méthanol	42
II.2.1.2.6. Analyse par CCM des fractions à 50% méthanol	43
II.2.1.2.7. Analyse par CCM des fractions à 75% méthanol	44
II.2.1.2.8. Analyse par CCM des fractions à 100% méthanol	45

II.2.1.2.9. Analyse par CCM des fractions aqueuse	46
II.2.2. Analyse quantitative	48
II.2.2.1. Dosage de polyphénols	48
II.2.2.2. Dosage de flavonoïdes	49
II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH)	51
Conclusion générale	54
Références bibliographiques.....	57
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 (**Hammodi, 2015**). 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**).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique en général, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que les principes actifs sont étudiés depuis plusieurs années (**Ouldel hadj et al., 2003**). Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures, dont une partie reste utilisée par les populations comme plantes médicinales. Tamanrasset est une région montagneuse du Sahara méridional algérien, où les plantes médicinales suscitent un intérêt aussi bien par les habitants que par les scientifiques (**Benchelah et al., 2004**).

Espèce *Salvia chudaei* 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 rocaillieux citez déjà (**Roanne et al., 1935 ; Jean-pierre, 2001**). Plusieurs espèces de *Salvia* ont une importance économique en raison de leurs utilisations dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (**Bahadori et al., 2015**).

Le règne végétal représentant une source importante d'une grande variété de molécules bioactives, elles ont été mises à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

Les polyphénols, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (**Bruneton, 2009**).

Notre travail s'articule autour de l'étude phytochimique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante des fractions préparées.

Cette étude a été divisée en deux parties, dans la première partie nous présentons une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier concerne la description de la plante *Salvia chudaei* et le deuxième chapitre englobe les généralités sur les composés phénoliques.

La deuxième partie est expérimentale consacrée à la présentation des travaux personnels, elle est divisée en deux chapitres, dans le premier chapitre décrit les matériels et les méthodes utilisées dans ce travail qui portent sur : fractionnement des extraits éthanoliques par chromatographie sur colonne et analyse des fractions par chromatographie sur couche mince (CCM) ; Détermination de la teneur de polyphénols totaux et de flavonoïdes et évaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH.

Dans le dernier chapitre, résultats et discussion et enfin une conclusion.



PARTIE I :
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. Généralités sur l'espèce
Salvia chudaie

Chapitre 1. Généralités sur l'espèce *Salvia chudaei*

I.1.1. Famille des Lamiaceae

I.1.1.1. Présentation

La famille des Lamiaceae (labiées) du Latin (Labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghibi *et al.*, 2005).

Comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres. Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes. Et ceci par les particularités de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en général, opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, les fleurs pentamères. Sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne. Cette famille est donc caractérisée par :

- Une corolle gamopétale irrégulière à deux lèvres, la supérieure formée de deux pétales, l'inférieure de trois;
- Quatre étamines dont deux plus longues;
- Ovaire de deux carpelles recoups par une cloison et comprenant ainsi quatre loges à une graine chacun (tétra chaîne) ;
- Des feuilles opposées et, souvent, une tige de section carrée. (Hammoudi, 2015).

Ces caractères varient selon les genres : corolle presque régulière (*Mentha*) ou uni-labiée (*Teucrium*); deux étamines (*Salvia*) (Ozenda, 1977). Elles sont surtout des plantes méditerranéennes (Hammoudi, 2015), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues (Ozenda, 1977). La famille des Lamiaceae est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (Quezel et Santa, 1963).

I.1.1.2. Intérêt nutritionnel et pharmacologique

Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales du monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie du bois (*Tecton*). En culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre Savory (*Satureja hortensis*), crosne de *Tubifera*, *Salvia* et *Coleus* (**Hammoudi, 2015**).

Notons également que plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (**Naghibi et al., 2005**). Plusieurs travaux, réalisés *in vitro* et *in vivo*, rapportent des résultats intéressants pour certaines molécules antioxydante d'origine végétale telles que les dicatéchols, la curcumine, les tri terpènes penta cycliques et les flavonoïdes.

Dans la pharmacopée traditionnelle africaine, les plantes de la famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétique, anti-syphilitique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique et dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux ou encore le météorisme (ballonnement du ventre, dû à des gaz). De nombreuses espèces de cette famille ont confirmé leur intérêt pharmacologique dans la littérature (**Hasani et al., 2007., Gabrieli et al., 2005**).

I.1.1.3. Chimie des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae est très étudiée du point de vue chimique, ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, telles que les huiles essentielles, les terpenoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Naghibi et al., 2005**).

I.1.1.4. Toxicité

La plante peut être toxique sous toutes ses formes fraîche et sèche, jeune ou en fleur (**Ozenda, 1977**). Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (concentration) concernent principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation. Ces expositions se fait par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante augmenter l'asthme

chez les populations sensibles). Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer (**Khenfer et Medjouel, 2014**).

I.1.2. Genre *Salvia*

I.1.2.1. Présentation

Salvia vient du mot latin "Salvare", qui veut dire : Guérir, sauver. C'est une plante magique qui sauve des vies humaines (**Fellah et al., 2006**). Le genre *Salvia* (Sauge) fait partir des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (**Quezel et Santa, 1963**). Ce sont des Arbustes ou des plantes herbacées, calice bilabiées, variable à lèvres supérieures tridentées, et à lèvres inférieures bidentées, corolle bilabée, étamine 2 à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court une écaille ou bien terminée en pointe (**Hammoudi, 2015**).

I.1.2.2. Description des plantes de genre *Salvia*

Le genre *Salvia* (la sauge) d'origine méditerranéenne de la famille des labiées. Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (**Kabouche, 2005**) et 23 espèces en Algérie (**Khenfer et Medjouel, 2014**). Ce sont des arbustes ou des plantes herbacées elle peut être annuelle, bisannuelle ou vivace selon l'espèce. Le calice est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabée. Elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe (**Kabouche, 2005**). La tige de 20 à 30 cm est très rameuse, feuilles opposées (**Khenfer et Medjouel, 2016**).

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicaux et culinaires multiples (**Abeiri, 2007**).

I.1.2.3. Utilisation traditionnelle de plante du genre *Salvia*

L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle. En effet *Salvia* en latin signifie guérir et "salvare" qui veut dire sauver. *Salvia* a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines (**Kabouche, 2005**). La sauge est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche (les aphtes, les gingivites, l'amygdalite et l'ulcère ...), les abcès, et aussi pour la cicatrisation des plaies. Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies comme la circulation sanguine. Cette plante aromatique est employée dans la cuisine pour son goût puissant légèrement amer et camphré.

Elle est utilisée dans la prise en charge de différents problèmes digestifs : ballonnements épigastriques, digestion lente, renvois et flatulences. Aussi comme antibactérien, antiviral, anti tumoral, antispasmodique, antioxydant, calmante, céphalique, fébrifuge, les traitements anti-inflammatoires et des troubles mentaux et nerveux. Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique et pour des raisons encore mystérieuse. Elle semblerait efficace contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, et contre l'hypersudation nocturne, notamment lorsqu'elle est liée à la ménopause (**Tableau 01**) (**Khenfer et Medjouel, 2016**).

Tableau 01: Utilisations de quelques espèces du genre *Salvia*.

Espèce	Utilisations
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Traiter des affections causées par les troubles circulatoires (l'utérus : aménorrhées, règles douloureuses et fibromes). L'angine de poitrine, aggravée par l'angoisse et les très présente en cas d'irritabilité et d'insomnies. Pour évacuer «la chaleur excessive », particulièrement celle du cœur et du foie. La racine et la pousse est utilisé pour la suppression de la stase sanguine, soulager les inflammations cutanées (la douleur, abcès, les furoncles et les ulcères), la promotion de la menstruation, tranquilisant le cerveau et le traitement des maladies cardio-vasculaires, hépatiques, rénales et cérébro-vasculaires (Kabouche, 2005) .
<i>Salvia officinalis</i>	Arômes. Remède efficace en gargarisme. Elle peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer et a une activité tranquillisante, antiseptique et astringente. Régularise le cycle menstruel, la transpiration, les bouffées de chaleur et modification shormonales. Les feuilles séchées à fumer contre l'asthme, morsures, piqûres, diarrhées, sueurs nocturnes, Aphtes et angines. Une décoction de racines est utilisée en cas de maladies cardiaques et lors de la ménopause (Khenfer et Medjouel, 2014) .
<i>Salvia sclaréa</i>	L'huile essentielle est utilisée comme parfum dans des insectifuges, des insecticides, des traitements intérieurs contre les puces et les tiques pour les animaux domestiques et des désinfectants pour tapis. L'extrait sec utilisé comme agent du conditionnement de la peau pour les applications topiques et les feuilles fraîches sont utilisées dans les soupes pour la toux, la grippe, le nettoyage du sang, sur les blessures, pour les douleurs aux yeux et comme diurétique (Khenfer et Medjouel, 2016) .
<i>Salvia verbenaca</i>	Les feuilles en poudre sont utilisées en cataplasme pour traiter les plaies (Khenfer et Medjouel, 2014) .
<i>Salvia divinorum</i>	Elle est utilisée sous forme d'infusion comme un tonique ou remède pouvant guérir tous les maux. La feuille peut être appliquée sur le front du patient comme un cataplasme. Utilisée contre la diarrhée, l'anémie et les rhumatismes (Khenfer et Medjouel, 2014) .

I.1.2.4. Propriétés pharmacologiques des espèces de genre *Salvia*

I.1.2.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle

Les plantes de ce genre sont célébrées pour ses utilisations traditionnelles dans le traitement de certains des maladies comme le rhume, bronchite, douleurs, infections et hémorragie (**Bahadori et Mirzaei., 2015 ; 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 et al., 2013., et Kamatou, 2008**). Ces espèces possédant des activités biologiques telles que l'activité antioxydante, antidiabétique, antibactérienne, anti-tumorale, antispasmodique, antiseptique et antinflammatoires. En outre, les espèces peuvent être utilisées en tant qu'alternative de conservation des denrées alimentaires traditionnelles (**Abdulhamid et al., 2013 ; Kahraman et al., 2010**). On peut citer quelque exemple de ces espèces :

Les racines de *Salvia miltiorrhiza* et de *S. grandifolia* sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires.

Salvia officinalis : 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. Une décoction de racines est utilisée en cas de maladies cardiaques et lors de la ménopause (**Khenfer et al., 2016**).

Salvia spinosa : 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**).

Salvia fruticosaa des effets sur diverses 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'ostéome musculaires. Elle est également utilisée comme une herbe hypoglycémique et contre les inflammations, l'hépatite et la tuberculose (**Abdulhamid et al., 2013**).

I.1.2.4.2. 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 d'activité antioxydante, anti-ischémie, anti-thrombose, anti-hypertension, anti-fibrose, antivirale et autres (**Khenfer et al., 2016**).

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

Le tableau 02 illustre une liste des activités pharmacologiques, en précisant les molécules présentes dans ces plantes qui ont été testées.

Tableau 02 : Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre *Salvia* (Khenfer et al., 2016).

Espèces	Composés phénoliques	Activités biologiques
<i>Salvia officinalis</i> L.	Acide gallique, Acide caféique, Acide rosmarinique, Acides phénoliques.	Antioxydante
<i>S. africana</i> – <i>caerulea</i>	Acide caféique Acide rosmarinique Acide carnosique	Antioxydante (ABTS, DPPH). Anti-inflammatoire
<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>	Composé sphénoliques	Antioxydante
<i>S. bulleyana</i> , <i>S. campanulata</i> <i>S. castanea</i>	Acide caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique	Antioxydante

I.1.3. Espèce : *Salvia chudaie* Battandier&Trabut

Nom Tamahaq : Awhihat.

Nom vernaculaire (Français) : Sauge sauvage.

Nom arabe : Tagroufte (Hammiche et Maiza, 2006).



Figure 01 : *Salvia chudaie*.

I.1.3.1. Position systématique

La taxonomie de *Salvia chudaie* selon (Quezel et Santa, 1963) :

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

Cette sauge se présente comme un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté. Elle mesure environ 30 à 40 cm de haut et possède des tiges striées très feuillues. Les feuilles sont étroites et allongées, crispées sur la marge. A l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs d'un bleu pâle. La plante entière dégage une odeur puissante et agréable, un peu camphrée (**Ozenda, 1977**).



Figure 02 : Feuilles de *Salvia chudaei*.



Figure 03 : Fleurs de *Salvia chudaei*.

I.1.3.2. 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**) ou dans d'autres régions à sables grossiers. On la rencontre par petites colonies aussi bien en altitude, à Didier ou dans les oueds de l'ouest, qu'au pied du plateau (**Hammoudi, 2015**).

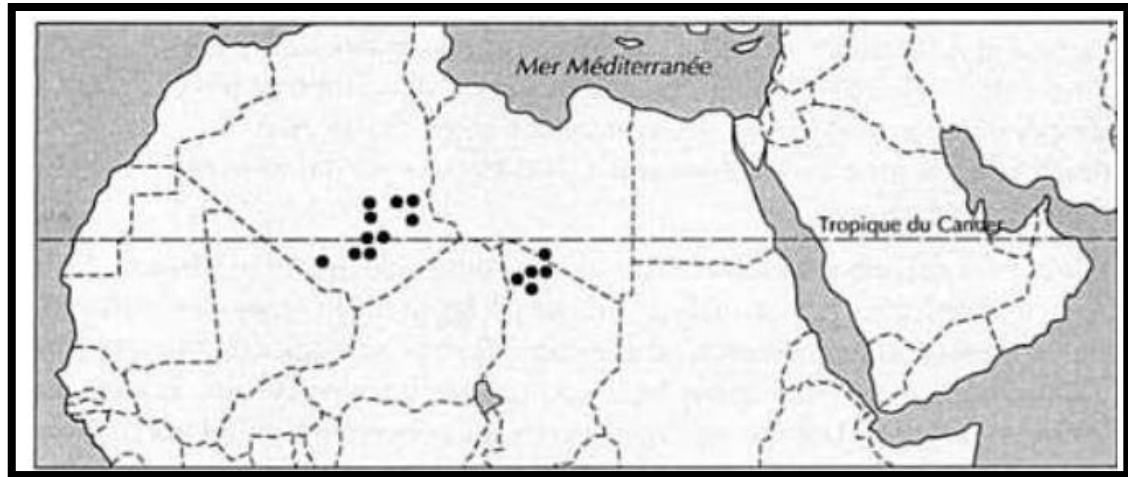


Figure 04 : Répartition de *Salvia chudaei* dans les montagnes sahariennes (Jean-pierre, 2001).

I.1.3.3. Utilisation traditionnelle

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicaux et culinaires multiples. *Salvia chudaei* est utilisée pour les douleurs abdominales, les spasmes et les règles douloureuses, dysménorrhée (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'agri-horticulture (fourrage) (Ozenda, 1977., Hammoudi, 2015).



Chapitre 2 : Généralités sur les composés phénoliques

Chapitre 2. Généralités sur les composés phénoliques

I.2.1. Les polyphénols

I.2.1.1. Généralités

Le terme « *poly phénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions sphénols (**Kebbab, 2014**). Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante (**Lehout et Laib, 1015**).

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (**Bruneton, 1999**). Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (**Nkhili, 2009**).

Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans la physiologie de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), dans les mécanismes de défenses de la plante (interactions biotiques et abiotiques) ou en corduans la coloration des fleurs. Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (**Michel, 2011**).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Macheix et al., 2005**). Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (**Tlili, 2015**).

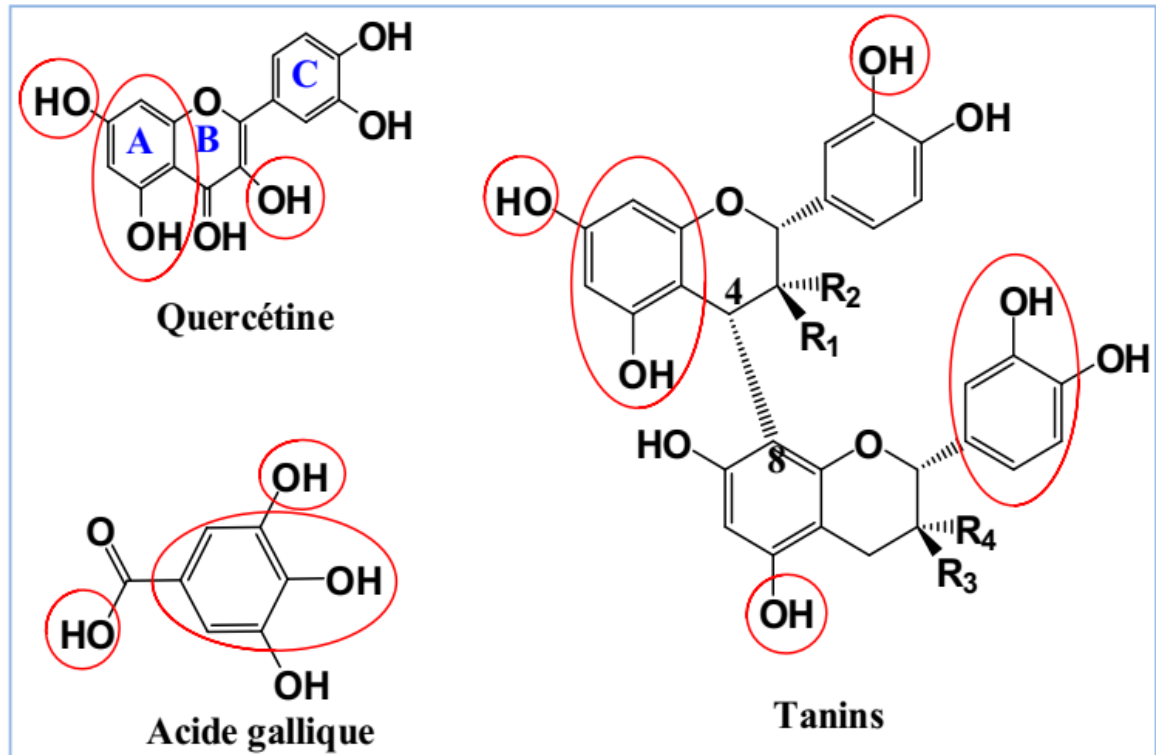


Figure 05 : Exemples structurales de polyphénols.

I.2.1.2. Classification des composés phénoliques

La classification de ces substances a été proposée par HARBORNE., 1980. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (Aref et Heded, 2015).

Tableau 03: Classification des composés phénoliques (Belguidoum, 2012)

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides phénoliques et composés dérivés
C6-C2	Acétophénone et acides phénylacétiques
C6-C3	Acides cinnamiques, coumarines, isocoumarines, chromones
C15	Flavanols, flavanones, flavonols, flavonones, anthocyanines et anthocyanidines

C30	Biflavonyles
C6–C1–C6, C6–C1–C6	Benzophénones, xanthones et stilbéne
C6, C10, C14	Quinones
C18	Bétacyanines
Lignanes , neolignanes	Dimères ou oligomères
Lignine	Polymères
Tanins	Condensé et hydrolysable

I.2.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétique:

a. La voie de Shikimate

La voie de shikimate : C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Laaboudi, 2012).

b. La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (Harrar, 2012).

I.2.1.4. Les flavonoïdes

I.2.1.4.1. Généralités

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Berkal et Bouchama, 2016).

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Laraba et al., 2016).

Les flavonoïdes ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Harrar, 2012).

I.2.1.4.2. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane. Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Boudjouref, 2011).

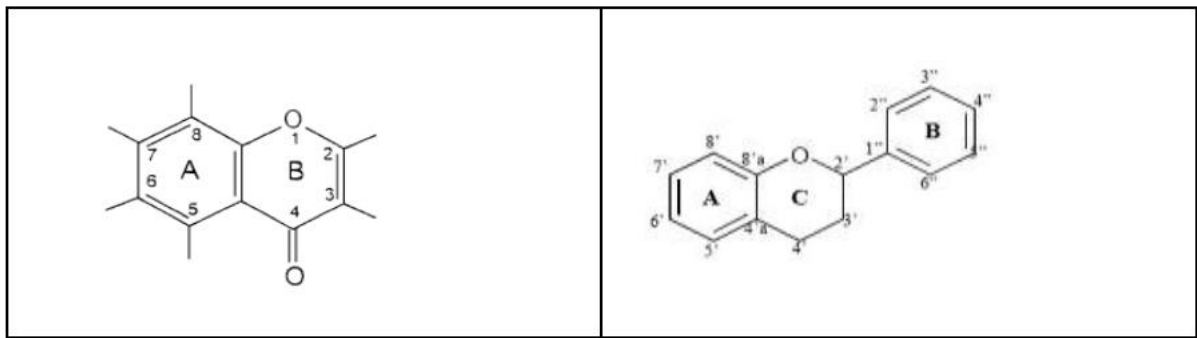


Figure 06 : Structure du 2-phénylchromane (Zeghouane, 2014)

Figure 07 : Structure générale des Flavonoïdes (Zeghouane, 2014)

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Boudjouref, 2011).

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes, et la liste ne cesse de croître. C'est à cause de l'apparition de nombreux modèles de substitution ; les substituants primaires (groupe hydroxyle) peuvent eux-mêmes être substitués (glycolyses ou acylés) donnant parfois des structures très complexes. Les principales classes des flavonoïdes sont

: les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle (**Boubekri, 2014**).

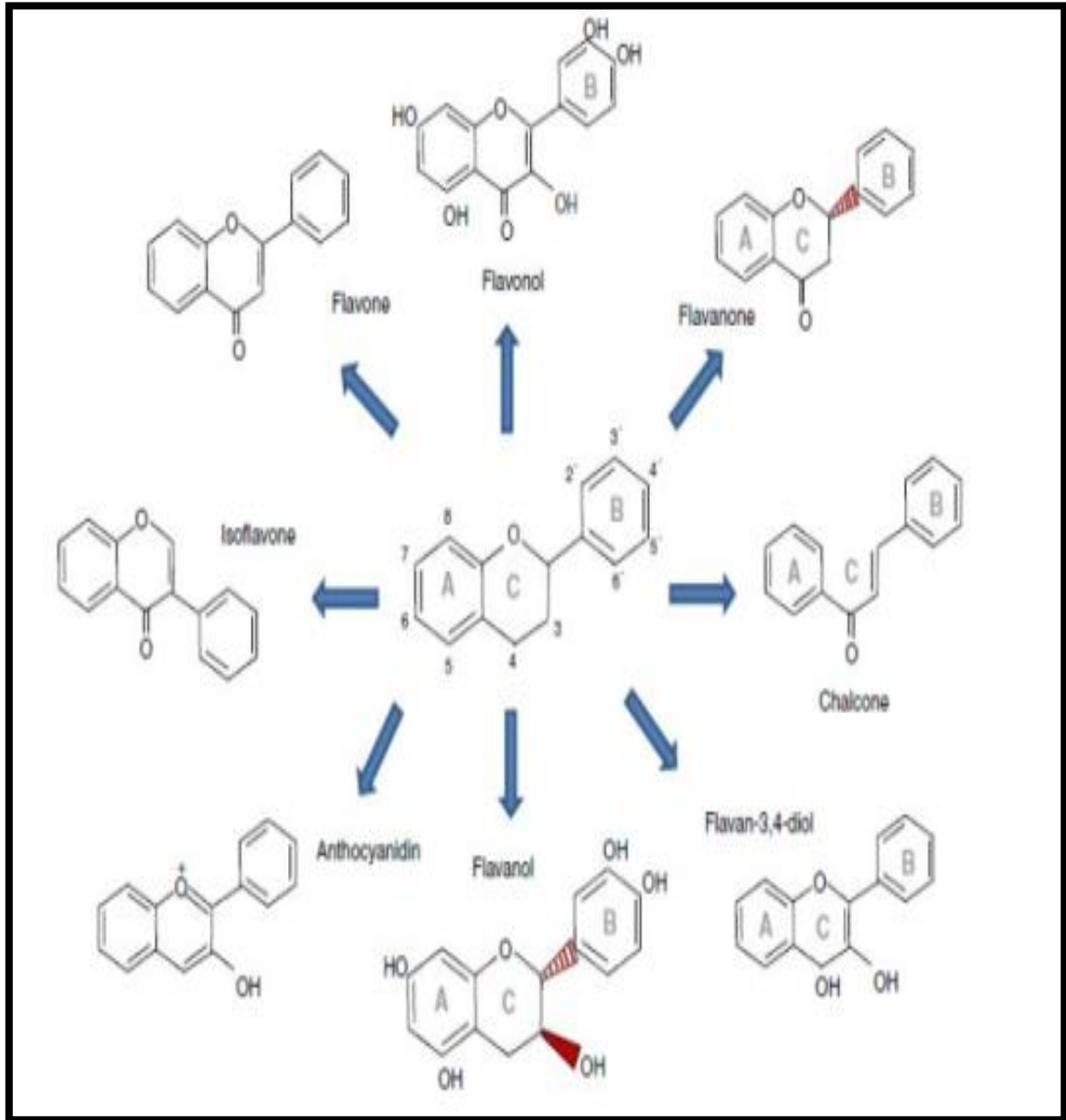


Figure 08 : Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (**Laraba et al., 2016**).

I.2.1.4.3. Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune dérivant de la voie de l'acide shikimique. Le précurseur de ces molécules est le 4-hydroxycinnamate-coenzyme A synthétisé à partir de la phénylalanine (Bruneton, 1999).

I.2.1.4.4. Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont amplement répandus dans le règne végétal (graines, fleurs, fruits, feuilles) (Dacosta, 2003). On les trouve aussi chez les Psylotales, les Fougères, Angiospermes, Asteraceae ...etc.

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes hydrosolubles s'accumulent dans les vacuoles, et selon les espèces se concentrent dans l'épiderme des feuilles, ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques (Djemai, 2009).

Tableau 04 : Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes (Madjour, 2014).

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavonols	Quercétine Kaempférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Flavones	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques, les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV et mobilité chromatographique.

Flavanones	Naringénine Eriodictyol	Fruits du genre Citrus.	Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3, le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.
Isoflavones	Genisteine Daidzeine	Graines de soja et produits qui en dérivent.	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.
Flavan3-ols	Catéchine Epicatechine Epigallocatecine	Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat.	Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tous les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques
Anthocyanidines	Cyanidine Delphéniidie	Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.	Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la

I.2.1.4.5. Quelques propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des Co-pigments. Peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (**Harrar, 2012**).

I.2.1.4.6. Activités biologiques des flavonoïdes

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Saffidine, 2015).

I.2.1.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire. Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Belyagoubi et al., 2012).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydant assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Zeghouane, 2014).

I.2.1.6. Rôle des polyphénols dans les plantes

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phtaléines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne (**Ghedadba et al., 2015**).



PARTIE II :
PARTIE PRATIQUE



Chapitre 1 : Matériels et méthodes

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

II.1.1. Matériels

II.1.1.1. Matériel végétal

La plante *Salvia chudaei* Batt. & Trab. Récoltée à Tamanrasset (Hoggar centre) au printemps en 2016. La partie aérienne séché à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante. Après séchage, l'échantillon a été broyée a des fines poudres, puis macéré dans l'éthanol pendant 24h, et stockée soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

II.1.1.2. Matériels de laboratoire

- PH mètre (210. Meterlab).
- Balance électronique.
- Rotavapeur.
- Colonne de Chromatographie.
- Etuve.
- Plaque chromatographie sur couche mince.
- Spectrophotomètre UV-Visible (SCHIMADZU, Japon).

Un certain nombre d'accessoires et petit matériel spécifique est utilisé dans le cadre de cette étude: Micropipettes, Spatule, Coton, Papier à filtre, gants et masques pour manipulation des produits dangereux et différents types de verrerie (béchers, fioles jaugées, Ballons, pipettes graduées, tubes à essais, Erlenmeyers, burette...).

II.1.1.3. Produits chimiques

Ethanol (C₂H₅OH), L'eau distillée, Méthanol (CH₃OH), Chloroforme (CHCl₃), Dichlorométhane, Butanol, Acide acétique, Vanilline, Acide sulfurique, carbonate de sodium, l'acide gallique, Réactif de Folin-Ciocalteu, Trichlorure d'aluminium (AlCl₃), Quercitine, DPPH, vitamine C (Acide ascorbique).

II.1.2.Méthodes

II.1.2.1.Analyse chromatographique des extraits

Ensemble de méthodes qui assurent la séparation des constituants d'un mélange en utilisant deux phases non miscibles: les divers constituants sont entraînés d'une manière différentielle par une phase mobile le long d'une phase stationnaire. « Phase » : toute partie homogène d'un système.

La séparation de solutés se réalise entre deux phases :

- Une phase stationnaire, par définition immobile ; choisie pour sa grande affinité pour les divers solutés.
- Une phase mobile qui entraîne les divers solutés, en fait, les solutés se partagent entre la phase stationnaire et la phase mobile.

La séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase.

L'échantillon contenant une ou plusieurs espèces est entraîné par un courant de phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) le long d'une phase stationnaire (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée etc) ; chaque espèce se déplace à une vitesse propre dépendant de ses caractéristiques et de celles des deux phases.

Cette technique d'analyse chimique peut être couplée à un détecteur en vue d'une analyse qualitative ou quantitative du milieu **(Dari.,2016)**.

II.1.2.1.1. Par chromatographie sur colonne

Généralement, les techniques chromatographiques sont employées pour la séparation des mélanges et la purification des produits chimiques. En effet, la chromatographie sur colonne (CC) est une méthode de base dans toute étude phytochimique, elle permet dans un premier temps de simplifier les extraits naturels en des fractions, comme elle est utilisée par la suite pour purifier les constituants de ces mélanges. L'élution peut être effectuée par différentes méthodes, soit à pression normale soit en appliquant de moyennes pressions.**(Ousameur et Ksikis., 2016)**.

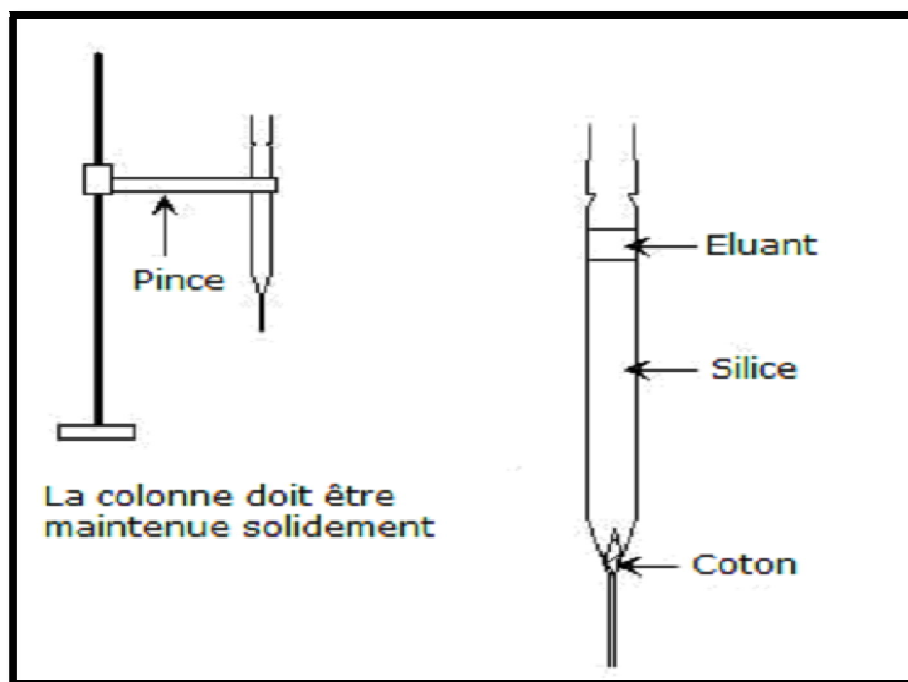


Figure 09 : Chromatographie sur colonne

II.1.2.1.1.1. Mode d'opération

a- Préparation de colonne

En plus de la nature de la phase stationnaire, la colonne capillaire est caractérisée par trois paramètres géométriques: sa longueur (65 cm), son diamètre interne (30 mm), chacun exerce une influence déterminante sur la qualité de la séparation (**Tidjani., 2016**).

Introduire un petit morceau de coton au fond d'une colonne propre et sèche, munie d'un robinet à la base. Maintenir la colonne verticalement à l'aide d'une pince en bois fixée à un support.

Ensuite, Mettez de petits cercles de papier filtre sur le coton. Dans Pécher, nous mélangeons 200 g de silice gel avec du chloroforme, puis le versons dans la colonne. Après le mélange sera stabilisé remettez des autres cercles des papiers filtres.



Figure 10: Etape de stabilisation de phase stationnaire (Ba et Settour,2018).

b- Préparation d'extrait

Nous pesons 10g de l'extrait de *Salvia chudaei* (pré préparé) et on ajoute une quantité de méthanol, ensuite ce mélange est placé dans Rotavapeur sans pression pour assurer l'homogénéiser de mélange. Après cette étape, le même mélange que nous y ajoutons 5g de silice gel et il est retourné au Rota vapeur sous pression jusqu'à ce que le méthanol s'évapore. Enfin on met l'extrait obtenu dans krestersoire un à sécher et devenir une poudre. Placez l'extrait éthanolique de l'espèce *Salvia chudaei* dans la colonne doucement, Ensuite, nous fixons les cercles de papier filtre.

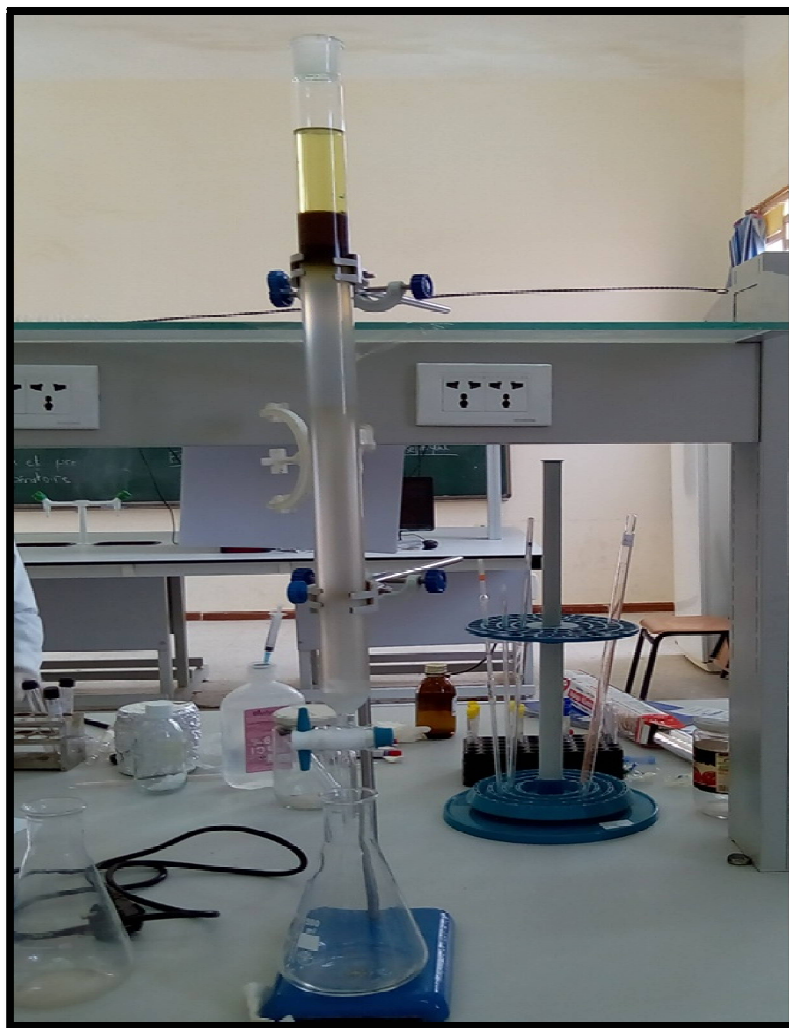


Figure11 : L'extrait éthanolique dans la colonne (Ba et Settour,2018).

c- Phase mobile

Nous apportons plusieurs fractions en différentes quantités de phase mobile (Dichlorométhane et Méthanol) comme indiqué dans le tableau 05.

Tableau 05: Pourcentages d'élution du système Dichlorométhane-MeOH.

Pourcentages de Dichlorométhane	Fractions
100 %	F1
	F2
	F3
95 %	F4
	F5
90 %	F6
	F7
80 %	F8
	F9
70 %	F10
	F11
60 %	F12
	F13
50 %	F14
	F15
25 %	F16
	F17
0%	F18
	F19
100% Eau	F20
	F21

Après la séparation, les fractions obtenues sont condensées et pesés pour calculer le rendement d'extraction.

II.1.2.1.1.2. Détermination de rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R(\%) = \frac{MF}{ME} * 100$$

Où :

- ✓ **R**: est le rendement en %.
- ✓ **MF**: est la masse de fraction après évaporation du solvant en mg.
- ✓ **ME**:est la masse d'extrait éthanolique en mg (**Falleh et al., 2008**).

II.1.2.1.2. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique utilisée pour la séparation, identification des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile le long d'une phase stationnaire, en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage (**Riov et Gottlieb., 1980**).

II.1.2.1.2.1.Principe

Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre) une tache et la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant) qui diffuse le long du support. La tache migre sur la plaque plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support (phase stationnaire) et de l'éluant (phase mobile). Elle est basée sur une interaction de type électrostatique/liaison hydrogène. Le principe du « qui se rassemble s'assemble », souvent rencontré en chimie permet encore d'expliquer ici la nature des phénomènes impliqués. Il n'existe pas de théorie pour la CCM permettant de choisir le bon éluant (c'est lui le plus dur à trouver).La CCM se déroule en trois étapes, préparation de la cuve, préparation de la plaque et l'éluant. Une cuve de chromatographie se compose de la cuve et d'un couvercle. Le couvercle sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant mais surtout à réaliser la CCM en atmosphère saturée.(**Touami., 2017**).

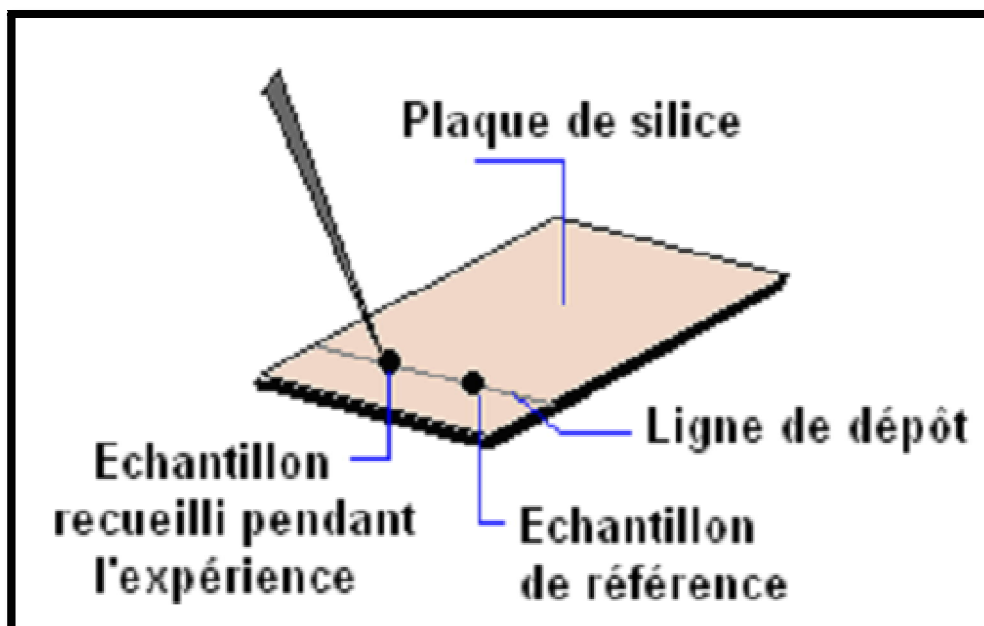


Figure 12 : Principe de chromatographie sur couche mince CCM.

II.1.2.1.2.2. Mode opératoire

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice (Silica gel 60 F-254, de 0,25 mm d'épaisseur) déposées sur des feuilles d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques commercialisées, on a déposé 10 μL de chaque fractions (5 mg/ml dans le méthanol) et le quercétine (comme référence) et ensuite introduits dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée. Dans notre cas, deux systèmes de solvants ont été utilisés (Diallo *et al.*, 2004).

Tableau 06: Systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

CCM sur gel de silice	
Solvants	Proportions
Butanol/acide acétique/eau	(12:3:5) (v/v/v)
Dichlorométhane /méthanol	(90:10) (v/v)

Après développement, les plaques CCM sont séchées, observées sous lampe UV à 254 nm et 366 nm, pulvérisées par un mélange.

II.1.2.1.2.3. Révélation

La solution utilisée comme révélateur est préparée comme suit : peser 1g de vanilline en poudre et le placer dans un ballon jaugé de 100 ml. Ajoute quelques millilitres (environ 20 ml) d'éthanol pour la dissolution et porter au volume avec de l'éthanol. Enfin, ajouter goutte à goutte 2 ml d'acide sulfurique concentré. La solution ainsi obtenue ne peut être utilisée que dans les 48 heures qui suivent sa préparation (**Panzu., 2008**). Après pulvérisation, la plaque est chauffée à l'étuve à 110°C pendant 5 minutes afin de révéler les spots obtenus (**Tlili., 2015**).

II.1.2.1.2.4. Le rapport frontal Rf

La valeur du Rf est définie comme suit : (**Tidjani., 2016**)

$$Rf = \frac{\text{La distance entre l'origine et la tâche du produit.}}{\text{La distance entre l'origine et le front du solvant.}}$$

II.1.2.2. Analyse quantitative

II.1.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux

Les polyphénols sont estimés par la méthode de FolinCiocalte (**Wong et al., 2006**). Ce dosage repose sur le réactif de FolinCiocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (**Boizotet Charpentier., 2006**).

100 µL de chaque fraction choisies ont ajoutés à 2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, après 10 min, 1 ml d'une solution de carbonate de sodium (75g/L) sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 765 nm après 2 heures d'incubation. Les concentrations des polyphénols sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique (0–1,2 mg/ml) et sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

II.1.2.2.2. Dosage de flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorunet *al.*, 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de *Salvia chudaei*. 1 ml de chaque fraction et du standard avec les dilutions convenables sont ajoutés à 1 ml d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Les teneurs en flavonoïdes sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine (0-0,05 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

II.1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH)

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par (**Mansouriet *al.*, 2005**). Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicrylhydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (**Sanchez-moreno., 2002**).

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 50 µL des solutions des fractions ou standard (quercétine, vitamine C) sont ajoutés à 1,95 ml de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire \%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0 et 12,5 mg/ml. Alors que pour l'antioxydant standard (Quercétine, vitamine C) est comprises entre 0 et 0,1 mg/ml

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.



Chapitre 2 : Résultats et Discussions

Chapitre 2 : Résultats et Discussions

II.2.1. Analyse chromatographique des extraits

II.2. 1.1. Par chromatographie sur colonne (CC)

10 g de l'extrait éthanolique sont fractionnés sous pression atmosphérique dans une colonne ouverte de gel de silice. L'éluion s'est faite initialement au moyen du dichlorométhane pur, puis par augmentation de la polarité progressive par le méthanol, et finalement par le méthanol pur et de l'eau. Des 21 fractions sont collectées à l'issue de ce fractionnement, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Résultats de chromatographie sur colonne de l'extrait brut de *Salvia chudaie*.

Fractions	Rendement %	Couleurs
F1	0.35	Jaune
F2	0.183	Vert jaune
F3	0.296	Vert
F4	0.123	Vert clair
F5	0.653	Vert foncé
F6	1.21	Le vert est noir
F7	2.397	Huile marron
F8	3.659	Huile marron
F9	6.834	Marron vert
F10	12.849	Marron
F11	8.406	Vert marron
F12	11.661	Marron foncé
F13	13.706	Marron
F14	12.149	Marron
F15	7.233	Marron clair
F16	9.291	Marron clair
F17	10.832	Marron clair
F18	9.90	Marron clair
F19	14.336	Orange
F20	13.669	Marron clair
F21	1.084	Jaunâtre blanc

A la lumière des résultats obtenus on observe un bon rendement, la richesse en polyphénols peut justifier ces pourcentages de rendement. La différence de masse, de rendement et des couleurs entre les fractions est due aux la réaction entre le système de phase mobile avec l'extrait brut.

II.2.1.2. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)

Pour une caractérisation partielle de différentes fractions du *Salvia chudaie*, une analyse par chromatographie sur couche mince a été réalisée. Les systèmes de migration utilisés sont :

- Butanol/acide acétique/eau (12:3:5) (v/v/v)
- Dichlorométhane /méthanol (90:10) (v/v).

Les résultats observés et les différentes Rf d'extrait brute et le standard (Quercétine) sont représentés dans le tableau 08.

Tableau 08 : Résultats de CCM des d'extract éthanolique brute et de quercétine.

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Extrait	Rf	Vanilline sulfurique
Brute	0.04	Marron
	0.06	Gris foncé
	0.08	Gris clair
Quercétine	0.82	Jaune
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
Brute	0.26	Jaune
	0.28	Vert
	0.33	Bleu
	0.39	Violet
	0.42	Brune
	0.52	Marron clair
	0.6	-
	0.66	-
	0.69	Jaune
	0.81	-
	0.86	-
0.94	Jaune	
Quercétine	0.89	Jaune

On remarque dans cette tableau l'extract brute contient 03 tache dans la phase mobile 1 et 12 taches pour la phase mobile 2. La quercétine présente une tache de Rf égale 0.82 dans la phase mobile 1 et de Rf égale 0.89 dans la phase mobile 2.

II.2.1.2.1. Analyse par CCM des fractions à 0% méthanol.

Les résultats observés et les différentes Rf à 0% méthanol.

Tableau 09 : Résultats de CCM des fractions à 0% méthanol.

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F1	-	-
F2	-	-
F3	-	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F1	-	-
F2	-	-
F3	-	-

On observe aucune tache due les deux phases mobiles utilisés ne sont pas spécifique. Nous avons choisi F2 pour titre d'exemple, on peut dire que ces fractions ne contiennent pas des polyphénols.

II.2.1.2.2. Analyse par CCM des fractions à 05% et 10% méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 05% et 10% méthanol.

Tableau 10: Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (95% : 5%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F4	-	-
F5	0.9	Rouge
	0.94	Violet
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F4	-	-
F5	0.89	Jaune

Ce tableau montre que la fraction F4 ne contient pas les taches dans la phase mobile 1 et la phase mobile 2 tandis que la fraction 5 contient deux taches dans la phase mobile 1 et une tache dans la phase mobile 2.

Tableau 11 : Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (90% : 10%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F6	0.73	Vert
	0.78	Bleu
	0.88	Gris
	0.94	Jaune
F7	0.48	Marron clair
	0.56	Gris clair
	0.62	Violet
	0.8	Gris
	0.87	Vert
	0.9	Jaune
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F6	0.86	Violet
	0.92	Jaune
F7	0.63	-
	0.85	Jaune

Dans ce tableau, nous remarquons que la F6 est le plus riches en polyphénols, qui rassemble de six taches dans la phase mobile 1 et deux Taches dans la phase mobile 2.

II.2.1.2.3. Analyse par CCM des fractions à 20% méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 20 % méthanol.

Tableau 12: Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (80% : 20%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F8	0.52	-
	0.6	-
	0.83	-
	0.88	-
F9	0.13	Gris foncé
	0.22	Marron
	0.38	Rouge
	0.45	Vert
	0.5	Bleu
	0.56	Violet
	0.87	Jaune
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F8	0.75	-
	0.89	-
F9	0.4	Bleu
	0.48	Jaune
	0.58	Violet

Ces résultats ont montré que la fraction F9 contient dans la phase mobile 1 sept et trois taches dans la phase mobile 2.

II.2.1.2.4. Analyse par CCM des fractions à 30 % méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 30 % méthanol.

Tableau 13: Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (70% : 30%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F10	0.12	-
	0.14	-
	0.21	-
F11	0.07	Gris foncé
	0.1	Bleu
	0.16	-
	0.19	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F10	0.16	-
	0.37	-
	0.46	-
	0.48	-
	0.81	-
F11	0.26	Bleu
	0.38	Vert
	0.46	-

Ce tableau montre que la fraction F11 est les plus intéressants, et présent quatre spots pour la phase mobile 1 et trois pour la phase 2.

II.2.1.2.5. Analyse par CCM des fractions à 40 % méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 40 % méthanol.

Tableau 14: Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (60% : 40%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F12	0.08	-
	0.12	-
F13	0.09	Orange
	0.14	Bleu
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F12	0.19	-
	0.4	-
	0.42	-
	0.46	-
	0.62	-
F13	0.25	Marron
	0.42	-
	0.48	Bleu
	0.54	-
	0.62	-

Le profil phénolique de F13 est important qui montre son richesse en nombreux taches.

II.2.1.2.6. Analyse par CCM des fractions à 50% méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 50 % méthanol.

Tableau 15: Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (50% : 50%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F14	0.1	-
	0.14	-
F15	0.06	Bleu
	0.9	-
	0.12	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F14	0.19	-
	0.45	-
	0.79	-
F15	0.14	Marron
	0.22	-
	0.36	Jaune
	0.46	-
	0.5	-
	0.56	-
	0.62	-

La fraction F15 contient des diverses classes des polyphénols. Composé sept tache .

II.2.1.2.7. Analyse par CCM des fractions à 75 % méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 75 % méthanol.

Tableau16 : Résultats de CCM des fractions à Dichlorométhane et MeOH (25% : 75%).

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F16	0.06	-
	0.1	-
	0.15	-
F17	0.06	-
	0.9	-
	0.15	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F16	0.14	-
	0.22	-
	0.42	-
	0.58	-
	0.59	-
F17	0.14	-
	0.24	-
	0.41	-
	0.46	-

Ce tableau montre la bonne séparation et la richesse de deux fractions analysées .

II.2.1.2.8. Analyse par CCM des fractions à 100% méthanol

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 100% méthanol.

Tableau 17: Résultats de CCM des fractions à 100% MeOH.

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F18	0.09	-
	0.21	-
F19	0.08	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F18	0.14	-
	0.41	-
	0.58	-
F19	0.16	-
	0.35	-

Nous avons remarqué que, la F18 présente trois des taches.

II.2.1.2.9. Analyse par CCM des fractions aqueuses

Les résultats observés les différentes Rf et le couleur à 100% Eau.

Tableau 18: Résultats de CCM des fractions à 100% Eau.

Phase mobile : Dichlorométhane/Méthanol (90:10)		
Fraction	Rf	Vanilline sulfurique
F20	0.1	-
	0.14	-
	0.29	
F21	-	-
Phase mobile : Butanol/acide acétique/eau (12:3:5)		
F20	0.1	Vert
	0.22	Marron
	0.34	-
	0.39	-
	0.53	-
F21	-	-

Les chromatogrammes obtenus présentent une bonne migration ; par conséquent une bonne séparation qui permet l'analyse qualitative des composés phénoliques.

Les taches sont bien distinctes et montrent une richesse considérable des fractions analysées en substances phénoliques. Partant de leurs fluorescences et Rf, les échantillons sont riches en flavones en premier lieu qui correspondent aux tâches violettes, brunes et bleues (Touami, 2017).

Les différences des valeurs de Rf sont dues à la polarité des composés vis-à-vis du système de solvants d'élution et la phase stationnaire. Les molécules méthylées ont un Rf plus élevé que celles glycosylées. Notons aussi qu'à travers cette analyse nous déduisons que les fractions contiennent plus de composés polaires. Nous avons choisi les fractions **F2, F6, F9, F11, F13, F15, F18, F20**. Le choix d'une fraction à analyser se base sur certains critères à savoir, la simplicité de sa CCM analytique et la quantité suffisante.

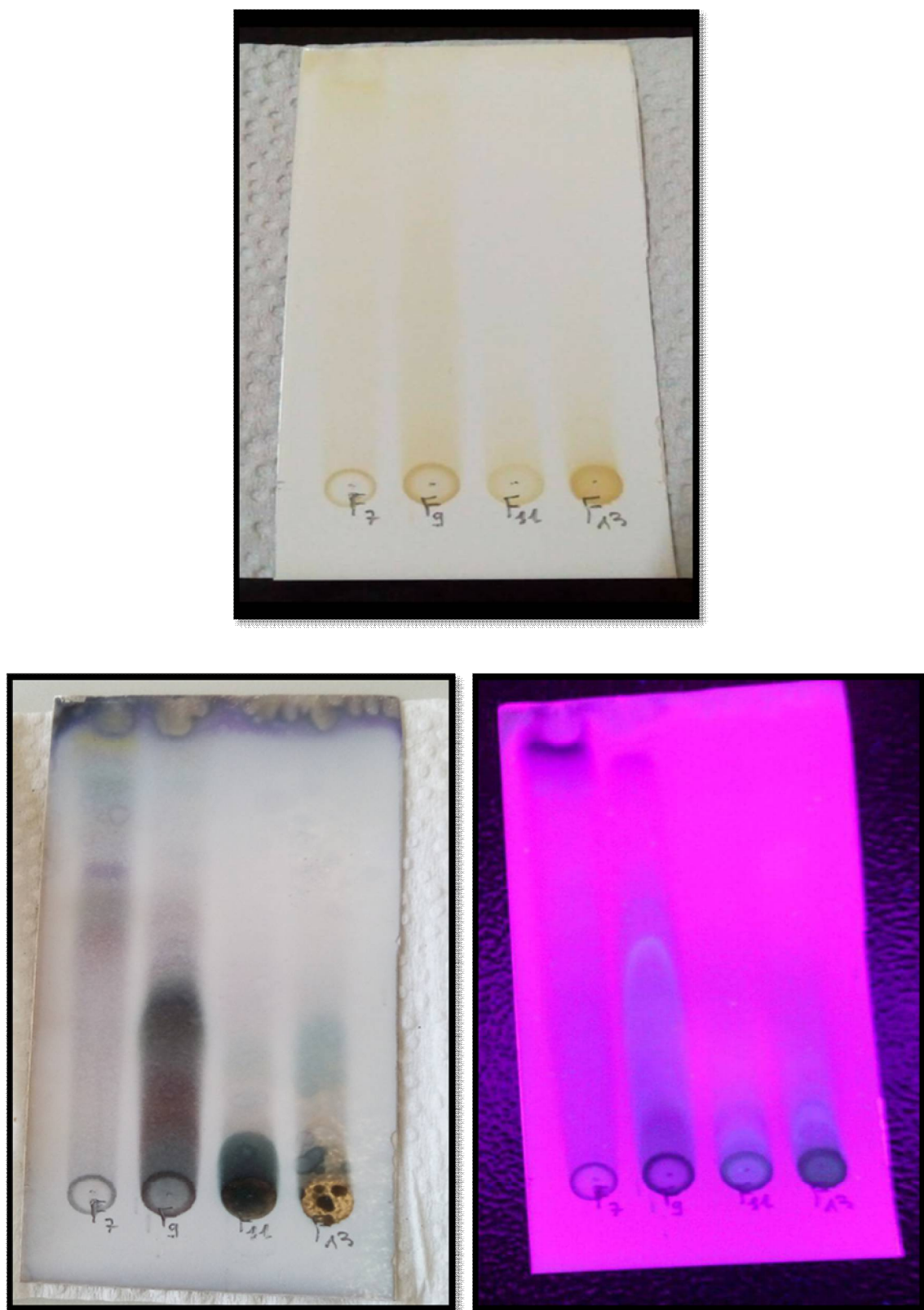


Figure 13 : Chromatogramme des fractions d'extrait éthanolique de *Salvia chudaie*.

II.2.2. Analyse quantitative

II.2.2.1. Dosage de polyphénols

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de (Wong *et al.*, 2006) avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g). Cette teneur est calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Figure14).

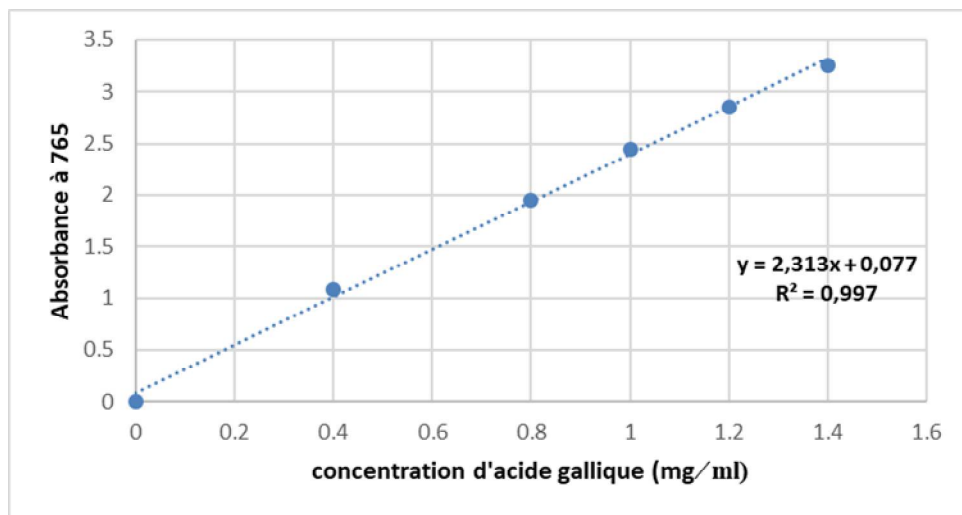


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Les teneurs en polyphénols de fractions analysées sont regroupées dans la figure 15.

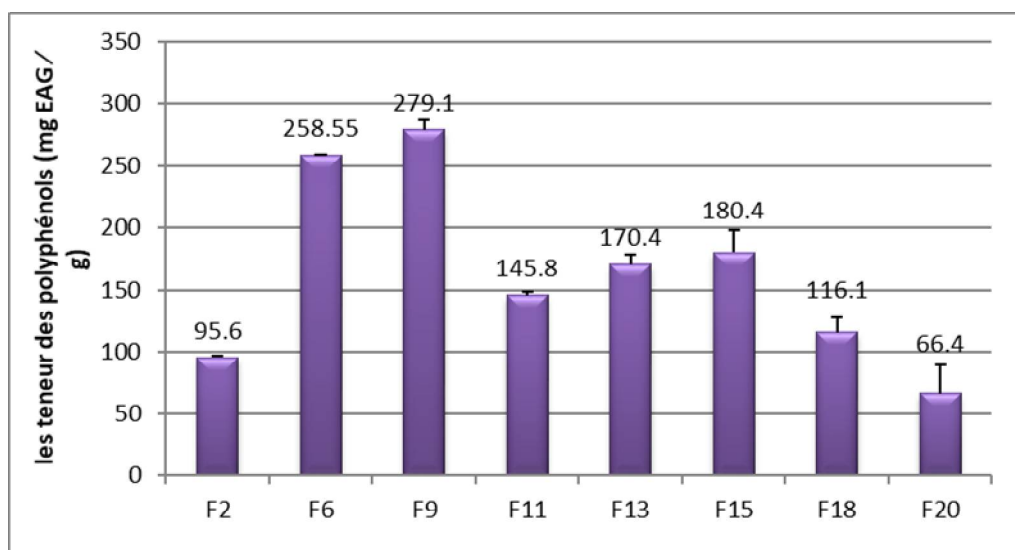


Figure 15: Résultat des teneurs en polyphénols totaux.

La figure 15 montre que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les fractions dosées. Ces résultats montrent que la fraction **F9** présente la valeur la plus élevée de composés phénoliques (279.1 ± 7.78 mg EAG/g), suivi par le F6 (258.5 ± 0.21 mg EAG/g d'extrait). D'après les résultats précédents, nous avons remarqué que les fractions issues des phases mobiles à faible polarité renferment la majorité des composés phénolique totaux. Cela peut être justifié par les résultats de **Marhoune et Boulebtina, (2017)**, qui montrent que meilleur solvant d'extraction est le méthanol, puisque, la plupart des phénols simples peuvent facilement d'être extraire par les alcools.

Ces résultats montrent la quantité important de polyphénols dans les différentes factions testées vis-à-vis l'extrait brut (2.5 mg EAG/g d'extrait) dosé par les travaux de **Hammoudi, (2015)**, cette différence peut être due à la pureté des fractions et le dosage par ce réactif donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (**Tawaha et al., 2007**).

II.2.2.2. Dosage de flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (**Bahorun et al., 1996**). La teneur en flavonoïdes des différentes fractions de la plante est exprimée en mg équivalent de quercétine (EQ) par gramme d'extrait (Figure16).

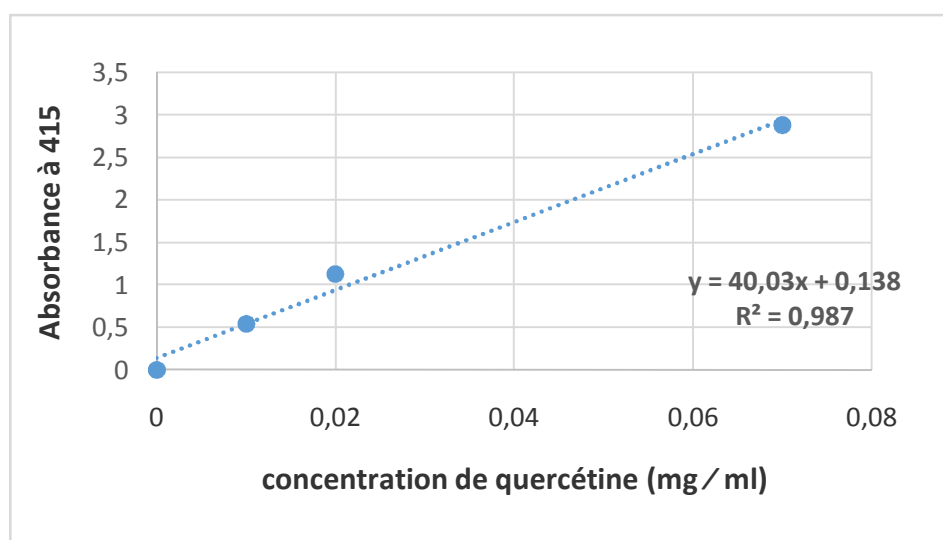


Figure 16 : Courbe étalonnage quercétine pour le dosage de flavonoïde.

La quantité de flavonoïdes de fractions dosés est schématisée dans la (figure 17)

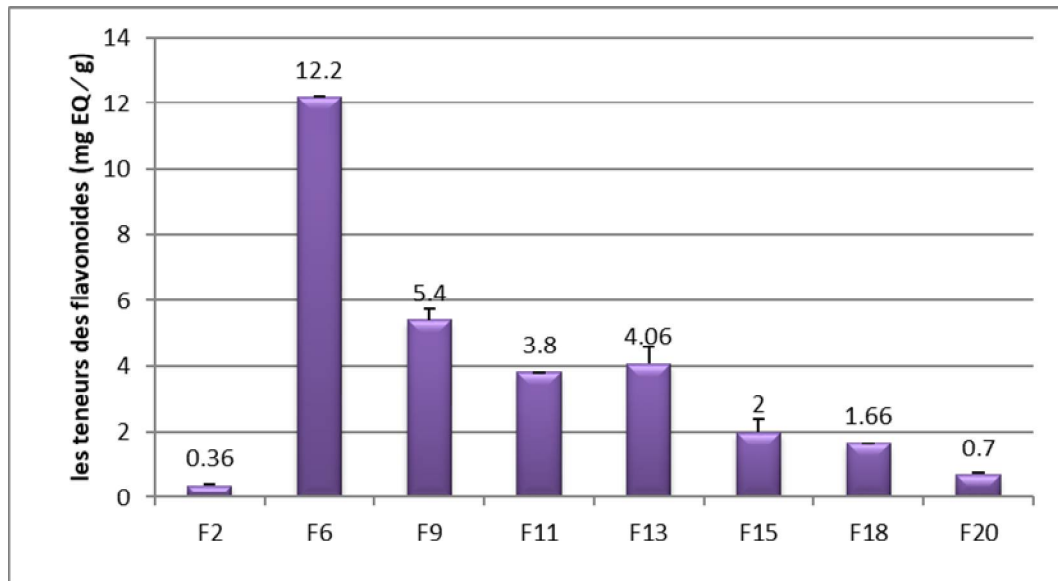


Figure 17: Résultat des teneurs en flavonoïdes.

Les résultats de teneurs en flavonoïdes (figure17), font apparaitre que la **F6** contient la quantité le plus important (12.2 ± 0.01 mg EQ/g d'extrait).

Cet histogramme montre que la majorité des flavonoïdes est élué dans les phases mobiles de 10 à 20% de méthanol, donc on peut déduire que les flavonoïdes de l'extrait éthanolique brut de la partie aérienne de *Salvia chudaie* sont des flavonoïdes à moyenne polarité.

D'après les résultats de **Hammoudi, (2015)** la dose de flavonoïdes de l'extrait brute du *Salvia chudaie* est de l'ordre de 1 mg EQ/g d'extrait. Cette quantité est moins important que la quantité des flavonoïdes dans les différentes fractions. Cela peut être due à la sensibilité de trichlorure d'aluminium, le degré de pureté des fractions et l'interaction entre les molécules de flavonoïdes.

Les résultats obtenus par l'analyse quantitative fait apparaitre que les fractions d'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia chudaie* peuvent être considérées comme une source éventuelle de cette classe de métabolites secondaires.

II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH)

Dans ce test les antioxydants réduits décolorent le radical DPPH, en le transformant en un composé jaune le diphenyl picryl hydrazine. L'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants à donner l'hydrogène (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

L'activité antioxydante de nos fractions est exprimée en IC50 (figure18), ce paramètre a été défini comme une concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC50 sont déterminés graphiquement, dont l'abscisse représente la concentration des extraits et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage.

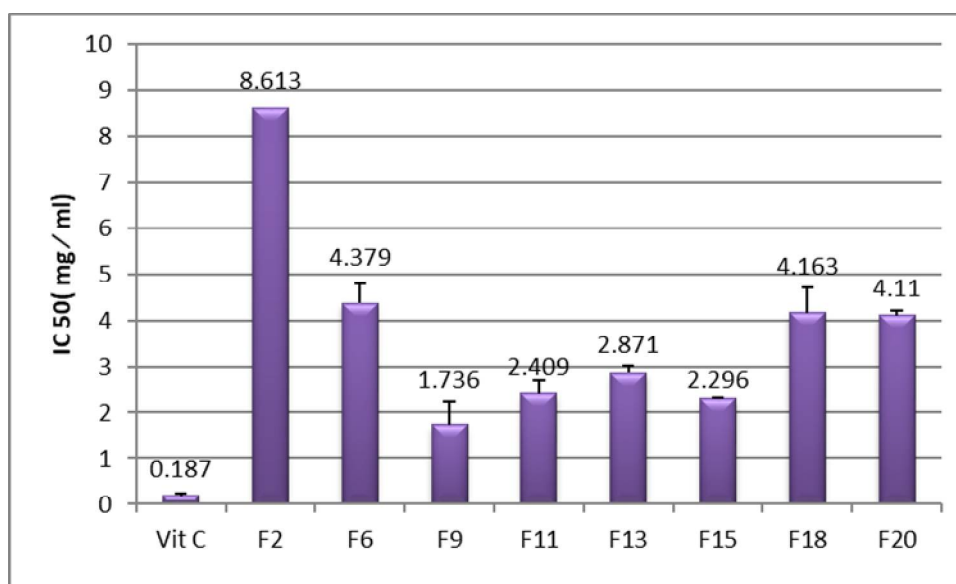


Figure18: Les résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH des différentes fractions.

Ces résultats ont montré une activité antiradicalaire de l'acide ascorbique (vitamine C) très puissante de l'ordre de 0.187 ± 0.0374 mg/ml, et révèle que nos fractions ont des pouvoir antioxydant modéré, et nous observons que la fraction **F9** est le plus actif de 1.736 ± 0.501 mg/ml. Cette activité due à la quantité important de polyphénol et le flavonoïde.

Cet histogramme, a montré une différence entre le pouvoir antiradicalaire entre les fractions testées, Cela revient peut-être aux classes de polyphénols contenues dans les deux extraits.

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui interviennent non seulement dans la pigmentation des végétaux, mais aussi qui présentent des activités biologiques, telles que des actions antioxydante (**Tigrine et Moudache, 2013**).

D'après l'étude de **Hammoudi, (2015)** de l'extrait éthanolique brut de *Salvia chudaie* Batt. & Trab. Qui trouve l'activité antiradicalaire de l'ordre de 5.53 ± 0.31 mg/ml. Cette résultat est faible par rapport à l'activité de nos fractions. Par conséquent, il est clair que les produits obtenus après cette première purification ont une meilleure activité que celle observée dans l'extrait brut due à l'effet antagoniste entre les molécules des polyphénols.



Conclusion

Dans le but de la valorisation d'une des plantes de la famille Lamiacées issue de la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Salvia chudaei*, nous avons effectué un travail permettant pour contribuer à la mise en évidence de la fractionnement et l'activité biologique de polyphénols.

L'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* a été soumise à fractionnement a grand échelle par chromatographie sur colonne par des solvants de polarité croissante, nous avons obtenues des 21 fractions, après l'analyse chromatographique par le CCM et la comparaison des profils phénoliques de ces fractions, nous a conduit à la composition par diverse classes des polyphénols dans les fractions obtenues.

La teneur en composés phénoliques des plantes estimées par la méthode de Folin-Ciocalteu est comprise entre 279.1 ± 7.78 mg EAG/g et 66.4 ± 2.33 mg EAG/g de fraction F9 et F20 respectivement.

Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé que F6 est le plus riche avec un teneur de 12.2 ± 0.01 mg EQ/g d'extrait.

La variation de la teneur des composés phénoliques entre les différentes fractions, montre que l'augmentation de polarité change significativement la quantité des composés phénolique élués, et nous avons remarqué que les fractions à faible polarité sont les plus riches en ces composés.

Les résultats obtenus par l'analyse quantitative fait apparaitre que les fractions d'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* peuvent être considérées comme une source éventuelle de cette classe de métabolites secondaires.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant de méthode ; le piégeage du radical libre DPPH, a révélé une réponse antioxydante considérable. Les résultats varient significativement d'une fraction à un autre. La fraction F9 est le plus actif de l'ordre de 1.736 ± 0.501 mg/ml

L'aptitude antioxydante, d'extrait éthanolique de plante *Salvia chudaei*, présente une bonne corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux, et les teneurs en flavonoïdes.

Comme les résultats obtenus *in vitro*, dans ce travail, ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances, de source naturelle, biologiquement actives, nous

pouvons émettre certaines perspectives à envisager dans cet axe de recherche et compléter ainsi notre projet, il s'agit de :

- Purifications des fractions par des petites colonnes (deuxième colonne).
- La réalisation des tests biologiques *in vivo* afin de mettre en évidence certains principes actifs.



Référence bibliographique

- 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.
- Abeiri, O.K. (2007).** Contribution à la caractérisation floristique de deux oueds de l'Ahaggar : oued Idèles et oued Tassakimt. Mémoire Ingéniorat Eco. Université Ouargla. 63p.
- Ardestani A. et Yazdanparast R., 2007**-Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104 : 21-29.
- Aref, M., & Heded, M. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). Mém. Master. Université ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED, 82p .
- 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., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Journal of Arzneimittel-Forschung. 46 : 1086-1089.
- Ba, K., & Settour, H.(2018)** Contribution à la caractérisation biologique des fractions de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaie* .Master Académique. Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED.57p.
- Belguidom, M. (2012).** Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. Mém. Master Académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 45p.

Belyagoubi., & Benhammou. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. 109p.

Benchelah, A.C., Bouzian, H., Maka, M. (2004). Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie*. 6: 191-197.

Berkal, G., & Bouchama S, (2016). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbia characias L.* Mém. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 63p.

Boizot, N., & Charpentier; J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. Le Cahier des Techniques de l'INRA. pp : 79-82.

Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse Doctorat en sciences. Université Mohamed Khider – Biskra. 176p.

Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mém. Magister. Université Ferhat Abbas. Sétif. 99p.

Boukri, N. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire Master académique. Université KASDI MERBAH Ouargla. 60 p.

BRUNETON J., 2009-Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} ed, Paris. France. 1120p.

Dacosta, E. 2003. Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.

Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K., & Maïga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R. Chimie*, 7 : 1073–1080.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities, *C. R. Biologies*. Vol. (331). 372-379.

- Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2):193-202.
- Gabrieli, C.N., Kefalas, P.G., & Kokkalou, E.L. (2005).** Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology*. 96: 423–428.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselfela, H., & Oueldmokhtar, S.M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*. 13(2) : 118-129.
- 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 Doctorat. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 166p.
- Harrar, A. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mém. Magister. Université Ferhat Abbes. Sétif. 73p.
- Hasani, P., Yasa, N., Vosough-ghanbari, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., & Abdollahi, M. (2007).** In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*. as compared to a-tocopherol, *Acta Pharm*. 57: 123–129.
- Jean-pierre, L. (2001).** Introduction à la flore d'Afrique . Ed cirad, ibis press, 155p.
- Kabouche, A. (2005).** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 389p.
- Kabouche, A. (2005).** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. 389p.
- 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.
- Kamatou, G.P.P., Vanzy, I., Vanvuuren, S.F., Figueirido-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.

Kebbab, R. (2014). Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *Chamlal* : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Thèse de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ousou, 117p.

Khenfer, S., & Medjouel, M. (2016). Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Mém. Master Académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 73p.

Laaboudi, W. (2012). L'extraction des composés phénoliques à partir des zestes d'agrumes et l'étude de leur activité antiradicalaire. Mém. Master Sciences et Techniques. Laboratoire de Biotechnologie [LB] de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz. 60p.

Laraba, M., Serrat A., & Ouassaa G. (2016). Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mém. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 56p.

Lavoisier. Paris. 1234p.

Lehout, R., & Laib, M. (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba*, Mém. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 76p.

Leybros, J., & Fremeaux, P., (1990). Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.

Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

Madjour, S. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*. Mém. Master. Université Med Khider Biskra. 54p.

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.

Marhoune, N., & Boulebtina, F. (2017). Extraction des polyphénols ou des flavonoides des feuilles de mures sauvages (*Rubus fruticosus*) par le méthanol ou dans milieu aqueux : Test tolérance au glucose et activité anti-oxydante. Mém. de Master. Université des freres mentouri. Constantine. 55 P .

Michel, T. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse Docteur de l'université d'Orléans. Université D'ORLÉANS. 286p.

Miller, (1785). Dictionnaire des jardiniers: contenant les méthodes les plus sûres. 8ème Ed, paris, 647p.

Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi-motamed, S., & Ghorbani, A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iran, J. Pharm. Res, 2., 63-79.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat. Université CADI AYYAD – Faculté des sciences SEMLALIA – MARRAKECH. 342p.

OMS (Organisation mondiale de la Santé) (2003). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, WOH/TRM/2000.1 ; annexe II : 31-35.

Ould el hadj, M.D., Hadj-mahammed, M., & Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). Courrier du Savoir. 03 : 47-51.

Ousameur, N., & Ksikis, C. (2016). Fractionnement des extraits obtenus de deux plantes spontanées sahariennes et évaluation de leur activité antioxydante. Mém. Master Académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 60p.

Ozenda, P. (1977). Flore du Sahara. 2ème ED. CNRS. Paris.

Panzu. (2008). Contribution à l'étude de la qualité des comprimés d'Artésunate en coblister douse mois après la peremption. Diplôme de Magister. Université de Kinshasa. 75 p.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS, Paris, Tom. 2 :793.

Rebaya, A., Igueld-belghith, S., Baghdikian, B., Mahiou –Ieddou, V., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J.K., & Trabelsiyadi, M. (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol, 5 (01): 052-057.

Riov, J., & Gottlieb, H.E. (2006). Metabolism of auxin in pine tissues: Indole-3-acetic acid conjugation. *Physiologia Plantarum*. 50: 347-352.

Saffidine, K. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbes, Sétif. 64p.

Sanchez-moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; International Journal of Food Science and Technology. 8 : 121-137.

Tidjani, S. (2016). Etude Phytochimique et Evaluation Biologique de L'espèce *Senecio delphinifolius Vahl.* Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 178p.

Tili, 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.

Touami, C. (2017). Examen phytochimique et Pouvoir antimicrobien et anti-radicalaire des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzia) de la région d'Aïn Sefra (Algérie). Thèse du diplôme de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université abou bekr belkaid .Tlemcen, 39-53 p.

Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chem, 97 : 705-711.

Zeghouane, H. (2014). Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mém. Master Académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 51p.



Annexes

Annexe 01 :Résultat de rendement



Photo des fractions F1-F9.

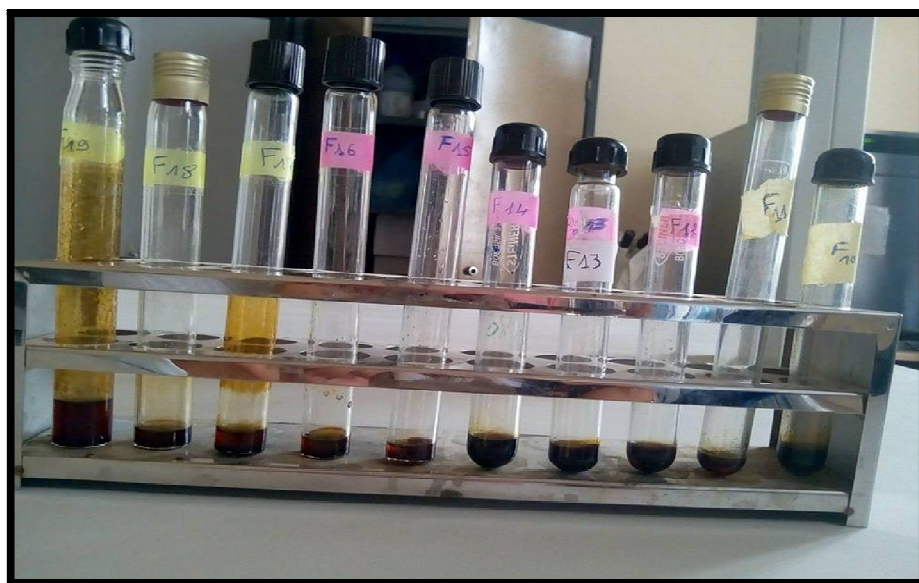
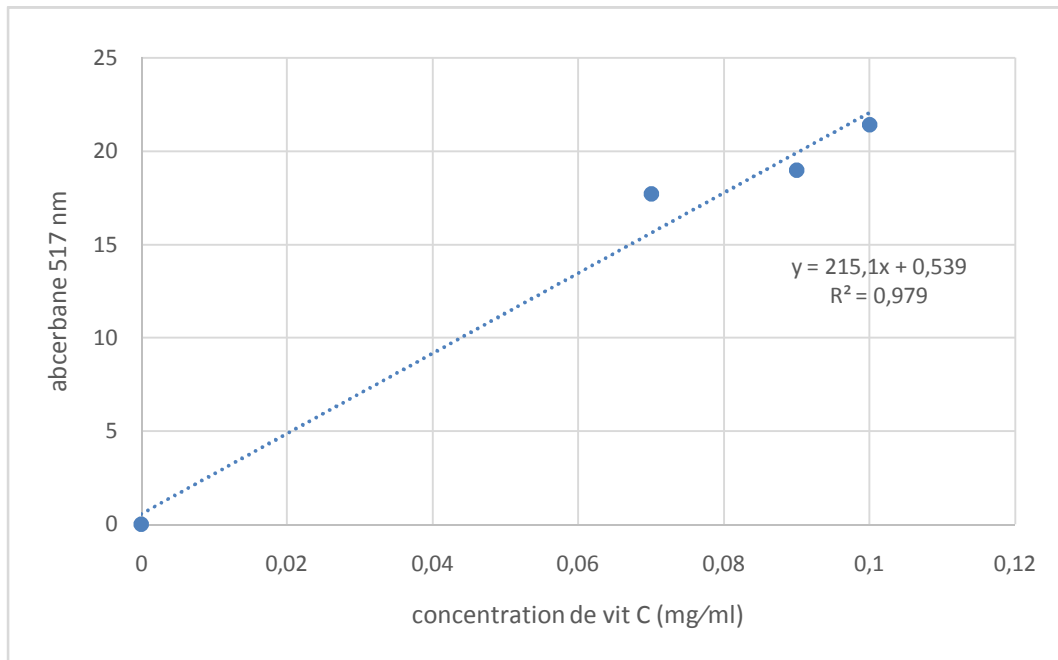


Photo des fractions F10-F21.

Annexe 02 : Résultat de l'activité antioxydant



Courbe d'étalonnage de d'acide ascorbique pour l'activité antioxydante

Annexe 03 : Résultat de CCM

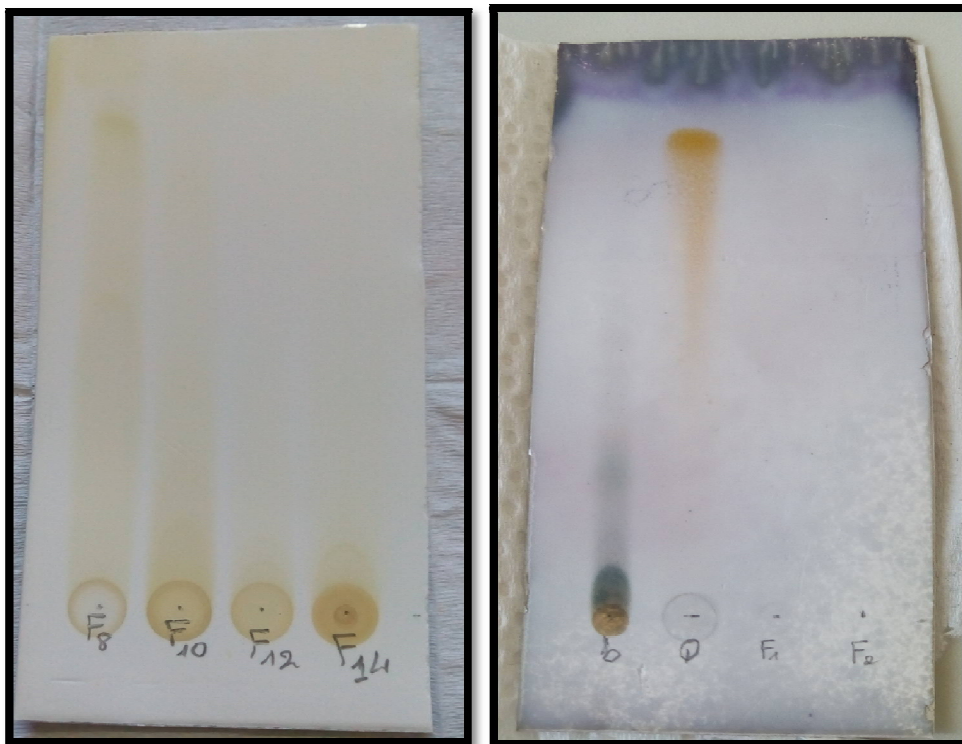


Photo de chromatogramme des fractions d'extrait éthanolique de *Salvia chudaei*.

Le travail effectué constitue une contribution à la caractérisation d'une plante médicinale du Sahara méridional algérien. Il a permis la mise en évidence de l'activité biologique des fractions de l'extrait éthanolique *Salvia chudaei* (Lamiaceae) de la région de Tamanrasset. L'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* a été soumis à fractionnement à grand échelle par chromatographie sur colonne par des solvants de polarité croissante, nous avons obtenues des 21 fractions. L'analyse chromatographique par le CCM et la comparaison des profils phénoliques de ces fractions montre la richesse et la diversité en composés phénoliques. Les teneurs des phénols totaux et des flavonoïdes des fractions étudiées ont été réalisées par méthode de colorimétrie. Celle-ci nous a permis de confirmer que les fractions à faibles polarité sont les plus riches en composés phénoliques de l'ordre de 279.1 ± 7.78 mg EAG/g pour les polyphénols et de 12.2 ± 0.01 mg EAG/g pour les flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant de méthode ; le piégeage du radical libre DPPH, a révélé une réponse antioxydante considérable. Il est clair que les produits obtenus après cette première purification ont une meilleure activité que celle observée dans l'extrait brut et la fraction F9 est le plus actif de l'ordre de 1.736 ± 0.501 mg/ml.

Mots clés : *Salvia chudaei*, chromatographie sur colonne, CCM, polyphénols, Activité antioxydant.

ان العمل المنجز هو مساهمة في تبيين بعض النباتات الطبية في الصحراء الجنوبية الجزائرية. وقد سمح بتحديد النشاط البيولوجي لمستخلص الايثانولي ل *salvia chudaei* حصدت من منطقة تمنراست.

المستخلص الايثانولي للجزء الخارجي من *salvia chudaei* خضع لعملية تجزئة على نطاق واسع بواسطة كروماتوغرافيا العمود مع مذيبات ذات قطبية متزايدة ، فتحصلنا على 21 كسرا .

التحليل بكروماتوغرافيا العمود ومقارنة خصائص الفينول من هذه الكسور دل على ثرائها وتنوعها بالمركبات الفينولية.

تم اجراء تحليل لوني للفينولات والفلافونويدات للكسور المدروسة ، وقد مكن من التاكيد بان الكسور ذات القطبية المنخفضة هي الاغنى بالمركبات الفينولية ترتيبيا : البوليفينول، الفلافونويد $279,1 \pm 7,78$ mg EAG/g ، $12,2 \pm 0,01$ mg EAG/g

كما تم دراسة نشاط مضادة الاكسدة باستخدام الاختبار DPPH التي كشفت استجابة مضادة الاكسدة، ومن الواضح ان المنتجات التي تم الحصول عليها بعد هذا الاختبار لديها نشاط افضل، لوحظ ان الكسر f9 هو الجزء الاكثر نشاطا $1,736 \pm 0,501$ mg/g .

الكلمات المفتاحية : *salvia chudaei*، كروماتوغرافيا العمود، بوليفينول، مضادة الاكسدة.

The work done is a contribution to the characterization of a medicinal plant in the southern Algerian Sahara. It allowed the demonstration of the biological activity of the fractions of the ethanolic extract *Salvia chudaei* (Lamiaceae) from the region of Tamanrasset. The ethanolic extract of the aerial part of *Salvia chudaei* was subjected to fractionation on a large scale by column chromatography with solvents of increasing polarity, we obtained 21 fractions. CCM chromatographic analysis and comparison of the phenolic profiles of these fractions shows the richness and diversity of phenolic compounds. The contents of the total phenols and flavonoids of the fractions studied were carried out by colorimetric method. This allowed us to confirm that the fractions with low polarity are the richest in phenolic compounds of the order of 279.1 ± 7.78 mg EAG / g for the polyphenols and 12.2 ± 0.01 mg EAG / g for the flavonoids. Evaluation of antioxidant activity using method; trapping of the free radical DPPH, revealed a considerable antioxidant response. It is clear that the products obtained after this first purification have a better activity than that observed in the crude extract and the F9 fraction is the most active of the order of 1.736 ± 0.501 mg / ml.

Key words : *Salvia chudaei*, column chromatography, CCM, polyphenols, Antioxidant activity.