

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de biologie

Laboratoire de recherche

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

En Physiologie et Biochimie de la Nutrition

---

***Etude phytochimique et évaluation des activités hémolytique, antioxydante et antidiabétique des extraits et fractions enrichies en polyphénols de Salvia officinalis L.***

---

**Présentée par : MAHDI Souad**

Soutenue le :

**Devant le jury composé de :**

M <sup>me</sup> MERZOUK Hafida	Professeur	Présidente	Université de Tlemcen
M <sup>r</sup> LAHFA Farid Boucif	Professeur	Directeur de Thèse	Université de Tlemcen
M <sup>r</sup> AZZI Rachid	Professeur	Examineur	Université de Tlemcen
M <sup>r</sup> MAKHLOUFI Ahmed	Professeur	Examineur	Université de Béchar
M <sup>r</sup> GHERIB Mohamed	M.C.A	Examineur	Centre universitaire de Naâma

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 – 2021

### ***Remerciements***

Je souhaite remercier en premier lieu mon directeur de thèse, M<sup>f</sup> LAHFA Boucif Farid, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté encadrer ce modeste travail, pour sa gentillesse, sa bienveillance et son soutien.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements, mon profond respect, mon estime et gratitude à M<sup>f</sup> AZZI Rachid, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid. Je tiens à lui saluer pour son esprit ouvert qui donne l'exemple, sa générosité, sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance pour sa patience, son soutien moral, sa compréhension, ses encouragements, ainsi que pour tout le temps qu'il a consacré pour diriger ce travail. MERCI

J'adresse de sincères remerciements à M<sup>me</sup> MERZOUK Hafida, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté honorer le jury par sa présidence.

Je désire grandement remercier M<sup>f</sup> MAKHLOUFI Ahmed, Professeur Université de Béchar et Mr GHERIB Mohamed, MCA Centre universitaire de Naâma, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier tous les membres de l'équipe Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique, pour leur aide et leur bonne humeur.

Je souhaite remercier spécialement AISSAOUI Mohamed pour son aide et son soutien tout au long du travail au laboratoire de recherche.

## Résumé

*Salvia officinalis* de la famille des *Lamiacées* présente, dans la médecine traditionnelle, un vaste potentiel à traiter diverses affections et une efficacité relative à contrôler le diabète en raison de sa richesse en composés bioactifs. Ce travail porte sur une recherche phytochimique qualitative et des dosages quantitatifs des composés phénoliques des extraits méthanol-eau (70/30) préparés par infusion, décoction ou macération et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol. Le test hémolytique *in vitro* a été utilisé pour mesurer la toxicité des différents extraits et fractions sur les érythrocytes humains pendant 60 min. L'évaluation de leur activité antioxydante a été effectuée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical DPPH, le test de réduction du fer et le test de la capacité antioxydante totale. De plus, nous avons évalué leurs activités inhibitrices *in vitro* sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Le screening phytochimique a révélé la richesse des extraits et fractions en tanins, terpénoïdes, composés réducteurs, flavonoïdes, quinones, coumarines et saponines. La fraction acétate éthyle préparée par macération a démontré les taux les plus élevés en polyphénols totaux ( $399,39 \pm 0,45 \mu\text{g EAG/mg ES}$ ) et en flavonoïdes ( $345,84 \pm 0,06 \mu\text{g EC/mg ES}$ ). Les résultats de la toxicité ont montré que l'activité hémolytique de tous les extraits et fractions n'a pas dépassé les 20% et qu'elle a été dose-dépendante. Les fractions acétate éthyle préparées par infusion, décoction ou macération ont montré des taux d'hémolyse faibles ( $1,79\% \pm 0,03$ ,  $11,58\% \pm 0,1$ ,  $3,77\% \pm 0,02$ , respectivement pour la dose de 200 mg/ml). La fraction acétate éthyle préparée par macération a démontré l'activité du piégeage du radical DPPH la plus forte ( $CI_{50} = 208,51 \pm 15,77 \mu\text{g/ml}$ ), le pouvoir réducteur du fer le plus élevé ( $EC_{50} = 250 \pm 0,001 \mu\text{g/ml}$ ) et la capacité antioxydante totale la plus puissante ( $891,33 \pm 0,0008 \mu\text{g EAA/mg E}$ ). Ainsi, les extraits et les fractions ont montré un effet inhibiteur significatif sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. La fraction acétate éthyle préparée par macération a révélé le meilleur pouvoir inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase ( $CI_{50} = 38,86 \pm 1,58 \mu\text{g/ml}$  et  $27,93 \pm 2,81 \mu\text{g/ml}$ , respectivement). Ces résultats suggèrent que les activités hémolytique, antioxydante et antidiabétique de *S. officinalis* pourraient contribuer à des effets thérapeutiques bénéfiques sur le diabète et le stress oxydatif. Les fractions acétate éthyle enrichies en polyphénols pourraient être considérées comme une source d'antioxydants naturels et davantage utilisées pour la prévention, le traitement du diabète et ses complications.

**Mots clés :** *S. officinalis*, composés phénoliques, stress oxydatif, diabète sucré, hémolyse

## Abstract

*Salvia officinalis* from the *Lamiaceae* family presents a vast potential to treat various ailments and its effectiveness in controlling diabetes in traditional medicine because of its richness in bioactive compounds. This work relates to qualitative phytochemical research and quantitative assays of phenolic compounds in methanol-water extracts (70/30) prepared by infusion, decoction or maceration and their ethyl acetate and n-butanol fractions. The *in vitro* hemolytic test was used to measure the toxicity of the different extracts and fractions on human erythrocytes for 60 min. The evaluation of their antioxidant activity was performed *in vitro* by DPPH radical scavenging method, iron reduction test and total antioxidant capacity test. In addition, we evaluated their inhibitory activities *in vitro* on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes. Phytochemical screening revealed the richness of extracts and fractions in tannins, terpenoids, reducing compounds, flavonoids, quinones, coumarins and saponins. Ethyl acetate fraction prepared by maceration demonstrated the highest levels of total phenolics ( $399.39 \pm 0.45 \mu\text{g EAG} / \text{mg ES}$ ) and flavonoids ( $345.84 \pm 0.06 \mu\text{g EC} / \text{mg ES}$ ). Toxicity results showed that hemolytic activity of all extracts and fractions did not exceed 20% and it was dose dependent. Ethyl acetate fractions prepared by infusion, decoction or maceration exhibited the lowest hemolysis rates ( $1.79\% \pm 0.03$ ,  $11.58\% \pm 0.1$ ,  $3.77\% \pm 0.02$ , respectively for the dose of 200 mg/ml). The fraction of ethyl acetate prepared by maceration demonstrated the strongest DPPH radical scavenging activity ( $\text{IC}_{50} = 208.51 \pm 15.77 \mu\text{g} / \text{ml}$ ), the highest reducing power of iron ( $\text{EC}_{50} = 250 \pm 0.001 \mu\text{g} / \text{ml}$ ) and the strongest total antioxidant capacity ( $891.33 \pm 0.0008 \mu\text{g EAA} / \text{mg E}$ ). Thus, extracts and fractions showed a significant inhibitory effect on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Ethyl acetate fraction prepared by maceration revealed the best inhibiting effect on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase ( $\text{IC}_{50} = 38.86 \pm 1.58$  and  $27.93 \pm 2.81 \mu\text{g} / \text{ml}$ , respectively). These results suggest that the hemolytic, antioxidant and antidiabetic activities of *S. officinalis* may contribute to its traditionally claimed therapeutic benefits on diabetes and oxidative stress. Phenolic enriched ethyl acetate fractions could be considered as a source of natural antioxidants and further developed for the prevention and treatment of diabetes and its complications.

**Key words:** *S. officinalis*, phenolic compounds, oxidative stress, diabetes mellitus, hemolysis

## الملخص

تقدم الميرامية ، من عائلة Lamiaceae ، في الطب التقليدي إمكانات هائلة لعلاج الأمراض المختلفة وفعاليتها في السيطرة على داء السكري بسبب ثرائها بالمركبات النشطة بيولوجيا. يتعلق هذا العمل ببحوث كيميائية نباتية نوعية وفحوصات كمية لمحتويات المركبات الفينولية لمستخلصات الكحول المائي (30/70) المحضرة عن طريق التسريب، الغلي أو النقع ومشتقات أسيتات الإيثيل و n-بوتانول. تم استخدام اختبار انحلال الدم في المختبر لقياس سمية المستخلصات و المشتقات المختلفة على كريات الدم الحمراء البشرية لمدة 60 دقيقة عند 37 درجة مئوية. تم إجراء تقييم نشاطهم المضاد للأكسدة في المختبر عن طريق طريقة DPPH واختبار ارجاع الحديد واختبار القدرة الكلية لمضادات الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك ، قمنا بتقييم أنشطتها المثبطة مخبريا على إنزيمات ألفا أميلاز وألفا غلوكوزيداز. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثراء المستخلصات و المشتقات بالتانينات ، التربينويدات ، المركبات المختزلة ، الفلافونويد ، الكينون ، الكومارين والصابونين. أظهر مشتق أسيتات الإيثيل المحضر بالنقع أعلى مستويات إجمالي البوليفينول ( $0.45 \pm 399.39$  ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ملغ مستخلص جاف) والفلافونويد ( $0.06 \pm 345.84$  ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ملغ مستخلص جاف). أظهرت نتائج التأثيرات السامة على كريات الدم الحمراء البشرية لجميع المستخلصات و المشتقات أن نسبة انحلال الدم لم تتجاوز 20% و أنها تعتمد على الجرعة. أظهرت مشتقات أسيتات الإيثيل المحضرة بالتسريب أو الغليان أو النقع أدنى معدلات انحلال الدم ( $0.03 \pm 1.79\%$  ،  $0.1 \pm 11.58\%$  ،  $0.02 \pm 3.77\%$  على التوالي بالنسبة للجرعة 200 مغ / مل). أظهر مشتق أسيتات الإيثيل المحضر بالنقع أقوى نشاط مضاد للجذور الحرة DPPH ( $IC_{50} = 208.51 \pm 15.77$  ميكروغرام / مل) ومرجع للحديد ( $EC_{50} = 250 \pm 0.001$  ميكروغرام / مل) وأقوى قدرة إجمالية لمضادات الأكسدة ( $0.0008 \pm 891.33$  ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك لكل ملغ مستخلص جاف). كما أظهرت المستخلصات و المشتقات تأثيرًا مثبطًا كبيرًا على ألفا أميلاز ( $IC_{50} = 38.86 \pm 1.58$  ميكروغرام / مل) وألفا غلوكوزيداز ( $IC_{50} = 27.93 \pm 2.81$  ميكروغرام / مل). تشير النتائج المحصل عليها أن نتائج انحلال الدم، الأنشطة المضادة للأكسدة و المضادة لداء السكري للميرامية قد تساهم في فوائدها العلاجية المزعومة تقليديًا على مرض السكري والإجهاد التأكسدي. يمكن اعتبار مشتقات أسيتات الإيثيل الغني بالفينول مصدرًا لمضادات الأكسدة الطبيعية التي يمكن تطويرها أيضًا للوقاية من مرض السكري ومضاعفاته وعلاجه.

**الكلمات المفتاحية:** الميرامية ، مركبات الفينول ، الإجهاد التأكسدي ، داء السكري ، انحلال الدم

## Liste des Figures

Figure 1 : Estimations de la Fédération Internationale du Diabète (2019) du nombre des diabétiques dans le monde depuis 2000 à 2045

Figure 2 : Schéma de la relation entre le stress oxydatif et les complications diabétiques

Figure 3 : Digestion de l'amidon par les  $\alpha$ -amylases et glucosidases

Figure 4 : Photos de *Salvia officinalis* L.

Figure 4a : *S. officinalis* feuilles

Figure 4b : *S. officinalis* fleurs

Figure 5: Structure des principaux composés phénoliques isolés à partir de *S. officinalis*

Figure 6 : Structure des principaux terpénoïdes isolés à partir de *S. officinalis*

Figure 7 : photographie de *S. officinalis* utilisée dans la recherche et son broyat

Figure 8 : Protocol expérimental de la préparation des extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* par infusion, décoction ou macération

Figure 9 : Réaction de réduction du radical libre DPPH

Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Figure 12 : Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par infusion de la partie aérienne *S. officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C

Figure 13 : Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par décoction de la partie aérienne *S. officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C

Figure 14 : Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par macération de la partie aérienne *S. officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C

Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par infusion de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par décoction de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 17 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par macération de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 18 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique

Figure 19 : Les valeurs de  $CI_{50}$  des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acide ascorbique

Figure 20 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire mesurée par le test DPPH des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 21 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP

Figure 22 : Pouvoir réducteur d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par infusion de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 23 : Pouvoir réducteur d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par décoction de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 24 : Pouvoir réducteur d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par macération de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 25 : Les valeurs de  $CE_{50}$  des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acide ascorbique

Figure 26 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité réductrice du fer des différents extraits et fractions de *S. officinalis*

Figure 27 : Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour calculer la capacité antioxydante totale

Figure 28 : Capacité antioxydante totale des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis*

Figure 29 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et la capacité antioxydante totale des différents extraits et fractions de *S. officinalis*

Figure 30 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations d'acarbose

Figure 31 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par infusion

Figure 32 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par décoction

Figure 33 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par macération

Figure 34 : Valeurs des  $CI_{50}$  de l'enzyme  $\alpha$ -amylase par les extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acarbose

Figure 35 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations d'acarbose

Figure 36 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par infusion

Figure 37 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par décoction

Figure 38 : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par macération

Figure 39 : Valeurs des  $CI_{50}$  de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase par les extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acarbose

Figure 40 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les valeurs de  $CI_{50}$  pour  $\alpha$ -amylase (a) et  $\alpha$ -glucosidase (b) des différents extraits et fractions de *S. officinalis*

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Thérapies anti-hyperglycémiques orales courantes et leurs modes d'action

Tableau 2 : Caractéristiques générales des alpha-amylases et glucosidases humaines

Tableau 3 : Informations générales sur acarbose et miglitol

Tableau 4 : Systématique de *Salvia officinalis* L

Tableau 5 : Principaux effets pharmacologiques de *S. officinalis*

Tableau 6 : Protocole de dosage des polyphénols totaux

Tableau 7 : Protocole de dosage des flavonoïdes

Tableau 8 : Protocole du test DPPH pour les échantillons de *S. officinalis* et l'acide ascorbique

Tableau 9 : Mode opératoire pour mesurer l'activité réductrice du fer des différents extraits, fractions et acide ascorbique par le test de FRAP

Tableau 10 : Mode opératoire pour mesurer la capacité antioxydante totale

Tableau 11 : Protocole test  $\alpha$ -amylase

Tableau 12 : Protocole test  $\alpha$ -glucosidase

Tableau 13 : Caractéristiques des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

Tableau 14 : Screening phytochimique des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

Tableau 15 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les différentes préparations de la partie aérienne de *S. officinalis*

## Liste des abréviations

DPPH : le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

CE<sub>50</sub>: Concentration efficace à réduire 50% du fer.

CI<sub>50</sub>: Concentration inhibitrice de 50% de DPPH.

µg EAG/mg ES : microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg EC/mg ES : microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec

FAE: fraction acétate éthyle

Fn-B: fraction n-butanol

µg EAA/mg E: microgramme équivalent acide ascorbique par milligramme d'extrait

ADN: Acide désoxyribonucléique.

CAT: capacité antioxydante totale

ERN: Espèces réactives d'azote.

ERO: Espèces réactives d'oxygène.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

I (%): Pourcentage d'inhibition.

OMS: Organisation mondiale de la santé.

FID : Fédération internationale du diabète.

ADA : Association Américaine du diabète.

SEM: Erreur standard de la moyenne.

v/v: Volume sur volume.

APGIII : Groupe Phylogénie angiospermes III.

HbA1c : Hémoglobine glyquée.

# Table des Matières

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
1. Diabète sucré, troubles métaboliques et stress oxydatif.....	4
2. Traitement du diabète entre les médicaments et les plantes médicinales.....	9
3. Présentation de la plante étudiée.....	15
<b>Matériels et méthodes</b>	
1. Matériel végétal.....	21
2. Préparation des extraits et leurs fractions.....	21
2.1. Extraits bruts eau-méthanol.....	22
2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydro-méthanolique.....	22
3. Rendement d'extraction.....	24
4. Tests phytochimiques.....	24
5. Dosage des composés phénoliques.....	26
5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	26
5.2. Dosage des Flavonoïdes.....	28
6. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité hémolytique.....	29
7. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	30
7.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	31
7.2. Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxydant Power).....	32
7.3. Test de phosphomolybdate (capacité antioxydante totale).....	34
8. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antidiabétique.....	35
8.1. Test $\alpha$ -amylase.....	35
8.2. Test $\alpha$ -glucosidase.....	37
9. Analyse statistique.....	39

## Résultats et interprétation

I. Etude phytochimique.....	40
1. Caractéristiques extraits et fractions.....	40
2. Tests phytochimiques.....	40
3. Dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et des flavonoïdes).....	42
II. Etudes biologiques.....	45
1. Recherche d'effet hémolytique.....	45
2. Activité antioxydante.....	47
2.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH.....	47
2.2. Pouvoir réducteur du Fer (FRAP).....	50
2.3. Capacité antioxydante totale (CAT).....	54
3. Activité antidiabétique .....	56
3.1. Alpha-amylase.....	56
3.2. Alpha-glucosidase.....	59
<b>Discussion générale.....</b>	<b>64</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>72</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>74</b>

# **Introduction générale**

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre le mécanisme de défense antioxydant naturel chez l'homme et les radicaux libres qui causent des lésions à diverses structures cellulaires (Vanielic et al., 2019). Il joue un rôle essentiel dans la pathogénèse et le développement de diverses maladies dégénératives notamment le diabète sucré, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, le cancer, la polyarthrite rhumatoïde, l'inflammation, les troubles neurologiques et le vieillissement (Duletić-Laušević et al., 2019).

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique croissante à l'échelle mondiale qui provoque de grandes complications sur la santé. Le nombre des personnes affectées continue d'augmenter considérablement (OMS, 2016). Il y a près de 463 millions de patients diabétiques dans le monde estimés d'atteindre 700 millions l'an 2045 (FID, 2019).

Le diabète est caractérisé par un stress oxydatif élevé et une altération des systèmes de défense antioxydants qui contribuent à l'initiation et la progression des complications liées à cette maladie (Ramdane et al., 2019). En effet, le stress oxydatif est une cause principale dans l'apparition et le développement des troubles diabétiques via la formation des radicaux libres oxygénés. De plus, l'augmentation du glucose intracellulaire contribue à la diminution des mécanismes de défense antioxydants (Sow et al., 2019).

Les médicaments antidiabétiques actuels montrent une certaine efficacité mais ils comportent aussi plusieurs inconvénients. Généralement, leur mécanisme d'action est spécifique avec un seul constituant actif (Gayathri et Gayathri, 2016). De plus, ils présentent des effets secondaires importants et inévitables, diminution de l'efficacité et un coût élevé (Bahare et al., 2019).

Une des stratégies de traitement du diabète de type 2 est l'inhibition de la dégradation des polysaccharides en glucose (Barrett et Udani, 2011 ; Sales et al., 2012) par l'inhibition des  $\alpha$ -amylase et glucosidase. Ces deux enzymes ont un rôle crucial dans l'hydrolyse des polysaccharides pour obtenir un glucose adapté à l'absorption (Ercan et El, 2016). Elles sont deux enzymes clés pertinentes pour le diabète de type 2 (Apostolidis et al., 2007). Ainsi, l'hyperglycémie chez les patients atteints de diabète de type 2 est attribuée à la dégradation de l'amidon par l' $\alpha$  amylase pancréatique et l' $\alpha$ -glucosidase intestinale (Apostolidis et al., 2007). Cependant, l'utilisation de l'acarbose, médicament antidiabétique, est actuellement restreinte en raison de ses effets secondaires (Arulselvan et al., 2014). Par conséquent, la recherche et la découverte de nouveaux inhibiteurs potentiels de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase provenant

de sources naturelles sont des approches recherchées pour ralentir la production de glucose dans l'intestin humain.

Bien que le diabète et le stress oxydatif soient corrélés l'un à l'autre, il y a un besoin important de découvrir de nouveaux composés naturels qui possèdent une double propriété contre le diabète et les radicaux libres à la fois. Dans ce sens, nous nous sommes attachés dans le présent travail à rechercher et évaluer l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits et des fractions préparées de la partie aérienne *Salvia officinalis* L.

La sauge (*Salvia officinalis* L.) est une plante médicinale et aromatique importante, utilisée comme matière première pour diverses industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (Yashaswini et al., 2019). C'est une plante herbacée vivace arbustive appartenant à la famille des *Lamiacées*. Elle est originaire de la région méditerranéenne mais elle est largement cultivée dans diverses parties du monde (Mekhaldi et al., 2014).

Dans la médecine traditionnelle, les infusions de la sauge sont utilisées pour le traitement de plusieurs troubles tels que la transpiration excessive, les troubles nerveux, la gingivite, antiseptique pour les blessures et pour améliorer la cognition (Yashaswini et al., 2019). C'est une plante aromatique étudiée principalement pour sa teneur importante en huile essentielle (Traykova et al., 2019).

Actuellement, *S. officinalis* reçu une attention considérable en tant que source riche d'une variété de composés phénoliques de qualité (Martins et al., 2014). Elle est étudiée pour ses diverses activités biologiques notamment antioxydante (Yashaswini et al., 2019), antidiabétique (Farzaneh et Carvalho, 2015), anti-inflammatoire (Giacometti et al., 2018), diurétique (Korkmaz et al., 2016), antidiarrhéique (Elkhoudri et al., 2016), antimicrobienne (Farzaneh et Carvalho, 2015) et anti-cancérogène (Kaliora et al., 2014).

Les composés phénoliques dont les flavonoïdes dans les plantes sont associés à leur activité antioxydante. Ce sont les substances les plus répandues doués de propriétés antioxydantes significatives (Trabsa et al., 2020). Les extraits des végétaux riches en polyphénols et flavonoïdes sont signalés comme étant les inhibiteurs significatifs de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase (Tadera et al., 2006 ; Ademiluyi et Oboh, 2012). En outre, ils inhibent la glycation des protéines et réduisent la formation des radicaux libres (Ou et al., 2017 ; Yeh et al., 2017).

Les extraits végétaux peuvent protéger la membrane des globules rouges contre l'oxydation comme ils peuvent avoir des effets indésirables graves, notamment l'anémie hémolytique (Freitas et al., 2008 ; Lígia et al., 2019). Les globules rouges sont le modèle cellulaire le plus courant utilisé dans les tests de toxicité car ils sont vulnérables au stress oxydatif résultant d'un taux élevé d'acides gras polyinsaturés, des ions ferreux et d'oxygène moléculaire (Phuse and Khan, 2018).

Dans ce travail, nous avons réalisé une extraction eau-méthanol (30/70, v/v) de la partie aérienne de *Salvia officinalis* par infusion, décoction ou macération suivie d'un fractionnement liquide-liquide par deux solvants à polarité différente, acétate éthyle et n-butanol. Nous avons déterminé la composition phytochimique qualitative et la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes contenus dans les extraits bruts hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol. Nous avons procédé à l'évaluation de la toxicité par des tests d'hémolyse à partir des extraits et des fractions préparées de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. En outre, nous avons recherché et évalué les activités antioxydante et antidiabétique des différents extraits et fractions. L'activité antioxydante a été testée par les trois méthodes du DPPH, FRAP et CAT. L'activité antidiabétique a été évaluée par la suite, *in vitro*, par la capacité des différents extraits et fractions à inhiber l'activité des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase.

# **Synthèse bibliographique**

## 1. Diabète sucré, troubles métaboliques et stress oxydatif

Le diabète sucré est un problème de santé mondial très répandu qui apparaît comme un énorme fardeau sanitaire et socio-économique (Basit et al., 2018). En 2017, il a causé 4 millions de décès dans le monde (FID, 2017). Le nombre des patients affectés augmente en progression continue. Selon les statistiques de la Fédération Internationale du Diabète (2019), 285 millions de personnes sont atteints en 2009. Ce chiffre a augmenté à 382 millions en 2013, 425 millions en 2017 et à 463 millions en 2019 avec un taux de 9,3%. En 2045, le nombre des diabétiques pourra atteindre 700 millions dans le monde (figure 1) (FID, 2019).

Les données épidémiologiques en Algérie enregistrent une augmentation de 80% entre 2003 et 2017 avec une prévalence de 8,9% de diabétiques soit de plus de 4,5 millions des cas (FID, 2019).



**Fig.1.** Estimations de la Fédération Internationale du Diabète (2019) du nombre des diabétiques dans le monde depuis 2000 à 2045

Le diabète sucré est un ensemble de désordres métaboliques causés par une insuffisance relative en insuline, une résistance à l'insuline ou une combinaison entre les deux (Lankatillake et al., 2019). Rehman et Akash (2017) le décrit comme un syndrome métabolique multifactoriel caractéristique des glucides, des lipides et des protéines entraînant une hyperglycémie et une hyperlipidémie. Les deux principales formes de diabète sont le diabète de type 1 et de type 2. Le diabète de type 1 représente 5 à 10% des cas de diabétiques.

Il est le résultat d'une destruction auto-immune des cellules  $\beta$  pancréatiques conduisant à une dépendance à l'insuline exogène (OMS, 2016 ; FID, 2019). Il touche généralement les enfants et les adolescents (Ozturk et al., 2018). Il est caractérisé par une phase pré-diabète asymptomatique qui peut durer de 5 à 10 ans. La symptomatologie clinique apparaît lorsqu'il ne reste que 10 à 20% des cellules  $\beta$  fonctionnelles et que l'insulinémie est insuffisante à maintenir les valeurs normales de la glycémie (Batina et al., 2010). Outre la prédisposition génétique (Marchand et Thivolet, 2016), les infections virales (rotavirus, myxovirusparoditis, rubivirus) (Coppieters et al., 2012), les allergies alimentaires (Batina et al., 2010) et les troubles psychologiques (Fogel et al., 2010) peuvent conduire à des lésions pancréatiques.

Le diabète de type 2 est la forme la plus courante du diabète qui représente plus de 85% des diabétiques (Infante-Garcia et Garcia-Alloza, 2019). Il résulte de l'interaction entre la prédisposition génétique et les facteurs de risque environnementaux tels que l'obésité, la graisse androïde, une alimentation déséquilibrée et la sédentarité (FID, 2019). Son évolution peut durer plusieurs années sans symptômes cliniques gérant de graves complications qui contribuent à des niveaux élevés de morbidité (Lankatillake et al., 2019). La physiopathologie du diabète de type 2 se caractérise par une phase prédiabétique et une phase diabétique. La phase prédiabétique se caractérise par une diminution de l'utilisation du glucose au niveau des muscles squelettiques et de foie, une sécrétion accrue d'insuline, une augmentation de la sécrétion de glucagon, une surproduction hépatique de glucose, une libération d'acides gras libres et d'adipocytokines et une stimulation de la néoglucogénèse (Lankatillake et al., 2019). Le passage de l'état prédiabétique au diabète de type 2 se détermine par une diminution de la fonction des cellules  $\beta$  du pancréas et de l'insulinosécrétion compensatrice. Cette transition peut être génétiquement programmée ou acquise (glucotoxicité ou lipotoxicité) ou les deux à la fois (Lankatillake et al., 2019).

Le diabète gestationnel est un type de diabète apparaît pendant la grossesse et disparaît après l'accouchement. Cependant, les femmes enceintes diabétiques sont à risque d'avoir un diabète de type 2 après l'accouchement. Il est lié à une résistance à l'insuline pendant la grossesse. Un diabète gestationnel mal contrôlé augmente aussi le risque de la mort fœtale (FID, 2019).

Les autres formes de diabète sont plus rares. Se sont des diabètes secondaires résultant à des conditions spécifiques ou génétiques tels que: le diabète induit par les médicaments ou les produits chimiques : l'utilisation des glucocorticoïdes, le traitement du SIDA ou les immunosuppresseurs après transplantation d'organe ; les maladies du pancréas exocrine : la

mucoviscidose et la pancréatite ; les syndromes de diabète monogénique : diabète néonatal, diabète de MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) (FID, 2019).

L'anomalie physiologique caractéristique du diabète sucré est hyperglycémie. Par conséquent, la mesure de la glycémie est utilisée pour le dépistage, le diagnostic et la surveillance du diabète. Selon l'association Américaine du diabète (ADA) (2020), il y a quatre types de tests disponibles pour le diagnostic du diabète: la glycémie à jeun, la tolérance au glucose par voie orale, le test aléatoire de glucose et le test d'hémoglobine glyquée. Le diagnostic le plus simple est le dosage de la glycémie. A jeun, la valeur normale de la glycémie s'établit entre 0,7 et 1 g/l (ADA, 2020). Le diagnostic est posé lorsqu'elle est égale ou supérieure à 1,26 g/l (ou 7 mmol/l) constatée à répétition. Le test de tolérance au glucose par voie orale mesure la glycémie à jeun puis après avoir ingéré une dose de glucose. La dose de glucose ingérée est de 1 g par kg de poids avec un maximum de 75 g. Le sang est prélevé à jeun et après deux heures d'une charge de glucose. Une glycémie de 2 heures supérieure ou égale à 1,55 (8,60 mmol/l) indique le survenu d'un diabète. Le test de la glycémie aléatoire (occasionnel) est le dosage de la glycémie réalisé à tout moment de la journée. Une glycémie supérieure ou égale à 2 g/l oriente vers un diabète. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) est l'indice le plus précis à la recherche et surtout à la surveillance du diabète et l'efficacité du traitement. Dans un diabète contrôlé le taux d'hémoglobine glyquée est de 6,5%. Au-delà, le diabète est considéré mal contrôlé dont le risque de complications à long terme augmente.

L'hyperglycémie chronique implique le dysfonctionnement de plusieurs organes et l'apparition des complications microangiopathiques et macroangiopathiques du diabète (Lugrin et al., 2014). Les complications microangiopathiques touchent la rétine, le glomérule rénal et les nerfs périphériques. Elles causent une insuffisance rénale, des lésions nerveuses et une rétinopathie (cécité) (OMS, 2016). D'autre part, les complications macroangiopathiques concernent les artères du cœur et du cerveau. Elles provoquent une crise cardiaque, un accident vasculaire cérébral et des atteintes des membres inférieurs (artérite, ischémie et troubles trophiques du pied) (ADA, 2020). Cependant, l'hyperglycémie peut avoir un impact mortel s'il déclenche un coma diabétique ou acidocétose par accumulation des corps cétoniques (ADA, 2020).

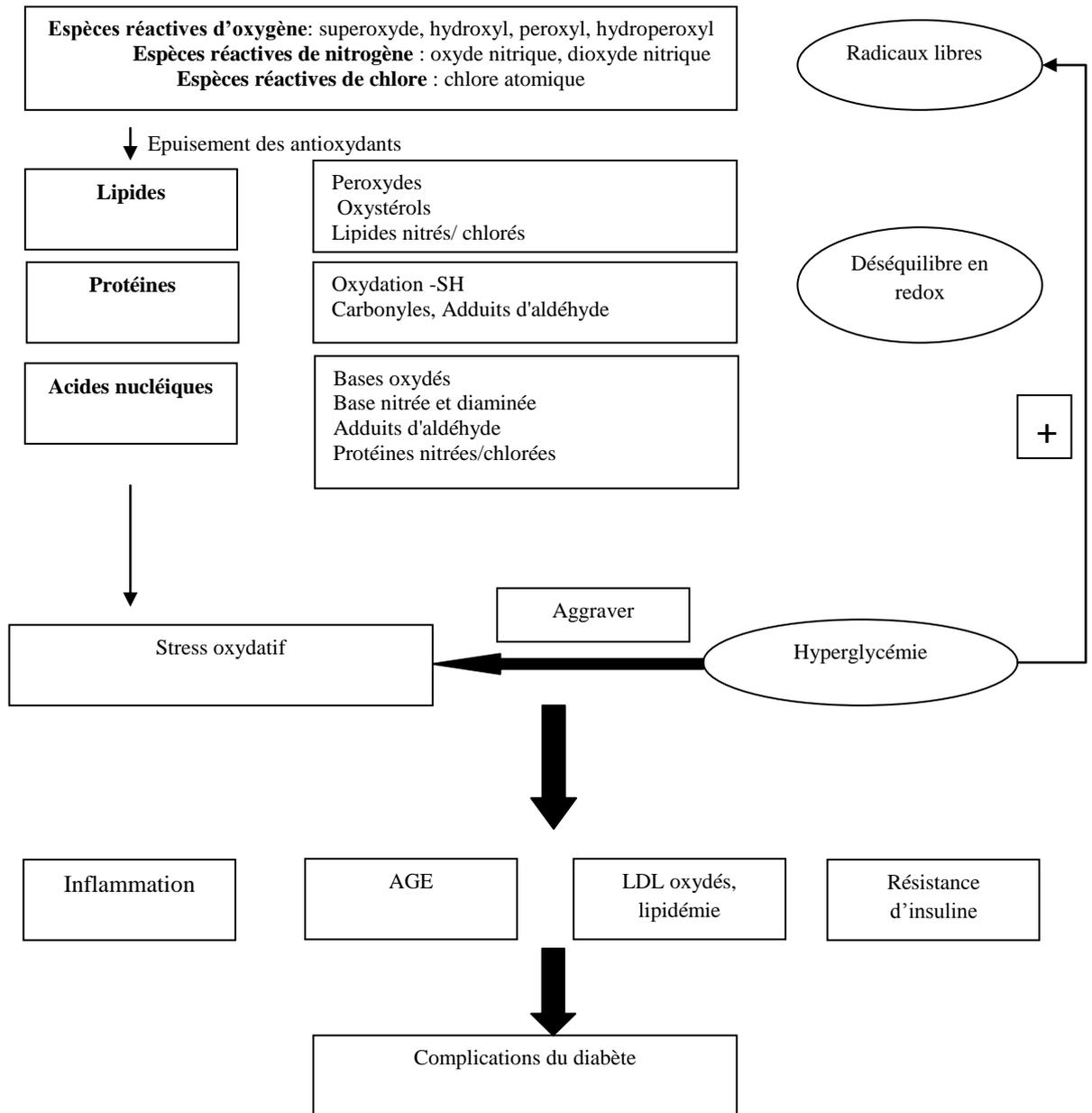
En outre, L'hyperglycémie chronique est considérée responsable des dommages d'ADN, des lipides et des protéines cellulaires dont le degré de ces dommages est lié au degré d'induction des radicaux libres (Tanaka et al, 1999 ; Butkowski et Jelinek, 2017 ; Rehman et Akash, 2017). Les radicaux libres sont des espèces chimiques de courte durée de vie contenant un ou

plusieurs électrons non appariés. Par conséquent, ils peuvent réagir rapidement avec d'autres substances essayant d'attraper les électrons pour obtenir leur stabilité (Asmat et al., 2016 ; Radi et al., 2018). Ce sont généralement des espèces réactives très instables considérées bénéfiques et délétères à la fois (Pham-Huy et al., 2008). Les radicaux libres jouent un rôle physiologique dans de nombreuses voies moléculaires comme celles de la signalisation cellulaire, la plasticité synaptique, la formation de la mémoire, la défense contre les agents pathogènes, l'interaction cellule-cellule, la croissance cellulaire, l'autophagie, processus apoptotique et vieillissement (Bokkon, 2012 ; Angelova et Abramov, 2018). Lorsque la génération des radicaux libres augmente au-dessus de la plage physiologique, elle surmonte les mécanismes antioxydants des cellules (Halliwell et Gutteridge, 2015 ; Angelova et Abramov, 2018). Ces éléments hyperactifs peuvent oxyder les protéines, les lipides et les acides nucléiques produisant des sous-produits toxiques conduisant à un dysfonctionnement tissulaire (Sies et al., 2017 ; Radi et al., 2018). Les radicaux libres sont des dérivés actifs de l'oxygène (ROS) tels que hydroperoxyde, superoxyde, peroxyde d'hydrogène et d'azote (RNS) tels que peroxyde d'azote (Halliwell et Gutteridge, 2015). Certains dérivés de métaux lourds comme le fer et le cuivre ont des propriétés radicalaires (Tangvarasittichai, 2015).

Les cellules ont un mécanisme de défense intrinsèque impliquant diverses enzymes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion, et extrinsèque y compris des micronutriments (sélénium et zinc) et des vitamines telles que les vitamines C, E et A, qui protègent les cellules contre les attaques des radicaux libres (Maritim et al., 2003). La superoxyde dismutase élimine le radical superoxyde en accélérant sa conversion en peroxyde d'hydrogène tandis que la glutathion peroxydase détoxifie les peroxydes d'hydrogène et les peroxydes lipidiques (Jurkovič et al., 2008). La catalase agit dans la décomposition de peroxyde d'hydrogène à l'eau et à l'oxygène. L'hyperglycémie peut interférer avec le système de défense antioxydant entraînant des changements dans les activités des enzymes antioxydantes (Hamden et al., 2009). L'augmentation de la concentration de peroxyde d'hydrogène par exemple inhibe la superoxyde dismutase tandis que son glycosylation et / ou la perte de  $\text{Cu}^{2+}$ , un cofacteur nécessaire à l'activité enzymatique, diminue son activité (Seven et al., 2004).

Des preuves expérimentales ont montré la corrélation entre le stress oxydatif et la pathogénèse du diabète et ses complications (Kahn et al., 2006 ; Kaneto et al., 2010 ; Tatsch et al., 2012 ; Oguntibeju, 2019). Lee et son équipe (2010) ont constaté que l'hyperglycémie entraîne une augmentation des biomarqueurs d'oxydation. Ces différents biomarqueurs du stress oxydant

chez les patients diabétiques comprennent le malondialdéhyde (MDA), le cholestérol total et hydroperoxydes réactifs (ROOH) (Yaribeygi et al., 2019). Cette situation induit l'apoptose dans les cellules bêta pancréatiques, l'altération du métabolisme hépatique du glucose et l'activation des cytokines inflammatoires aboutissant au diabète (Dinarello et al., 2010 ; Kaneto et al., 2010 ; Rehman et Akash, 2017). Dans le diabète, l'auto-oxydation augmentée du glucose et la formation accrue de produits finaux de glycation avancée (AGE) produisent les espèces réactives de l'oxygène qui provoquent des lésions tissulaires (Brownlee, 2005 ; Harani et al., 2012) (figure 2). De plus, l'hyperglycémie affecte les voies de signalisation de l'insuline. Ainsi, fonctionnellement, elle modifie les récepteurs de l'insuline et la translocation du transporteur d'insuline dépendant du glucose, GLUT-4 (Olivares et Arellano, 2008). Hanazaki (2009) a constaté l'inhibition de la transcription d'ARNm du gène de l'insuline lors d'une exposition de la lignée cellulaire  $\beta$  pancréatique isolée au stress oxydatif.



AGE : Produit final de glycation avancée, LDL : lipoprotéine basse densité, + stimulation

**Fig.2.** Schéma de la relation entre le stress oxydatif et les complications diabétiques (Kailash et al., 2019)

## 2. Traitement du diabète entre les médicaments et les plantes médicinales

L'efficacité de la gestion du diabète dépend sur le respect des recommandations d'hygiène diététiques dont l'importance d'une alimentation saine, une activité physique adéquate et du traitement approprié (OMS, 2016). Plusieurs thérapies pharmaceutiques sont actuellement disponibles pour traiter le diabète avec différents modes d'action (tableau 1). Le médecin

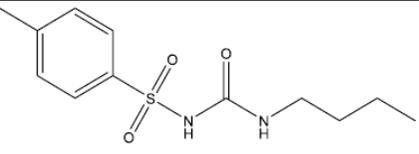
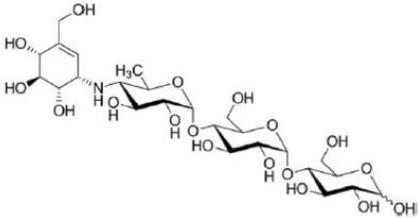
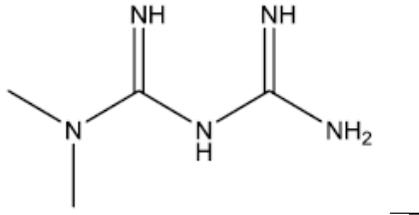
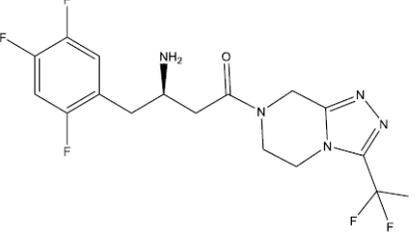
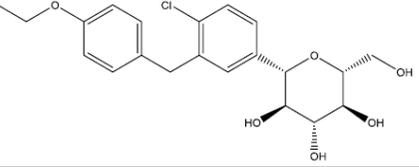
prescrit le ou les médicaments appropriés en fonction des besoins du patient tout en tenant compte les effets secondaires du traitement.

Les insulinosécréteurs sont les sulfonyles (Tolbutamide, Glipizide, Glyburide, Glimépiride) et les méglitinides (Repaglinide, Nateglinide). Ils sont des sécrétagogues de l'insuline qui stimulent son sécrétion par les cellules  $\beta$  pancréatiques (ADA, 2009). Les insulinosensibilisateurs sont des insulino mimétiques qui comprennent les biguanides (Metformine) et les thiazolidinediones (Pioglitazone, Rosiglitazone) (Diamant et Heine, 2003 ; ADA, 2009 ; Nanjan et al., 2018). Ainsi, les inhibiteurs enzymatiques inhibent un certain nombre d'enzymes métaboliques (Zhang et al., 2011). L'Acarbose et le Miglitol sont les médicaments les plus prescrits. De plus, les incrétinomimétiques (Sitagliptine, Vildagliptine) sont connus par les inhibiteurs de la DPP-4 (Dipeptidyl peptidase-4) et des analogues du GLP-1 (Glucagon-like peptide-1). Ils agissent sur l'appétit et la satiété inhibant la sécrétion de glucagon et favorisant la production d'insuline (Davidson et al., 2008; Campbell et White, 2008). Les inhibiteurs du co-transporteur de glucose de sodium (SGLT) sont une nouvelle classe des antidiabétiques oraux comprend Dapaglifozin, Empaglifozin, Ertuglifozin. Ils inhibent les protéines SGLT-2 dans les tubules proximaux rénaux responsables de la réabsorption du glucose (Hsia et al., 2018). Ce type de médicament facilite l'élimination du glucose dans les urines en inhibant sa réabsorption par le rein (Hsia et al., 2018 ; Wanner et Marx, 2018).

Chez les patients atteints de diabète type 2 avancé, les médicaments oraux ne peuvent pas contrôler adéquatement l'hyperglycémie. Ces patients sont placés sous traitement de substitution à l'insuline. Son administration se fait généralement par des stylos injecteurs d'insuline (Royal Australian College of General Practitioners, 2016). L'insulinothérapie est recommandée lorsqu'une thérapie de 2 à 3 mois avec les médicaments antidiabétiques oraux ne parvient pas à atteindre des taux d'HbA1c  $\leq 7\%$  (Swinnen et al., 2009).

Bien que les thérapies conventionnelles puissent aider à réguler la glycémie et à gérer les symptômes du diabète, elles ne sont pas dépourvues d'effets secondaires indésirables. L'insulinothérapie et les sécrétagogues peuvent entraîner une réduction létale de la glycémie (ADA, 2009). Les Sulfonyles et les thiazolidinediones peuvent favoriser la prise de poids. Ainsi, les biguanides et les inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase provoquent souvent des troubles gastro-intestinaux (tableau 1).

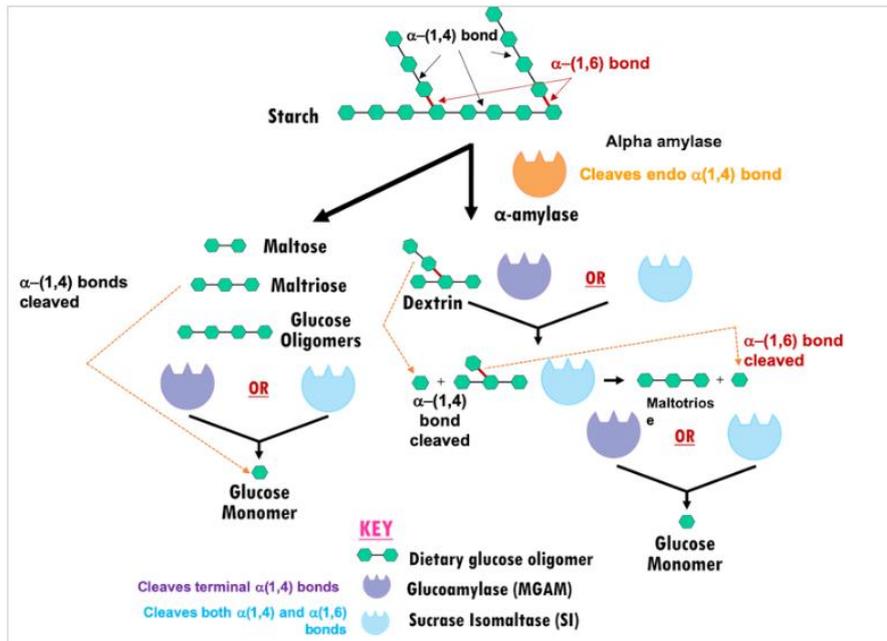
**Tableau1.** Thérapies anti-hyperglycémiques orales courantes et leurs modes d'action

Classe /Exemple	Structure exemple	Mode d'action	Effets indésirables	Contre indications	References
<b>Sulfonylurés :</b> tolbutamide		Augmentent la sécrétion d'insuline pancréatique	Hypoglycémie, prise de poids, risque accru de maladies cardiovasculaires	Maladie rénale et hépatique, prédisposition à l'hypoglycémie grossesse, Chirurgie majeure, allergie aux sulfamides	(ADA, 2009)
<b>Inhibiteurs <math>\alpha</math> - glucosidase :</b> acarbose		Réduit l'absorption des glucides alimentaires	Perturbations gastro-intestinales: flatulence, diarrhée	Maladie rénale et hépatique, syndrome du côlon irritable, grossesse, allaitement, enfants <12 ans	(Tremblay et al., 2010)
<b>Biguanides:</b> metformine		Augmentent la sensibilité à l'insuline et réduisent la production de glucose hépatique	Problèmes gastro-intestinaux, goût métallique, altération possible de l'absorption des vitamines B12 et B9, acidose lactique, risque d'hypoglycémie	Maladie rénale et hépatique, insuffisance cardiaque ou respiratoire, antécédents d'acidose lactique, infection grave, grossesse	(ADA, 2009 ; Samuel et Shulman, 2012 ; Pataky et al., 2019)
<b>Inhibiteurs de DPP-4 :</b> sitagliptine		inhibent la sécrétion de glucagon et favorisent la production d'insuline	Risque accru d'infection, maux de tête	Antécédents d'hypersensibilité à la sitagliptine	(Diamant et Heine, 2003 ; Nanjan et al., 2018)
<b>Inhibiteurs de SGLT-2 :</b> dapaglifozine		Réduisent la réabsorption du glucose dans les reins	Risque accru d'infections des voies urinaires, risque d'acidocétose	Maladie rénale	(Hsia et al., 2018; Wanner et Marx, 2018)

Dans le système digestif humain, les polymères de glucose vont subir une série de décomposition pour libérer le glucose disponible à l'absorption intestinale. Les  $\alpha$ -amylase et les  $\alpha$ -glucosidase sont les principales classes d'enzymes de digestion des ces glucides (Bowen, 2006). L' $\alpha$ -amylase (salivaire et pancréatique) agit sur les glucides à longue chaîne. Tandis que l' $\alpha$ -glucosidase (la maltase glucoamylase et la sucrase isomaltase) agit sur les chaînes d'amidon les plus courtes et les disaccharides. L' $\alpha$ -amylase salivaire hydrolyse les liaisons endo  $\alpha$ -(1,4) dans les molécules d'amidon dans la bouche pour générer des oligomères plus courtes. Tandis que, l' $\alpha$ -amylase pancréatique agit sur les produits de la digestion de l' $\alpha$ -amylase salivaire dans l'intestin. Elle hydrolyse les liaisons glycosidiques endo  $\alpha$ -(1,4) et produit des oligosaccharides beaucoup plus petits comme le maltose, le maltotriose et la dextrine (Bowen, 2006). Les produits d'hydrolyse de l'amylase ne peuvent pas être absorbés par l'intestin. Ils sont donc décomposés en monosaccharides par  $\alpha$ -glucosidase intestinale liée à la membrane (Bowen, 2006). La maltase-glucoamylase (MGAM) clive les liaisons glycosidiques non réductrices  $\alpha$ -(1,4) pour libérer l' $\alpha$ -D-glucose. Du même, la sucrase-isomaltase (SI) hydrolyse les liaisons glycosidiques  $\alpha$ -(1,4) pour libérer l' $\alpha$ -D-glucose. De plus, le domaine N-terminal de la sucrase-isomaltase (NtSI) clive les liaisons  $\alpha$ -(1,6) de l'amylopectine. Tandis que le domaine C-terminal (CtSI) est capable de cliver les liaisons l' $\alpha$ -(1, 2) du saccharose (Tableau 2, figure 3).

**Tableau 2.** Caractéristiques générales des alpha-amylase et glucosidase humaines (Jiang et Ghosh, 2019)

Nom d'enzyme	Alpha Amylase		Alpha Glucosidase		
	Alpha amylase salivaire	Alpha amylase pancréatique	Domaines MGAM : N et C-terminaux	Domaine N-terminal de SI	Domaine C-terminal de SI
<b>Présence</b>	Bouche	Intestin	Intestin	Intestin	Intestin
<b>Substrat</b>	longues chaînes d'amidon : unités D-glucose $\alpha$ (1,4)		chaînes d'amidon plus courtes : liaisons $\alpha$ - (1,4)	chaînes d'amidon plus courtes : liaisons $\alpha$ - (1,4) et $\alpha$ - (1,6)	chaînes d'amidon plus courtes : liaisons $\alpha$ - (1,4) et $\alpha$ - (1,2)
<b>Produits</b>	chaînes d'amidon plus courtes	polymères $\alpha$ -(1,4) et $\alpha$ - (1,6): maltose, maltotriose, dextrine	Glucose	Glucose	Fructose
<b>Famille</b>	Glycoside Hydrolase 13		Glycoside Hydrolase 31		
<b>Nom codifié</b>	EC 3.2.1.1.		EC 3.2.1.20		
<b>Nom systématique</b>	1,4- $\alpha$ -D-glucane ,4 glucanohydrolase		glucane 1-4 $\alpha$ glucosidase		



**Fig.3.** Digestion de l'amidon par les  $\alpha$ -amylases et glucosidases. Hexagones verts : unités de glucose (Bowen, 2006)

Les inhibiteurs pharmaceutiques des  $\alpha$ -amylase et glucosidase (Acarbose et Miglitol) retardent la digestion des glucides et réduisent la glycémie à court terme. Ce qui améliore le taux d'hémoglobine glyquée chez les patients atteints de diabète de type 2 (Ren et al., 2011). Parce que leur mécanisme d'action n'améliore pas la sécrétion d'insuline, l'Acarbose et le Miglitol peuvent être combinés avec d'autres agents hypoglycémifiants comme les sulfonylurés ou le Metformine (Tableau 3).

**Tableau 3.** Informations générales sur acarbose et miglitol

	<b>Acarbose</b> (Markosian et al., 2019)	<b>Miglitol</b> (Tinio et al., 2019)
<b>Description</b>	Médicament antidiabétique oral	
<b>Cibles</b>	$\alpha$ -glucosidase	
<b>Générique</b>	Acarbose	Miglitol
<b>Nom commercial</b>	Precose, Glucobay, Prandase	Glyset, Diastabol, Plumarol
<b>Médicament (s) combiné (s)</b>	sulfonylurés, l'insuline ou Metformine.	sulfonylurées et Metformine à doses fixes
<b>Doses disponibles</b>	50 et 100 mg	100 mg
<b>Formule chimique</b>	$C_{25}H_{43}NO_{18}$	$C_8H_{17}NO_5$
<b>Poids moléculaire</b>	645.60 g/mol	207.22 g/mol
<b>Demi-vie (heures)</b>	~ 2 heures	2-3 heures

Selon les statistiques de l'OMS (2016), plus de 80% de la population mondiale, en particulier dans les pays sous-développés, obtiennent leurs besoins primaires de soins sanitaires auprès des plantes médicinales. Le développement des antidiabétiques efficaces et économiques avec des effets secondaires minimes ou inexistantes a son importance dans l'industrie pharmaceutique de découverte de médicaments. Les suppléments antidiabétiques naturels sont de plus en plus populaires et de nombreuses recherches scientifiques se sont concentrées sur eux.

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales dont beaucoup d'entre elles sont utilisées dans le traitement du diabète (Azzi et al., 2012 ; Hamza et al., 2012 ; Azzi, 2013, Benarba et al., 2015; Hamza et al., 2019). En général, les familles les plus utilisées dans le traitement du diabète sont les *Asteracées*, *Lamiacées*, *Apiacées* et *Fabacées*. Les plantes les plus utilisées sont *Trigonella foenum-graecum* L.; *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.; *Artemisia herba-alba* Asso; *Zygophyllum album* L.f.; *Ajuga iva* (L.) Schreb.; *Salvia officinalis* L. (Hamza et al., 2019). Nombreuses plantes médicinales d'utilisation antidiabétique sont citées dans la littérature pour leur effets inhibiteurs pour l' $\alpha$ -amylase et glucosidase dans la prévention d'une augmentation postprandiale excessive de la glycémie : *Equisetum Arvense* (le grain), *Matricaria pubescens*, *Oudneya africana* (les gousses), *Salvia officinalis*, *Thapsia garganica*, *Cistus* SP, *Zygophyllum album* (Khacheba et al., 2014 ; Khacheba et al., 2017).

De nouveaux remèdes de délivrance d'antioxydants naturels peuvent piéger les radicaux libres et surmonter les complications du diabète sont recommandés. Les interventions thérapeutiques à base des plantes contre le stress oxydatif fournissent une efficace stratégie pour traiter le diabète (Forni et al., 2019). Les activités biologiques des extraits des plantes sont principalement dues aux métabolites secondaires. Des données épidémiologiques et expérimentales démontrent qu'ils sont doués de puissantes propriétés antioxydantes qui peuvent améliorer et même traiter les maladies liées au stress oxydatif (Forni et al., 2019). Les composés phénoliques sont l'un des groupes de métabolites secondaires les plus importants et les plus répondus de le règne végétal (Figueira et al., 2017). Structurellement, ils sont caractérisés par la présence d'au moins une fonction hydroxyle (-HO) liée à un cycle aromatique (Tsao, 2011). La classification des composés phénoliques fait référence au nombre de cycles phénols. Les principaux sous-groupes comprennent les acides phénoliques, stilbènes, flavonoïdes, tanins, coumarines et lignanes (Figueira et al., 2017). Le groupe le plus large des polyphénols est représenté par les flavonoïdes qui représentent plus de 10 000 composés différents (Cheynier et al., 2013 ; Figueira et al., 2017). Comme d'autres composés

phénoliques, les flavonoïdes ont montré plusieurs propriétés biologiques notamment l'effet antioxydant (Garcia-Alloza et al., 2006) ou antidiabétique (Dominguez Avila et al., 2017 ; Liu et al., 2019). Ils possèdent une large gamme des effets pharmacologiques, y compris anticancéreux, antioxydant, antidiabétique, immunologique, anti-inflammatoire, antipyrétique, antibactérien, antifongique, antiviral, antiulcéreux, antiostéoporotique, endocrinien, hépatoprotecteur, effets vasorelaxants, antiathéroscléreux, antithrombogènes, cardioprotecteurs, anxiolytiques et bien d'autres (Al-Snafi, 2020).

### 3. Présentation de la plante étudiée

*Salvia officinalis* appartient à la famille des *Lamiacées* qui contient environ 1000 espèces (Walker et al., 2007). C'est une plante aromatique vivace originaire des régions méditerranéennes orientales (Ulubelen, 2000). Elle croit de manière spontanée et en culture dans le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le nord de l'Afrique. Cette plante est assez cultivée en Algérie (Baba, 2000). Elle se cultive en sol léger et perméable, voire rocailleux, toujours à exposition ensoleillée. Elle préfère les terrains chauds et calcaires et elle résiste à la sécheresse (Gilly, 2005).

Plusieurs appellations ont été données à *Salvia officinalis* : sauge, sauge de jardin, sauge doré, sauge de cuisine, vraie sauge, sauge culinaire, et sauge à feuilles larges. Elle est largement connue en Turquie sous le nom d'adaçayı qui signifie "le thé des îles". En Algérie, on l'appelle miramia ou siwak ennabie (Hamidpour et al., 2014).

*Salvia officinalis* L. appartient à la systématique suivante (APG III, 2009) :

Règne :	Archéplastides
Clade:	Angiospermes
Clade:	Dicotylédones vraies
Clade:	Noyau des Dicotylédones vraies
Clade:	Astéridées
Clade:	Lamiidées
Ordre:	Lamiacées
Sous-famille:	Néptoïdées
Genre :	<i>Salvia</i>
Espèce :	<i>officinalis</i> L.

*S. officinalis* pousse sous la forme d'un sous-arbuste vivace très ramifié à feuillage persistant très aromatique atteignant jusqu'à 60 cm de hauteur. Les feuilles sont opposées et simples

avec des poils blancs sur la face inférieure et verdâtre ou gris verdâtre sur la surface supérieure. Elles sont allongées et pétiolées avec une marge dentelée (Hedge et al., 1972; Šilić et al., 1974). Les tiges sont dressées ou couchées avec d'abondantes branches veloutés vert foncé (Fig.4a). Les fleurs sont disposées en 6 à 8 verticilles de 4 à 10 fleurs formant une inflorescence en épi. Elles sont grandes (de 20 à 35 mm de long), bilabiées, à pédoncules courts et bleu-violacé clair visibles de mai à août. Ce sont des fleurs pentamères à 4 étamines et 2 carpelles soudés. Ovaire supère à 4 loges, 1 style et 2 stigmates (Fig.4b) (Hans, 2007).



**Fig.4a.** *S. officinalis* feuilles (Liné, 2007) **Fig.4b.** *S. officinalis* fleurs (Jacinto, 2006)

**Fig. 4.** Photos de *Salvia officinalis* L.

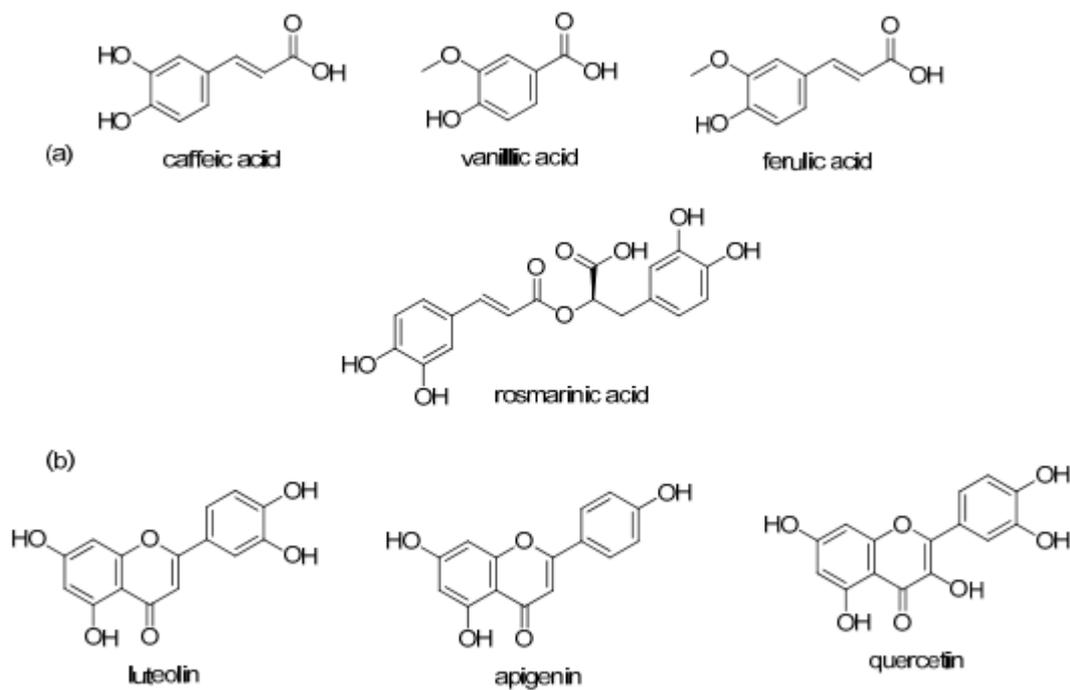
*S. officinalis* est une plante médicinale utilisée depuis l'antiquité. Son nom latin «Salvia» signifie sauver ou guérir. Elle a été utilisée par les Egyptiens contre l'infertilité. Il existait un dicton populaire disant : "Pour quelle raison un homme devrait-il mourir alors que de la sauge pousse dans son jardin ?" Les feuilles séchées de cette plante ont été longtemps fumées pour lutter contre l'asthme. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour réduire la transpiration, comme gargarisme pour le mal de gorge, pour améliorer la régularité d'un cycle menstruel, réduire les bouffées de chaleur, lutter contre les gastro-entérites, améliorer le statut lipidique et la fonction hépatique, améliorer l'appétit et la digestion et pour améliorer la capacité mentale (Özcan et al., 2009). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les problèmes du système nerveux (Radulescu et al., 2004). Elle est également utilisée dans la préparation des aliments, des tisanes (Demirci et al., 2005), en parfumerie et en cosmétique (Delamare Longaray et al., 2007). Plusieurs

recherches scientifiques ont montré les propriétés médicinales et pharmacologiques de *Salvia officinalis* (Tableau 5).

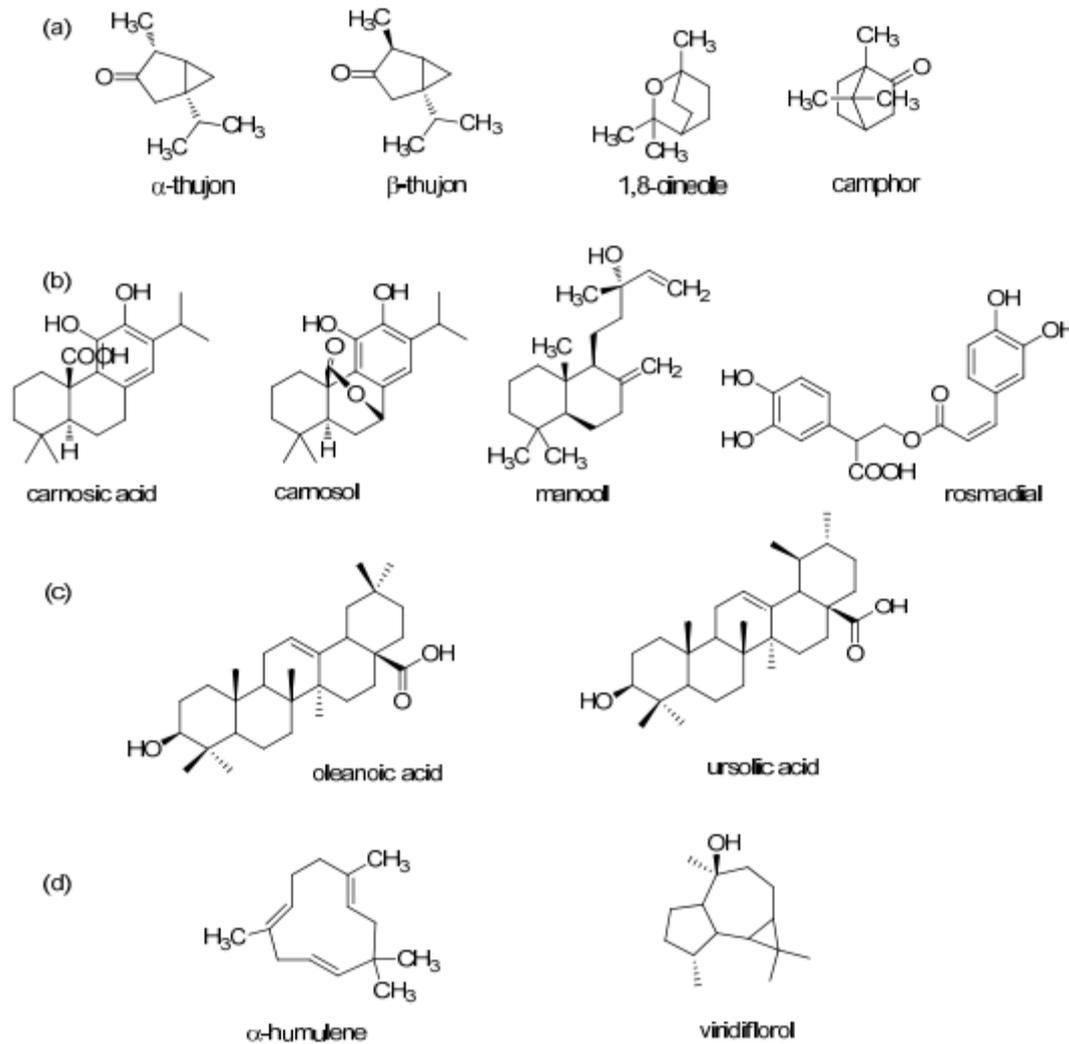
**Tableau 5.** Principaux effets pharmacologiques de *S. officinalis*

<b>Effets pharmacologiques</b>	<b>Références bibliographiques</b>
anticancéreux et antimutagènes	Jedinak et al., 2006 ; El Hadri et al., 2010 ; Keshavarz et al., 2011 ; Li et al., 2013 ; Dianat et al., 2014 ; Pedro et al., 2016 .
Antioxydants	Kozics et al., 2013 ; Azevedo et al., 2013 ; Dianat et al., 2014 ; Govindaraj et Sorimuthu 2015 ; Jha et al., 2016.
anti-inflammatoire	Baricevic et al., 2001 ; Rodrigues et al., 2012 ; Schroder et al., 2013 ; Azevedo et al., 2013 ; Mansourabadi et al., 2015 ; Nicolella et al., 2015.
Antiseptiques	Velickovic et al., 2003 ; Mitic-Culafic et al., 2005 ; Bozin et al., 2007 ; Hayouni et al., 2008 ; Akkawi et al., 2012.
sur la mémoire et les fonctions cognitives	Akhondzadeh et al., 2003 ; Kennedy et al., 2006 ; Eidi et al., 2006 ; Scholey et al., 2008 ; Moss et al., 2010 ; Russo et al., 2013 ; Moss et al., 2014 ; Miroddi et al., 2014 ; Gomar et al., 2014 ; Hasanein et al., 2016.
sur le métabolisme lipidique (réduction du LDL, VLDL cholestérol et triglycérides ; augmentation du HDL)	Sa et al., 2009 ; Kianbakht et al., 2011 ; Khatlab et al., 2012 ; Kianbakht et Dabaghian 2013 ; Hernandez-Saavedra et al., 2016.
Antidiabétique	Eidi et al., 2005 ; Lima et al., 2006 ; Christensen et al., 2010 ; Shafiee-Nick et al., 2012 ; Behradmanesh et al., 2013.
anti-diarrhée	Khan et al., 2011.
Effet hormonal (les bouffées de chaleur)	Walch et al., 2011 ; Bommer et al., 2011.

Actuellement, les recherches scientifiques s'intéressent de plus en plus des composés bioactifs spécifiques de la sauge et leurs effets bénéfiques sur la santé. *S. officinalis* est une source très riche en composés biologiquement actifs qui comprend les monoterpènes, diterpènes, triterpènes et composés phénoliques. Les composés phénoliques sont les constituants les plus abondants de cette plante. Ils peuvent être divisés en acides phénoliques (acide caféique, acide vanillique, acide férulique et acide rosmarinique) et en flavonoïdes (lutéoline, apigénine et quercétine) (figure 5) (Lu et al., 2002 ; Roby et al., 2013). Tandis que, les composants monoterpéniques les plus courants sont:  $\alpha$ - et  $\beta$ -thuyone, 1,8-cinéole et camphre. Les diterpènes majoritaires comprennent l'acide carnosique, le carnosol, le rosmadial et le manool. Alors que, les triterpènes comprennent l'oléanolique et acide ursolique (Fellah et al., 2005 ; Azwanida, 2015 ; Jokić, et al., 2018). En outre, les sesquiterpènes  $\alpha$ -humulène et viridiflorol sont également présents dans des extraits de cette plante (figure 6) (Farhat et al., 2009 ; Glisic et al., 2010 ; Jokić, et al., 2018).



**Fig.5.** Structure des principaux composés phénoliques isolés à partir de *S. officinalis*; (a) les acides phénoliques; (b) les flavonoïdes (Jakovljević et al., 2019).



**Fig.6.** Structure des principaux terpénoïdes isolés à partir de *S. officinalis*; (a) les monoterpènes; (b) les diterpènes; (c) les triterpènes; et (d) sesquiterpènes (Jakovljević et al., 2019).

Comme c'est une plante aromatique, *S. officinalis* contient une variété de composés volatils dans son huile essentielle. Plus de 120 composants ont été identifiés dont les principaux sont : le bornéol, le camphre, le caryophyllène, le cinéole, l'élémane, l'humulène, le ledène, le pinène et le thujone. (Lima et al., 2005; Hayouni et al., 2008 ; Badiee et al., 2012 ; Hernandez-Saavedra et al., 2016). Tout en comparant les composés phytochimiques contenus dans les fleurs, les feuilles et la tige de *S. officinalis*, le linalol est le composé majoritaire présent dans la tige. Les fleurs contiennent un taux élevé en pinène et en cinéole. L'acétate de bornyl, le camphène, le camphre, l'humulène, le limonène et le thuyone sont les substances phytochimiques les plus abondants dans les feuilles. Les glucides les plus abondants identifiés dans cette plante sont l'arabinose, le galactose, le glucose, le mannose, le xylose, acides uroniques et rhamnose (Capek et al., 2004). Cependant, la composition chimique de *S.*

*officinalis* varie en fonction des conditions environnementales telles que le climat, la disponibilité de l'eau et l'altitude (Russo et al., 2013).

La consommation modérée de *S. officinalis* ne provoque que très rarement des effets indésirables comme les nausées et les vomissements (Akhondzadeh et al., 2003 ; Sa et al., 2009 ; Kianbakht et al., 2011). En revanche, une dose supérieure à 15 g par jour est susceptible de causer des palpitations, des bouffées de chaleur, des convulsions, une tachycardie, des réactions allergiques, une déglutition de la langue et des vertiges (Bisset et Wichtl, 2001 ; Mills et Bone, 2005). L'huile essentielle de la sauge contient une substance abortive et neurotoxique « thujone » qui a un effet direct sur le système neurologique (Mills et Bone, 2005). De plus, le camphre, les terpènes et les cétones sont les composés les plus toxiques de *S. officinalis*. Ils peuvent induire des effets toxiques sur le fœtus et le nouveau-né. Par conséquent, la consommation de *S. officinalis* n'est pas recommandée pendant la grossesse et l'allaitement (Bisset et Wichtl, 2002 ; Mills et Bone, 2005 ; Halicioglu et al., 2011). Des recherches *in vivo* ont démontré que la DL50 de l'huile de *S. officinalis* (consommée par voie orale) ou de l'extrait méthanolique (injecté par voie intrapéritonéale) est de 2,6 ou 4 g/kg, respectivement (Eidi et al., 2005 ; Mills et Bone, 2005). Les personnes sous traitement médicamenteux anticoagulant doivent utiliser la sauge avec précaution en raison de la quantité de la vitamine K qu'elle contient (Eidi et al., 2005). La sauge est également susceptible d'interagir avec des médicaments antidépresseurs (les benzodiazépines), les médicaments contre les troubles psychiques (neuroleptiques) et l'épilepsie (Eidi et al., 2005 ; Mills et Bone, 2005).

# **Matériels et méthodes**

La présente recherche a été réalisée au sein de laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico- chimie, synthèse et activité biologique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV – STU), Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

### 1. Matériel végétal

La plante utilisée dans cette recherche a été identifiée par Pr Medjahdi B., botaniste au Département des ressources forestières de l'Université de Tlemcen comme étant *salvia officinalis L.* Le spécimen de LABSAP-71 a été déposé dans l'herbier de laboratoire LABSAP de Tlemcen. La partie aérienne de cette plante (feuilles et tiges) (Fig.7) a été récoltée durant le mois de Décembre 2018 dans la région de Remchi (wilaya de Tlemcen). La matière végétale a été séchée à l'air libre, à l'ombre et découpées en petits morceaux.



**Fig.7.** *S. officinalis* utilisée dans la recherche et son broyat

### 2. Préparation des extraits et leurs fractions

Les extraits utilisés dans cette recherche sont des extraits bruts eau-méthanol (30/70 : v/v) et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération.

Le fractionnement par extraction liquide-liquide a été utilisé pour séparer les extraits bruts eau-méthanol en deux fractions de polarité différente qui a permet de partager les molécules selon leurs propriétés physicochimiques entre deux phases liquides non miscibles (acétate éthyle et n-butanol) (fig. 8).

## 2.1. Extraits bruts eau-méthanol

- **Décoction**

› Dans un ballon rodé, surmonté d'un réfrigèrent, mélanger 10 g du matériel végétal avec 100 ml du mélange eau-méthanol (30/70: v/v) ;

› chauffer le mélange à une température d'ébullition stable (150 °C) pendant 1 heure ;

› filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

- **Infusion**

› Verser 10 g du matériel végétal dans 100 ml du mélange eau-méthanol (30/70: v/v) bouillant;

› laisser le mélange refroidir ;

› filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

- **Macération**

› Mélanger 10 g du matériel végétal avec 100 ml du mélange eau-méthanol (30/70: v/v) ;

› agiter le mélange et laisser le macérer pendant 72 h à une température ambiante ;

› filtrer et récupérer le filtrat.

## 2.2. Fractionnement de l'extrait brut hydrométhanolique

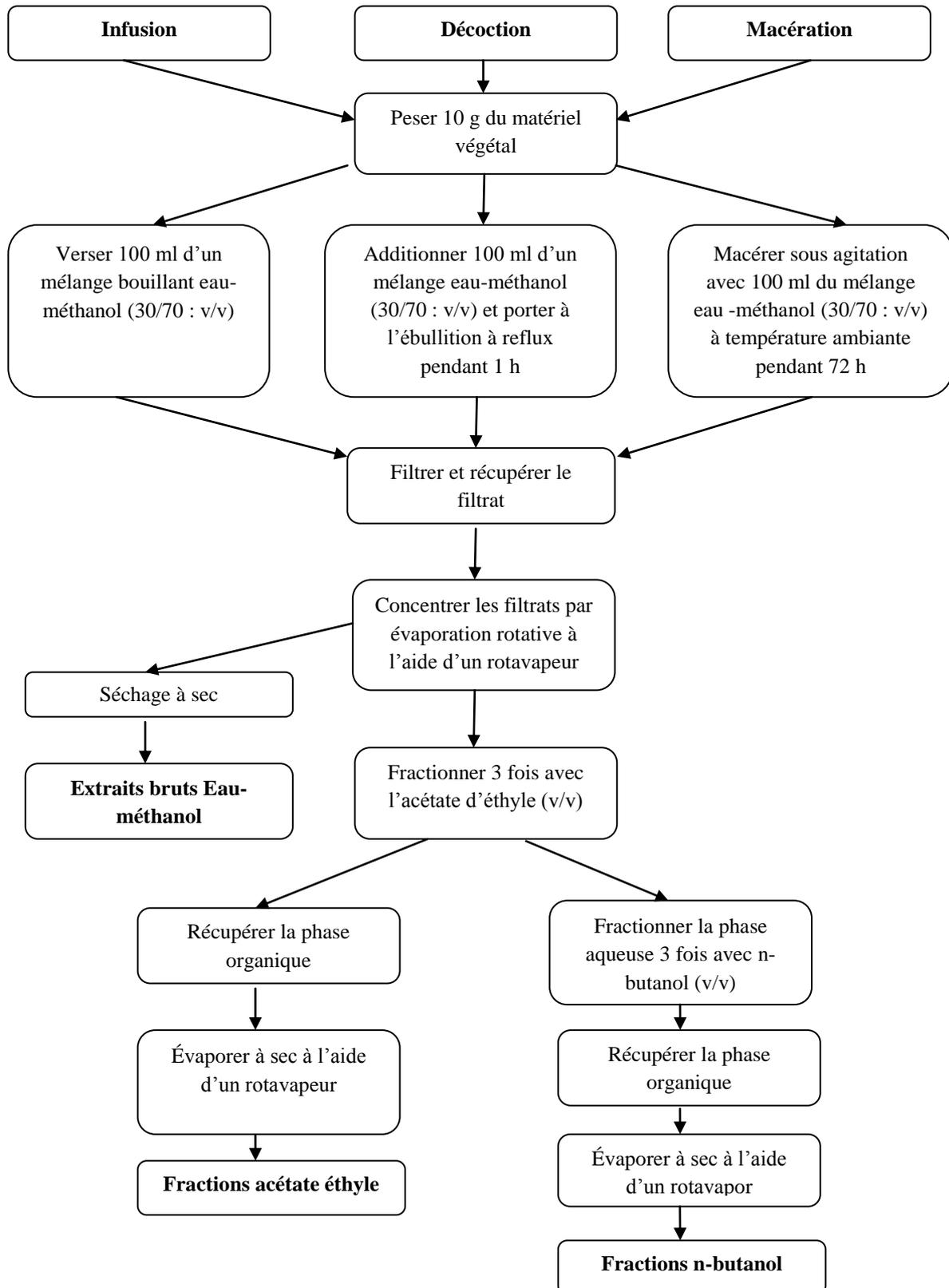
- **Fractionnement par acétate éthyle**

L'extrait brut eau-méthanol a été soumis à un fractionnement par l'acétate éthyle (v/v) (trois fois) à l'aide d'une ampoule à décanté.

- **Fractionnement par n-butanol**

L'extrait aqueux obtenu a été soumis à un fractionnement par n-butanol (v/v) (trois fois) à l'aide d'une ampoule à décanté.

Les extraits bruts hydrométhanoliques et les fractions acétate éthyle et n-butanol ont été soumis à une évaporation à sec à l'aide d'un Rotavapeur (rotation 150rpm, température 40 - 60 °C) pour éliminer le solvant et concentrer les extraits.



**Fig.8.** Protocol expérimental de la préparation des extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* par infusion, décoction ou macération

### 3. Rendement d'extraction

Le pourcentage de rendement de chaque extrait et fraction a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = (m / m_0) \times 100$$

- **m**: masse d'extrait sec pesée en g ;
- **m<sub>0</sub>** : masse du matériel végétal en g

### 4. Tests phytochimiques

L'étude phytochimique qualitative a permis de détecter les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans les différents extraits et fractions préparées par des réactions de coloration, de précipitation et d'observation sous lumière ultra-violet.

Nous avons réalisé une série de tests phytochimiques classiques selon les méthodes décrites par Harbone (1998) and Bruneton (1999).

#### *Composés phénoliques*

- **Les flavonoïdes**

- › Ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique et quelques copeaux de magnésium sur 1 ml d'échantillon à analyser ;
- › l'apparition d'une coloration rouge, rose ou jaune révèle la présence des flavonoïdes.

- **Les tanins**

- › A 1 ml d'extrait ou fraction à analyser, ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1% ;
- › incuber le mélange pendant 15 min à température ambiante ;
- › la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre pour les tanins catéchiques ou bleu-noirâtre pour les tanins galliques.

- **Les coumarines** (Fluorescence UV)

- › Introduire 1 ml d'extrait ou fraction dans un tube à essai, ajouter 0,1 ml de NH<sub>4</sub>OH à 10% ;
- › mélanger et observer sous UV à 366 nm ;
- › une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

- **Les anthraquinones**

- › À 1 ml d'extrait ou fraction, ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 10% et agiter ;
- › l'apparition d'une couleur violette indique un test positif.

- **Les quinones libres**

- › Introduire sur 1 ml d'extrait ou fraction à analyser 0,1 ml NaOH (1%) ;
- › un virage de couleur jaune, rouge ou violet prouve la présence des quinones libres.

*Composées azotées (les alcaloïdes)*

Les tests ont été réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner.

- › Diviser 1 ml de chaque extrait ou fraction en deux volumes égaux ;
- › acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) ;
- › traiter un volume par 0,5 ml de réactif de Mayer et l'autre par 0,5 ml de réactif de Wagner.
- › l'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes, respectivement.

*Composés terpéniques*

- **Les terpénoïdes** (Test de Slakowski)

- › Ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré sur 1 ml d'extrait ou fraction ;
- › la formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

- **Les saponines** (Test de mousse)

- › Mettre 1 ml d'extrait ou fraction dans 10 ml d'eau distillée ;
- › agiter pendant 15 secondes et laisser reposer 15 min en position verticale ;
- › une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence des saponines.

*Composés réducteurs*

- › Ajouter 1 ml de la liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) sur 1 ml d'extrait ou fraction ;
- › incuber l'ensemble pendant 8 min dans un bain marie bouillant ;
- › l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

## **5. Dosage des composés phénoliques**

Les polyphénols totaux et les flavonoïdes ont été dosés dans les différents extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol de la partie aérienne de *S. officinalis* à des concentrations de 1 mg/ml.

### **5.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits ou fractions a été effectué par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Li et al., 2007).

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits (Li et al., 2007).

- **Mode opératoire**

- › solubiliser une prise de 1 mg de chaque extrait ou fraction dans 1 ml de solvant (méthanol ou eau distillée) ;
- › prendre 100 µl de chaque dilution d'extrait ou fraction;
- › ajouter 2 ml de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 2%;
- › agiter et laisser reposer pendant 5min;
- › ajouter 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu 1 N;
- › incuber le mélange dans l'obscurité pendant 30 minutes;
- › mesurer l'absorbance de ces solutions avec un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.
- › effectuer les mêmes opérations pour la gamme d'étalonnage de l'acide gallique à des concentrations de 50 à 400 µg/ml (Tableau 6).

**Tableau 6.** Protocol de dosage des polyphénols totaux

Tubes	Gamme d'étalonnage					Extrait ou fraction 1 mg /ml		
	1	2	3	4	5	Infusion	décoction	Macération
[acide gallique] µg/ml	50	100	200	300	400			
Acide gallique µl	100	100	100	100	100	-	-	-
Extrait µl	-	-	-	-	-	100	100	100
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2%) ml	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 5 min à température ambiante avec agitation								
Folin-Ciocalteu 1N µl	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubation pendant 30 min à l'obscurité								
Lecture à 700 nm								

- **Expression des résultats**

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits ou fractions ont été calculées à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage de régression linéaire d'acide gallique ( $y=0,002x$  ;  $R^2=0,997$ ). Les résultats ont été exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg EAG/ mg ES).

## 5.2. Dosage des Flavonoïdes

### • Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Zhishen et al. (1999) utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) dans un milieu alcalin. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Il forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui devient rose en présence de la soude ( $\text{NaOH}$ ) qui absorbe à 510 nm. La couleur est proportionnelle aux teneurs en flavonoïdes présentes dans les extraits ou fractions.

### • Mode opératoire

- › solubiliser 1 mg de chaque extrait ou fraction végétale dans 1 ml de solvant (méthanol ou eau distillée) ;
- › Prendre 250  $\mu\text{l}$  de chaque dilution d'extrait ou fraction;
- › additionner 1 ml d'eau distillée ;
- › ajouter 75  $\mu\text{l}$  de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  à 15% ;
- › incuber le mélange pendant 6 min à température ambiante;
- › ajouter 75  $\mu\text{l}$  de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  à 10% ;
- › laisser reposer 6 min dans une température ambiante;
- › ajouter 1 ml de soude  $\text{Na OH}$  à 4% ;
- › additionner 100  $\mu\text{l}$  d'eau distillée et agiter afin d'homogénéiser le contenu ;
- › lire l'absorbance de la solution à 510 nm contre un blanc ;
- › en parallèle, réaliser une gamme d'étalonnage de la catéchine (50-400  $\mu\text{g/ml}$ ) dans les mêmes conditions opératoires (Tableau 7).

**Tableau 7.** Protocole de dosage des flavonoïdes

Tubes	Gamme d'étalonnage					Extrait ou fraction 1mg /ml		
	1	2	3	4	5	Infusion	Décoction	Macération
[Catéchine] µg/ml	50	100	200	300	400	-	-	-
Catéchine µl	250	250	250	250	250	-	-	-
Extrait µl	-	-	-	-	-	250	250	250
Eau distillée ml	1	1	1	1	1	1	1	1
NaNO <sub>2</sub> 15% µl	75	75	75	75	75	75	75	75
Incubation pendant 6 min à température ambiante								
AlCl <sub>3</sub> 10% µl	75	75	75	75	75	75	75	75
Incubation pendant 5min à température ambiante								
Na OH 4% ml	1	1	1	1	1	1	1	1
Compléter les tubes à 2500 µl par eau distillée								
Incubation 15 min à l'obscurité puis lecture à 510 nm								

- **Expression des résultats**

Les teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits ou fractions ont été calculées à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage de régression linéaire de la catéchine ( $y=0,003x$  ;  $R^2=0,997$ ). Les teneurs en flavonoïdes totaux des échantillons étudiés ont été exprimées en microgramme équivalent de la catéchine par milligramme extrait sec (µg EC/mg ES).

## 6. Evaluation *in vitro* de l'activité hémolytique

Le test d'hémolyse a été réalisé par la méthode spectrophotométrique des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol de la partie aérienne de *S. officinalis* à des concentrations de 200 mg/ml d'extrait ou fraction.

- **Principe**

Pour tester l'effet hémolytique *in vitro*, nous avons utilisé la méthode de Henneberg et al. (2013). Le principe consiste à mettre en suspension des érythrocytes humains avec différentes concentrations d'extraits ou fractions incubées à 37 °C pendant 60 min. Puis, mesurer la fuite d'hémoglobine qui reflète l'éclatement des globules rouges. L'apparition de la couleur rouge du sang dans le surnageant traduit la toxicité de l'extrait. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir hémolytique des extraits ou fractions testées.

- **Mode opératoire**

- › centrifuger du sang prélevé d'un sujet sain sur des tubes héparines à 2500 tours/ 5 min;
- › après élimination du surnageant, laver le culot 3 fois avec la solution tampon phosphate saline (PBS) glacée 10 mM (pH 7,4) ;
- › préparer 4 concentrations de dilution d'extrait ou fraction dans le PBS : 25, 50, 100 et 200 mg/ml ;
- › ajouter 20 µl de chaque dilution d'extrait ou fraction sur 1980 µl de la solution érythrocytaire;
- › incuber les tubes à 37 °C pendant 60 min à l'aide d'un incubateur-agitateur ;
- › après centrifugation (2500 tours/ 5 min), utiliser le surnageant pour mesurer la fuite de l'hémoglobine intracellulaire à 540 nm ;
- › préparer un contrôle positif (hémolyse totale) dans les mêmes conditions opératoires par la mise en suspension des globules rouges avec l'eau distillée.
- › utiliser le PBS avec la solution érythrocytaire comme contrôle négatif.

- **Expression des résultats**

Pour chaque échantillon, les pourcentages des taux d'hémolyse ont été déterminés par l'équation suivante : Taux d'hémolyse (%) = [ A Extrait – A Contrôle négatif ) / A Contrôle positif] x 100 (A : Absorbance) (Lee, 2002).

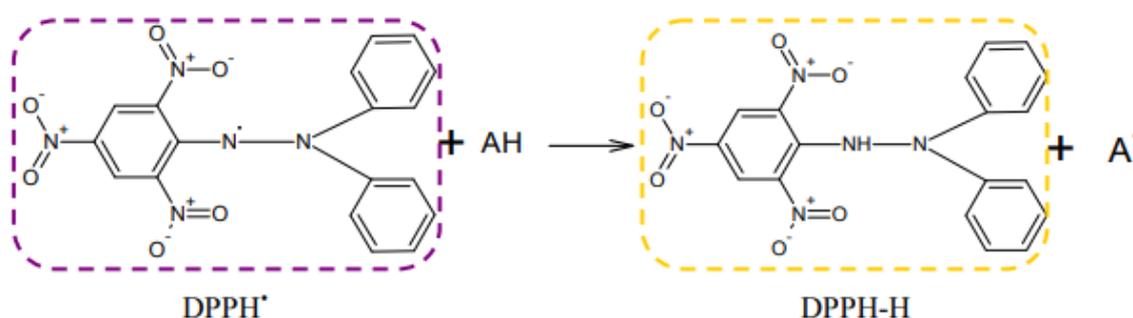
## **7. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante**

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits bruts de la partie aérienne de *S. officinalis* et leurs fractions a été déterminée par les tests de DPPH, FRAP et CAT à des concentrations de 1 mg/ml. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif afin de comparer son activité avec celles des extraits ou fractions dans les tests de DPPH et FRAP. Ainsi, nous avons réalisé une gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique pour mesurer la capacité antioxydante totale CAT.

## 7.1. Test de piégeage du radical DPPH

### • Principe

L'activité antiradicalaire des échantillons de *S. officinalis* a été évaluée selon la méthode de Atoui et al. (2005). Le 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre, stable et centré par l'azote qui porte un électron impair. La méthode du DPPH est basée sur la réduction du DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire : le DPPH-H (fig.9). La réduction du DPPH• en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette qui peut être suivie à 517 nm.



**Fig.9.** Réaction de réduction du radical libre DPPH (Thomas, 2011)

### • Mode opératoire

- › Prendre 50 µl de chaque dilution d'extrait ou fraction (100 à 1000 µg/ml) ou d'acide ascorbique (80 à 350 µg/ml);
- › additionner 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,0025%) fraîchement préparée;
- › préparer un blanc pour chaque concentration, contenant 50 µl d'une concentration d'extrait ou acide ascorbique et 1950 µl de méthanol ;
- › Préparer un contrôle négatif, en parallèle, 50 µl du méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH ;
- › incuber les tubes pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante;
- › lire l'absorbance des solutions à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Tableau 8).

**Tableau 8.** Protocole du test DPPH pour les échantillons de *S. officinalis* et l'acide ascorbique

	Acide ascorbique [80-350 µg/ml]	Extrait ou fraction [100-1000 µg/ml]	Blanc	Contrôle négatif	Blanc
Dilution µl	50	50	50	-	-
DPPH µl	1950	1950	-	1950	-
Méthanol µl	-	-	1950	50	2000
Incubation pendant 30 min à température ambiante / obscurité					
Mesure de l'absorbance à 517 nm					

- **Expression des résultats**

L'activité antiradicalaire de tous les échantillons étudiés a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation:  $I(\%) = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100$  (A: absorbance). La valeur  $CI_{50}$  est la concentration qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH. Elle a été déterminée graphiquement à partir d'une courbe de régression logarithmique du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de chaque extrait, fraction ou acide ascorbique (Samarth et al., 2008).

## 7.2. Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxydant Power)

- **Principe**

La méthode de FRAP est basée sur la capacité des extraits ou fractions testées à réduire le fer ferrique ( $Fe^{+3}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{+2}$ ) (Karagozler et al., 2008). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés (Hubert, 2006).

- **Mode opératoire**

- › Préparer une gamme de dilution pour chaque échantillon végétal (100-1000 µg/ml) et acide ascorbique (25- 350 µg/ml);
- › recueillir 100 µl de chaque dilution d'extrait, fraction ou acide ascorbique ;
- › ajouter 250 µl de la solution tampon phosphate (0,2 M) à pH 6,6 ;
- › additionner 250 µl de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1% ;

- › incuber le mélange à 50°C pendant 20 min ;
- › après refroidissement, ajouter 250 µl de l'acide trichloracétique à 10% ;
- › centrifuger les tubes à 3000 tours/min pendant 5 min ;
- › prendre 500 µl du surnageant, ajouter 500 µl d'eau distillée et 100 µl de chlorure de fer (Fe Cl<sub>3</sub>) à 0,1% ;
- › mesurer l'absorbance de chaque tube au spectrophotomètre à 700 nm contre un seul tube blanc (Tableau 9).

**Tableau 9.** Mode opératoire pour mesurer l'activité réductrice du fer des différents extraits, fractions et acide ascorbique par le test de FRAP

	Acide ascorbique [25-350 µg/ml]	Extraits ou fraction [100-1000 µg/ml]	Blanc
Dilution µl	100	100	-
Solvant	-	-	100
solution tampon µl	250	250	250
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> à 1% µl	250	250	250
Incubation pendant 20 minutes à 50°C			
TCA à 10% µl	250	250	250
centrifugation à 3000 tours/min pendant 5min			
surnageant µl	500	500	500
eau distillée µl	500	500	500
Fe Cl <sub>3</sub> à 0,1% µl	100	100	100
Mesure de l'absorbance à 700 nm			

- **Expression des résultats**

Les résultats de réduction du fer par des différentes concentrations d'extraits, fractions et acide ascorbique ont été exprimés à partir des courbes de régression linéaire. Les valeurs de la concentration efficace à réduire 50% du fer (CE<sub>50</sub>) ont été calculées et déterminées.

### 7.3. Test de phosphomolybdate (capacité antioxydante totale)

- **Principe**

La capacité antioxydante totale ou l'activité réductrice du molybdate a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène proposée par Prieto et al. (1999). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de molybdène présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'antioxydant pour former un complexe vert de phosphate dans un milieu acide.

- **Mode opératoire**

- › Préparer le réactif CAT en mélangeant trois volume égaux de trois solutions : 0,6 N de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 28 mM de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) et 4 mM de molybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ ) ;
- › ajouter 2 ml de réactif CAT sur 200  $\mu\text{l}$  d'extrait ou fraction ;
- › incuber les tubes à 95 °C pendant 90 min ;
- › après refroidissement, mesurer l'absorbance des solutions à 695 nm.
- › préparer la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique (50-500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dans les mêmes conditions expérimentales (Tableau 10).

**Tableau 10.** Mode opératoire pour mesurer la capacité antioxydante totale

	Acide ascorbique [50-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]	Extraits ou fraction [100-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]	Blanc
Dilution $\mu\text{l}$	200	200	-
Solvant $\mu\text{l}$	-	-	200
Réactif CAT $\mu\text{l}$	2000	2000	2000
Incubation pendant 90 min à 95 °C			
Mesure de l'absorbance à 695 nm			

- **Expression des résultats**

La capacité antioxydante totale a été exprimée en microgramme équivalents d'acide ascorbique par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g}$  EAA/mg ES) utilisant l'équation de la gamme d'étalonnage d'acide ascorbique ( $y=0,0019 x$ ;  $R^2=0,997$ ).

## 8. Evaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique

Les différents extraits ou fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* ont été évalués pour leur activité antidiabétique *in vitro* par les tests d'inhibition enzymatique  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase à une concentration de 10 mg/ml. L'acarbose «LARIMEL®50» est un antidiabétique oral commercialisé utilisé comme contrôle positif dans les tests enzymatiques afin de comparer son activité inhibitrice pour  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase par rapport à celle des extraits et fractions. C'est un inhibiteur compétitif et réversible de  $\alpha$ -amylase pancréatique et  $\alpha$ -glucosidase intestinale. Il joue le rôle d'un faux substrat et retarde ainsi l'hydrolyse des glucides complexes. Ce qui conduit à une absorption plus lente avec une réduction de la glycémie postprandiale (Lebovitz, 1997 ; DeFronzo, 1999).

### 7.1. Test $\alpha$ -amylase

Nous avons utilisé l'enzyme  $\alpha$ -amylase d'origine porcine E.C.3.2.1.1 (de Sigma-Aldrich Chemical, A3176) sous forme lyophilisée, avec un poids moléculaire de 13000 Da et une activité spécifique de 13 UI/mg. L' $\alpha$ -amylase porcine présente une similitude structurale et cinétique avec l' $\alpha$ -amylase humaine. Le substrat est l'amidon de pomme de terre soluble et les produits sont : les oligosaccharides, dextrines et maltose (Worthington, 1988).

- **Principe**

Nous avons testé l'effet inhibiteur des extraits et fractions de *S. officinalis* sur l'activité  $\alpha$ -amylase selon le protocole de Thalapaneni et al. (2008). Ce protocole prend en compte le caractère réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres en milieu alcalin chaud. L'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

- **Mode opératoire**

- › **Préparer la solution  $\alpha$ -amylase:**

- › mettre 1 mg d'enzyme  $\alpha$ -amylase porcine dans 13 ml d'une solution tampon phosphate (20 mM, pH 6,9) ;

- › **Préparer le réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) :**

- › solubiliser 1 g de l'acide 3,5-dinitrosalicylique dans 40 ml d'eau distillée ;

- › préparer la solution de NaOH (2N) dans 20 ml d'eau distillée dans laquelle dissoudre 30 g de tartrate double de sodium de potassium sous agitation ;

- › mélanger les deux solutions sous agitation et ajuster le volume final à 100 ml avec l'eau distillée ;

- › conserver le réactif obtenu à l'abri de la lumière à 4°C.

- › **Préparer la solution de substrat :**

- › dissoudre 1g d'amidon soluble de pomme de terre dans 100 ml de la solution tampon phosphate (20 mM, pH 6,9) ;

- › Préparer la solution d'acarbose commercialisé (LARIMEL®50) à différentes concentrations (20-300  $\mu$ g/ml) dans le tampon phosphate (20 mM, pH 6,9) ;

- › Préparer une gamme de dilution des différents extraits et fractions (25-300  $\mu$ g/ml) dans la solution tampon phosphate (20 mM, pH 6,9) ;

- › ajouter 200  $\mu$ l de la solution enzymatique sur 200  $\mu$ l de chaque dilution d'extrait, fraction ou acarbose ;

- › Après incubation de 10 min à 37 °C, ajouter 200  $\mu$ l d'amidon soluble de pomme de terre 0,5% fraîchement préparé ;

- › incuber le mélange à 37 °C pendant 15 min;

- › ajouter 400  $\mu$ l du réactif du DNSA

- › placer le mélange à l'ébullition dans un bain marie pendant 5 min ;

- › après refroidissement dans un bain d'eau glacé, lire les absorbances à 540 nm ;

› préparer en parallèle un contrôle négatif dans les mêmes conditions opératoires : 200 µl de la solution enzymatique  $\alpha$ -amylase + 200 µl de solution tampon + 200 µl d'amidon (Tableau 11).

**Tableau 11.** Protocole test  $\alpha$ -amylase

	Acarbose [20-300 µg/ml]	Extrait ou fraction [25-300 µg/ml]	Blanc	Contrôle négatif	Blanc
Dilution µl	200	200	200	-	-
Enzyme $\alpha$ - amylase µl	200	200	-	200	-
Solution tampon pH 6.9 µl	-	-	200	200	400
Incubation pendant 10min à 37°C					
Amidon soluble 0,5% µl	200	200	200	200	200
Incubation pendant 15min à 37°C					
Réactif DNSA µl	400	400	400	400	400
Bain marie 100 °C pendant 5min					
Bain d'eau glacé					
Lecture à 540 nm					

- **Expression des résultats**

Les résultats ont été exprimés en pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase des différents échantillons et d'acarbose. Le pourcentage d'inhibition a été calculé par la formule suivante :  $I (\%) = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ extrait}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$  ( $A$  : absorbance). Les valeurs de  $CI_{50}$  (concentration inhibitrice à 50%) ont été déterminées à partir des équations des courbes de régression logarithmique.

## 7.2. Test $\alpha$ -glucosidase

Nous avons utilisé l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase de la levure *Saccharomyces cerevisiae* EC 3.2.1.20 (1 U/ml) auprès Sigma-Aldrich Chemical, A5003. Le substrat est le PNPG (4-nitrophényl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) et le produit est le glucose.

- **Principe**

Le test d'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase a été réalisé selon la méthode de Shibano et al. (1997). Le principe consiste à mettre en contact les différents extraits et fractions de *S. officinalis* avec l' $\alpha$  glucosidase et son substrat et mesurer l'intensité de l'absorbance à 405 nm afin d'évaluer le degré d'inhibition de l'activité enzymatique par les échantillons étudiés.

- **Mode opératoire**

› Préparer la solution enzymatique  $\alpha$ -glucosidase : mettre 1 mg d'enzyme dans 1 ml de la solution tampon phosphate (50 mM, pH 6,8)

› introduire dans les puits d'une microplaque 20  $\mu$ l de chaque concentration d'extrait, fraction ou acarbose avec 50  $\mu$ l de tampon phosphate (50 mM, pH 6,8) et 10  $\mu$ l de la solution enzymatique  $\alpha$ -glucosidase ;

› incuber le mélange à 37 °C pendant 10 min ;

› ajouter 20  $\mu$ l de PNPG (10 mM) et incuber de nouveau à 37 °C pendant 30 min ;

› stopper la réaction par l'ajout de 100  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,2 M) ;

› lire les absorbances à l'aide d'un lecteur microplaque à 405 nm ;

› préparer un contrôle négatif dans les mêmes conditions expérimentales : 10  $\mu$ l de la solution enzymatique  $\alpha$ -glucosidase + 70  $\mu$ l de solution tampon + 10  $\mu$ l PNPG (Tableau 12).

**Tableau 12.** Protocol test  $\alpha$ -glucosidase

	Acarbose [20-300 $\mu$ g/ml]	Extrait ou fraction [25-500 $\mu$ g/ml]	Blanc	Contrôle négatif	Blanc
Dilution $\mu$ l	20	20	20	-	-
Enzyme $\mu$ l	10	10	-	10	-
Tampon (50 mM, pH 6,8) $\mu$ l	50	50	60	70	80
Incubation pendant 10min à 37 °C					
PNPG (10 mM) $\mu$ l	20	20	20	20	20
Incubation pendant 30 min à 37 °C					
Lecture à 405 nm					

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase a été déterminé selon la formule suivante:  $I (\%) = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$  (A : absorbance). Les valeurs de  $CI_{50}$  ont été déterminées comme les concentrations d'extrait ou fraction qui inhibent 50% de l'activité  $\alpha$ -glucosidase. Les valeurs de  $CI_{50}$  (concentration inhibitrice à 50%) ont été déterminées à partir des équations des courbes de régression logarithmique.

## **9. Analyse statistique**

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les résultats ont été exprimés par le calcul de la moyenne  $\pm$  ESM (erreur standard de la moyenne). Les courbes ont été tracées par le Logiciel Microsoft Office Excel 2007. Des courbes de corrélation ont été tracées entre l'activité antioxydante et d'inhibition enzymatique des différents extraits et fractions et leurs teneurs en polyphénols totaux. Plus le  $R^2$  est proche de 1, plus il y a une forte corrélation. Les moyennes des  $CI_{50}$  ont été comparées à celle du contrôle en utilisant l'analyse de l'ANOVA one-way suivie par le test de Dunnett à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 5 (version 5.03, 2009). Les valeurs de  $p < 0,05$  ont été considérées statistiquement significatives.

# **Résultats et Interprétations**

## I. Etude phytochimique

### 1. Caractéristiques extraits/ fractions

Les différents extraits et fractions de la partie aérienne de *Salvia officinalis* ont été préparés par infusion, décoction ou macération. L'aspect, couleur, solvant de solubilité et rendement des extraits bruts hydro-méthanoliques (30 :70, v/v) et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol ont été présentés dans le tableau 13.

**Tableau 13.** Caractéristiques des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

Extraits/fractions		Aspect	Couleur	Solubilité	Rendement%
<b>Extraits bruts Eau- méthanol (30 :70, v/v)</b>	Infusion	Cristaux	marron claire	Méthanol	5,1
	Décoction	Pâteux	Marron foncée	Méthanol	5,4
	Macération	Pâteux	marron foncée	Méthanol	7,3
<b>Fractions acétate éthyle</b>	Infusion	Poudre	marron claire	Méthanol	5,5
	Décoction	Pâteux	Marron	Méthanol	3,5
	Macération	Pâteux	marron foncé	Méthanol	3,7
<b>Fractions n-butanol</b>	Infusion	Pâteux	Orange	eau distillée	3,5
	Décoction	Pâteux	marron claire	eau distillée	7
	Macération	Poudre	marron claire	eau distillée	1

Les différentes extractions de la partie aérienne de *S. officinalis* ont permis de récupérer des extraits et des fractions secs d'aspects et de couleurs différentes. Ils ont été solubles dans le méthanol ou de l'eau distillée avec des rendements variables allant de 1 à 7,3%.

Pour 10 g du matériel végétal sec, l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération a donné le meilleur rendement (7,3%) ; suivi par la fraction n-butanol préparée par décoction (7%). Cependant, le rendement le plus faible a été présenté par la fraction n-butanol préparée par macération (1%).

### 2. Tests phytochimiques

Nous avons effectué un screening phytochimique pour détecter les différentes familles de métabolites secondaires contenues dans les extraits bruts hydro-méthanoliques et les fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* par des réactions qualitatives de caractérisation.

Les résultats ont été regroupés dans le tableau 14.

**Tableau 14.** Screening phytochimique des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

		Extraits hydro-méthanoliques			Fractions acétate éthyle			Fractions n-butanol		
		infusion	décoction	macération	Infusion	décoction	macération	infusion	décoction	macération
<b>Polyphénols</b>	Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Quinones libres	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Anthraquinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tanins	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Coumarines	+	+	+	-	+	+	-	-	-
<b>Saponines</b>		+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>Terpénoïdes</b>		+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>Alcaloïdes</b>		-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Composés réducteurs</b>		-	-	-	-	-	+	-	+	-

+ : présence de composé ; - : absence

Le screening phytochimique a révélé la richesse de *S. officinalis* en principes actifs: tanins, terpénoïdes, composés réducteurs, flavonoïdes, quinones, coumarines et saponines. Ces composés ont été distribués différemment dans les extraits et les fractions testées.

L'apparition d'une coloration verte foncée dans tous les extraits et fractions a indiqué la présence des tanins catéchiques (verte noirâtre). Après traitement par la soude, l'observation de la couleur jaune a indiqué la présence des quinones. Ainsi, l'apparition d'un anneau brun rouge à l'interface de tous les extraits hydro-méthanoliques a traduit la présence des terpénoïdes. Alors que l'apparition de la mousse a démontré la présence des saponines dans chacun des extraits et fractions étudiées. La formation d'un précipité rouge brique au niveau des fractions acétate éthyle préparées par macération et n-butanol préparées par décoction a

confirmé la présence des composés réducteurs. En outre, l'observation de la couleur rose a montré la présence des flavonoïdes au niveau de tous les extraits et fractions étudiées à l'exception celles du n-butanol préparées par décoction et macération. Une fluorescence intense, observée sous UV à 366 nm, a indiqué la présence des coumarines dans les extraits hydro-méthanoliques et les fractions acétate éthyle préparées par décoction et macération. Par contre, nous n'avons pas détecté la présence des anthraquinones et des alcaloïdes dans tous les extraits et les fractions testées.

### 3. Dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et des flavonoïdes)

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectuée par des méthodes spectrophotométriques.

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées par le réactif de Folin-Ciocalteu à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme témoin (Fig.10). Elles ont été exprimées en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g}$  EAG/ mg ES).

Alors que les flavonoïdes ont été quantifiés en milieu alcalin par la méthode du trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  utilisant la catéchine comme témoin (Fig.11). Les teneurs en flavonoïdes ont été exprimées en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g}$  EC/ mg ES).

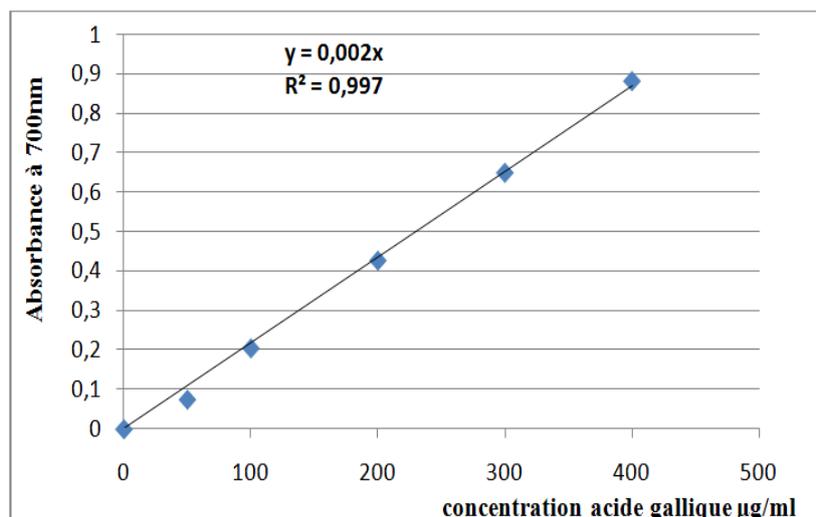


Fig. 10. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

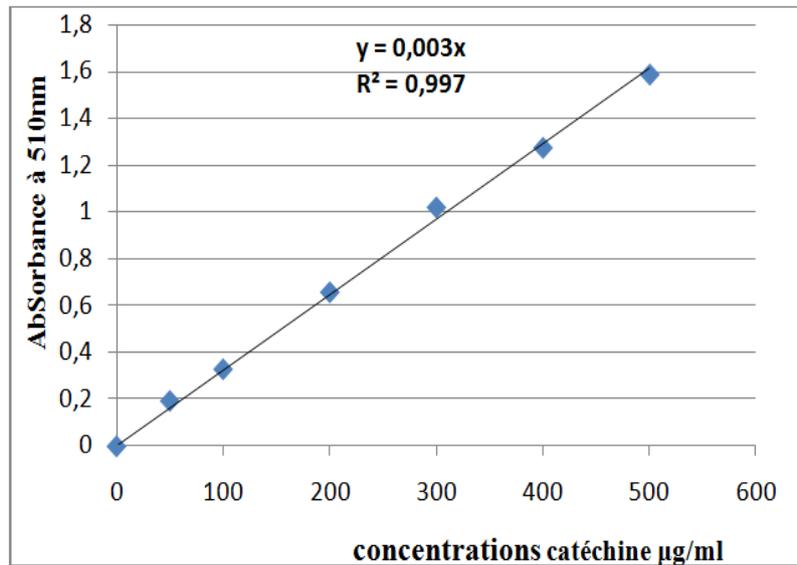


Fig. 11. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Le tableau 15 a rassemblé les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les différents extraits bruts eau-méthanol et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis*.

Tableau 15. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les différentes préparations de la partie aérienne de *S. officinalis*

Extraits et fractions		Teneurs en polyphénols totaux µg EAG/mg ES	Teneurs en flavonoïdes µg EC/mg ES
Extraits bruts	Infusion	342,49 ± 0,15	230,36 ± 0,06
Eau/méthanol (30 :70, v/v)	Décoction	362,37 ± 0,23	214,32 ± 0,31
	Macération	357,47 ± 0,07	127,45 ± 0,25
Fractions acétate éthyle	Infusion	339,88 ± 0,97	138,34 ± 0,01
	Décoction	395,15 ± 1,17	312,12 ± 0,12
	Macération	399,39 ± 0,45	345,84 ± 0,06
Fractions n-butanol	Infusion	157,06 ± 0,01	104,84 ± 0,01
	Décoction	272,46 ± 0,97	169,72 ± 0,04
	Macération	331,67 ± 0,05	189,13 ± 0,01

Valeurs exprimées en moyenne ± ESM (n=3). EAG : équivalent acide gallique, EC : équivalent catéchine, ES : extrait sec

Les résultats obtenus ont démontré que tous les extraits et fractions préparées de *S. officinalis* ont renfermé des teneurs considérables en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Ces teneurs ont été variées de  $157,06 \pm 0,01$  à  $399,39 \pm 0,45$   $\mu\text{g}$  EAG/mg ES pour les polyphénols totaux et de  $104,84 \pm 0,01$  à  $345,84 \pm 0,06$   $\mu\text{g}$  EC/mg ES pour les flavonoïdes.

La fraction acétate éthyle préparée par macération a présenté la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Par contre, la fraction n-butanol préparée par infusion a révélé les taux les plus faibles en ces constituants.

Nous avons constaté que les fractions préparées par macération ont démontré les teneurs les plus importantes en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Ces teneurs contenues dans les différentes fractions ont été classées dans l'ordre suivant : macération > décoction > infusion.

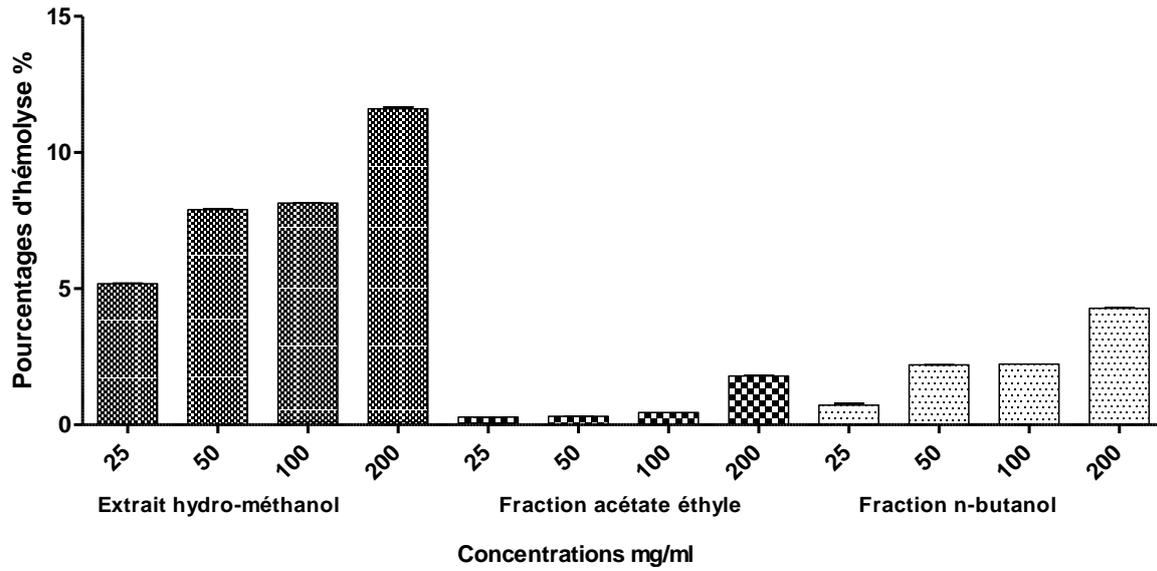
Les fractions acétate éthyle ont démontré les meilleurs résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Alors que les fractions n-butanol ont révélé les teneurs les plus faibles en ces composés.

## **II. Etudes biologiques**

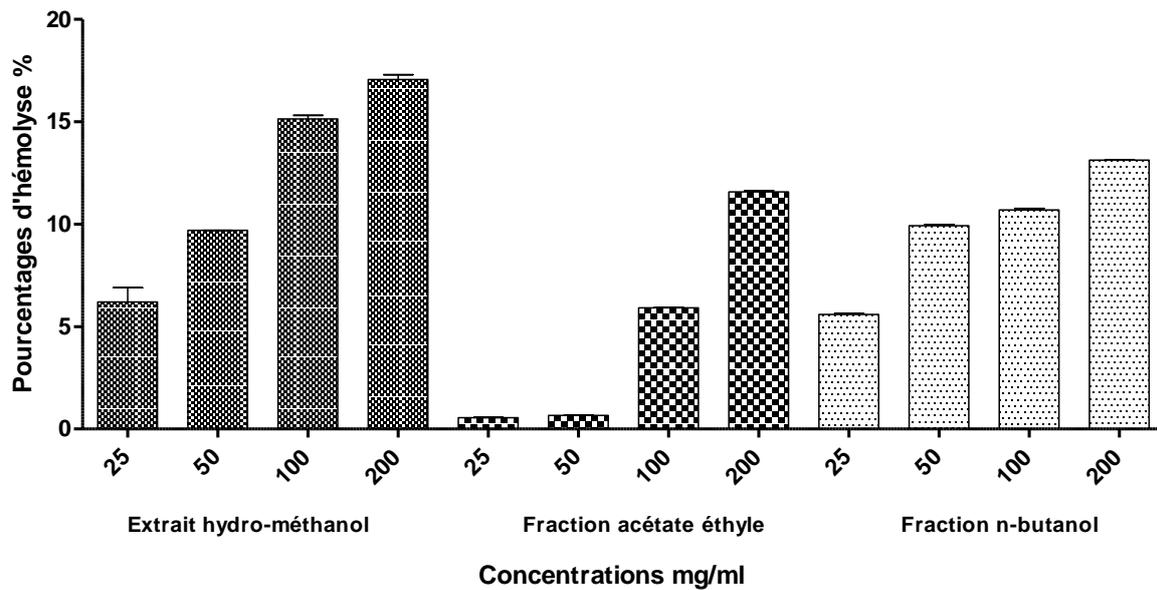
### **1. Recherche d'effet hémolytique**

Dans cette partie, nous avons recherché et évalué la toxicité des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par trois méthodes d'extractions (infusion, décoction et macération) de la partie aérienne de *S. officinalis* sur les globules rouges humaines.

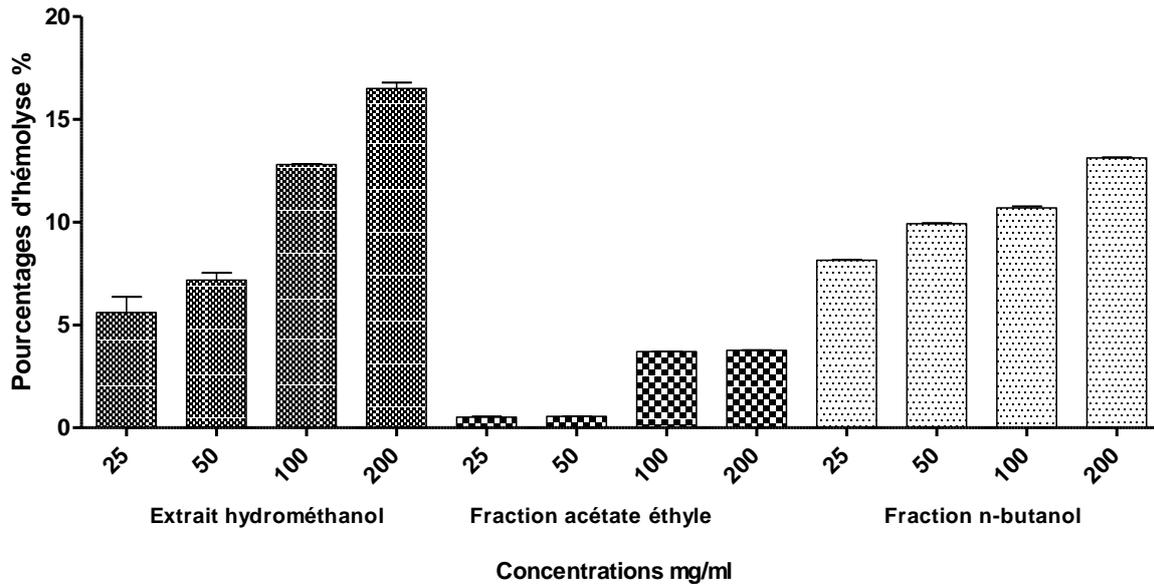
Les taux d'hémolyse ont été mesurés après une heure d'incubation des cellules érythrocytaires à  $37\text{ °C}$  dans une solution tampon à  $\text{pH } 7,4 \pm 0,2$  en présence de différentes concentrations d'extraits et fractions (Fig.12, 13 et 14).



**Fig.12.** Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par infusion de la partie aérienne *S.officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C. Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (n = 3)



**Fig.13.** Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par décoction de la partie aérienne *S.officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C. Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (n = 3)



**Fig.14.** Taux d'hémolyse en présence des différentes concentrations des extraits et fractions préparées par macération de la partie aérienne *S.officinalis*, après une heure d'incubation à 37 °C. Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (n = 3)

Nous notons que les taux d'hémolyse dépendent de la concentration des différents extraits et fractions étudiées. Les fractions acétate éthyle ont montré les taux d'hémolyse les plus faibles pour les trois modes d'extractions (infusion, décoction et macération) par rapport aux extraits bruts hydro-méthanoliques et aux fractions n-butanol.

La fraction acétate éthyle préparée par infusion a révélé le plus faible effet hémolytique dont la concentration de 200 mg/ml a induit une hémolyse de  $1,79\% \pm 0,03$ , après une heure d'incubation à 37°C. De même, la même concentration de la fraction acétate éthyle préparée par décoction dans la même durée d'incubation a démontré un faible taux d'hémolyse de  $11,58\% \pm 0,1$ .

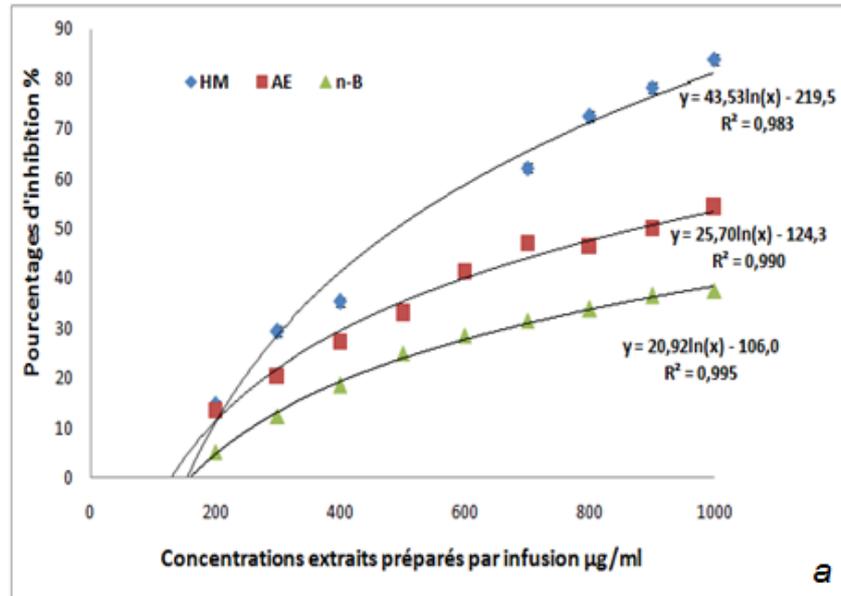
Ainsi, nous avons remarqué que les extraits bruts hydro-méthanoliques ont présenté les taux d'hémolyse les plus élevés. Les extraits hydro-méthanoliques préparés par infusion, décoction et macération ont enregistré des taux d'hémolyse d'ordre de  $11,61\% \pm 0,1$ ,  $17,06\% \pm 0,41$  et  $16,5\% \pm 0,5$ , respectivement pour une concentration de 200 mg/ml.

## 2. Activité antioxydante

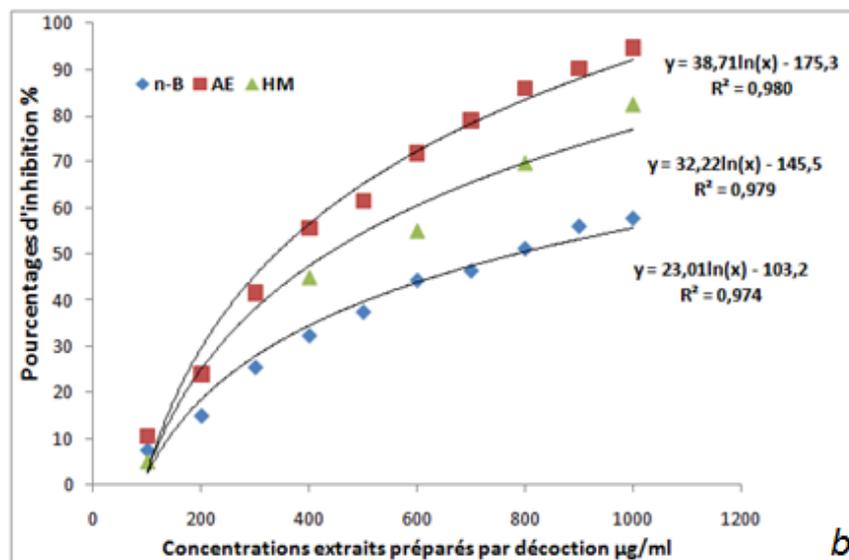
L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits et des fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* a été déterminée *in vitro* par les méthodes de DPPH, FRAP et CAT.

## 2.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

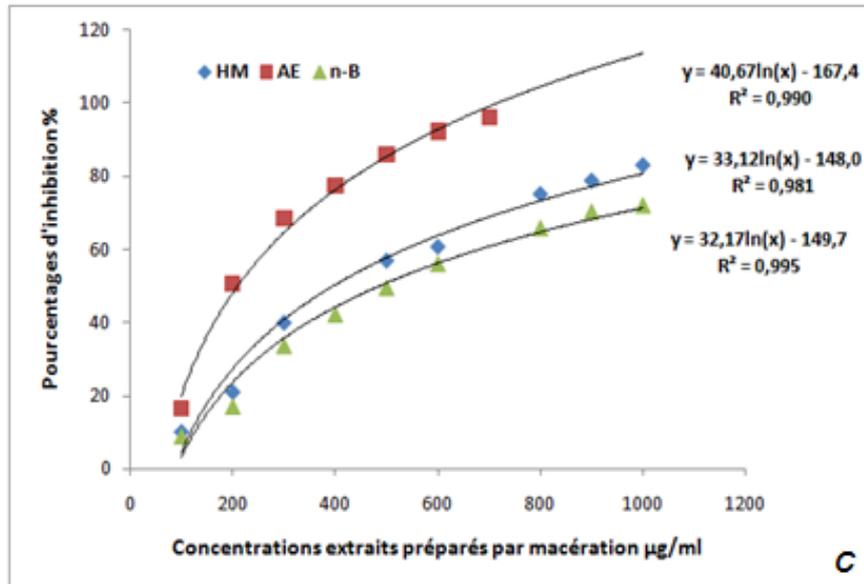
L'activité antiradicalaire a été étudiée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits, fractions (Fig. 15, 16 et 17) et d'acide ascorbique (contrôle positif) (Fig. 18).



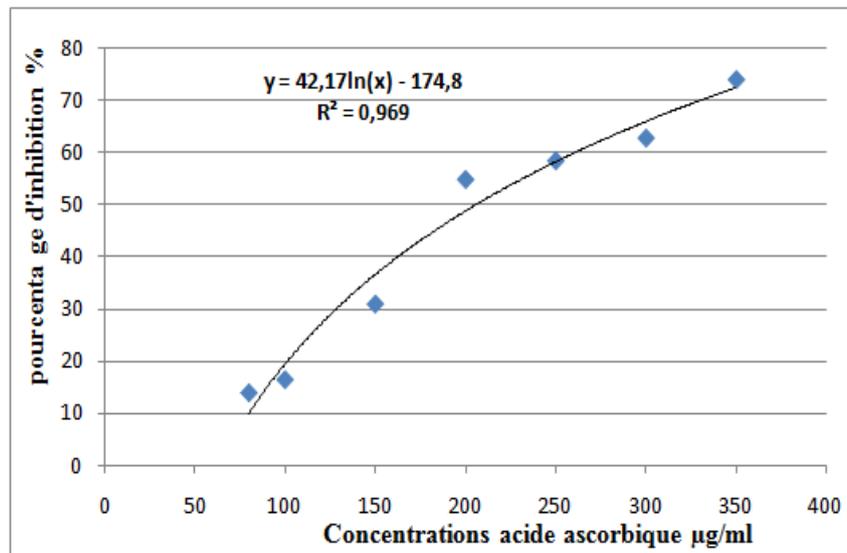
**Fig.15.** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par infusion de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol



**Fig.16.** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par décoction de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

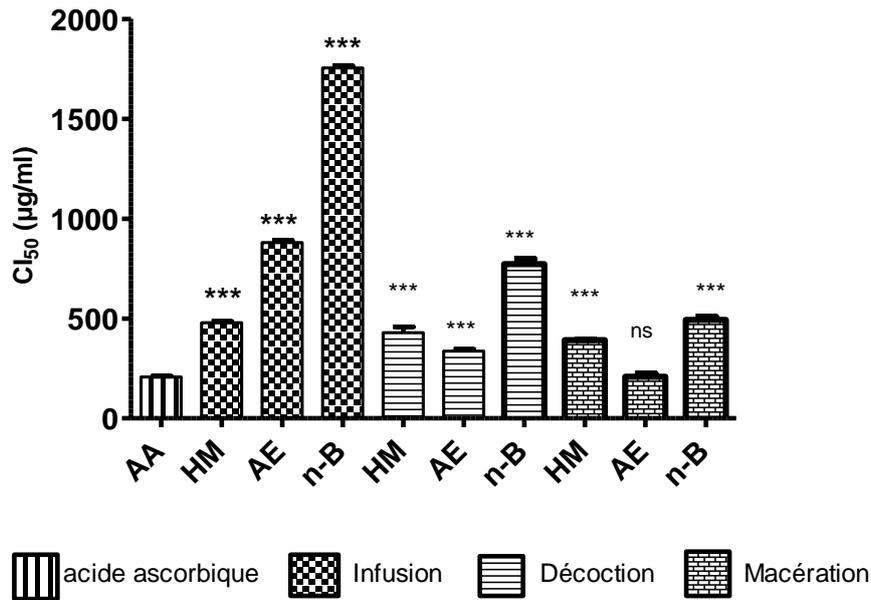


**Fig.17.** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthylique et n-butanol obtenues par macération de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthylique; n-B: fraction n-butanol



**Fig.18.** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique

La concentration inhibitrice à 50 % (CI<sub>50</sub>) a été déterminée à partir des courbes de régression logarithmique des extraits, fractions (Fig. 15, 16 et 17) et d'acide ascorbique (fig. 18), molécule de référence. Les valeurs des CI<sub>50</sub> ont été représentées dans la figure 19.

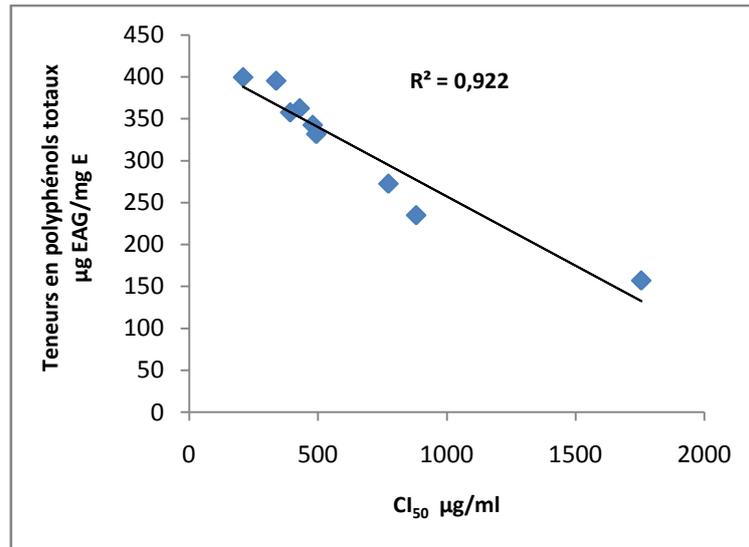


**Fig.19.** Les valeurs de  $CI_{50}$  des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acide ascorbique (\*\*\*:  $p < 0,001$ , ns:  $p > 0,05$ ). Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 3$ ). AA: acide ascorbique, HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

Tous les extraits et les fractions étudiées de *S. officinalis* ont présenté la capacité d'inhiber le radical DPPH avec des valeurs de  $CI_{50}$  variables. Les échantillons préparés par macération ont révélé les valeurs de  $CI_{50}$  les plus importantes ; suivis par ceux préparés par décoction. La fraction acétate éthyle préparée par macération a présenté l'activité antiradicalaire la plus puissante ( $CI_{50} = 208,51 \pm 15,77 \mu\text{g/ml}$ ). Cette activité a été comparable à celle de l'acide ascorbique ( $CI_{50}$  de  $206,43 \pm 4,16 \mu\text{g/ml}$ ).

Nous avons remarqué que les fractions n-butanol ont démontré les plus faibles activités à inhiber le DPPH avec des valeurs de  $CI_{50}$  de  $1754,6 \pm 9,62 \mu\text{g/ml}$ ,  $772,78 \pm 24,7 \mu\text{g/ml}$  et  $492,74 \pm 15,22 \mu\text{g/ml}$  des différentes préparations d'infusion, décoction et macération, respectivement.

Nous avons tracé une courbe de corrélation linéaire entre les valeurs de  $CI_{50}$  de DPPH et les taux en polyphénols totaux des différents extraits et fractions de *S. officinalis* (fig.20).

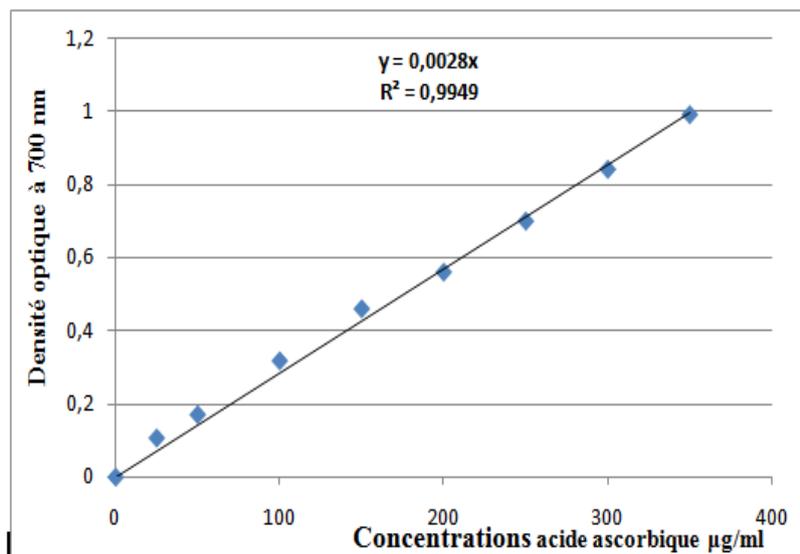


**Fig. 20.** Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire mesurée par le test DPPH des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

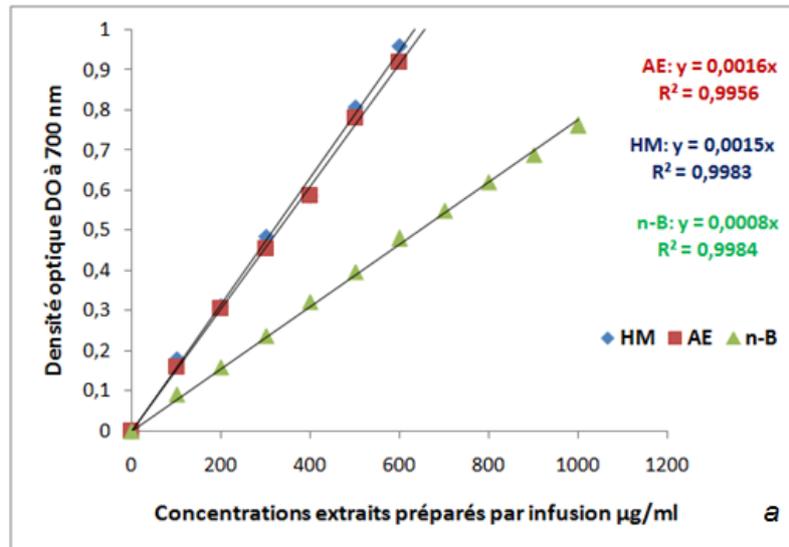
Les résultats obtenus ont confirmé l'existence d'une forte corrélation ( $R^2 = 0,923$ ) entre l'activité antiradicalaire des différents extraits et fractions de *S. officinalis* et leurs contenus en polyphénols totaux.

## 2.2. Pouvoir réducteur du Fer (FRAP)

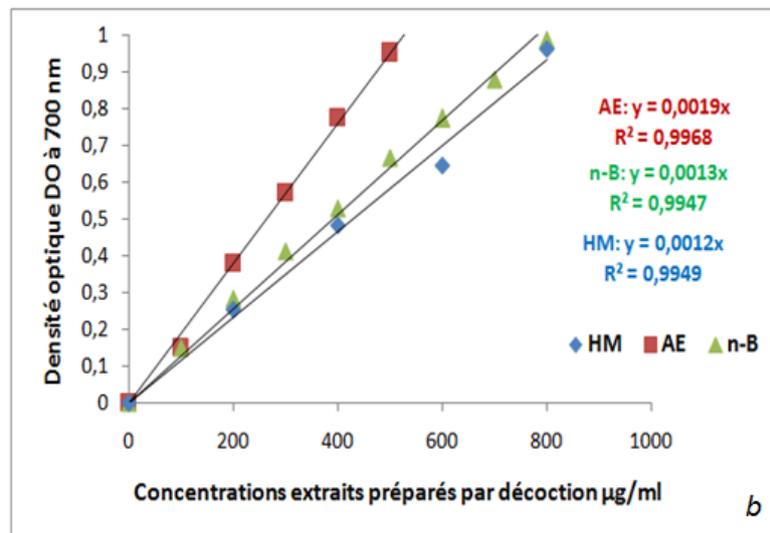
Nous avons mesuré par la méthode de FRAP le pouvoir réducteur du fer pour l'acide ascorbique (standard) et pour chaque préparation de *S. officinalis*. Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes suivantes (Fig. 21, 22, 23 et 24).



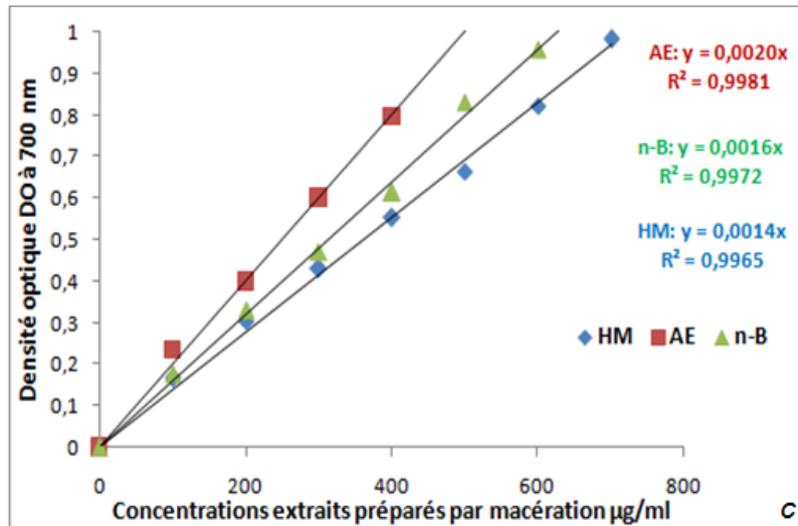
**Fig.21.** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP



**Fig.22.** Pouvoir réducteur de l'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par infusion de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

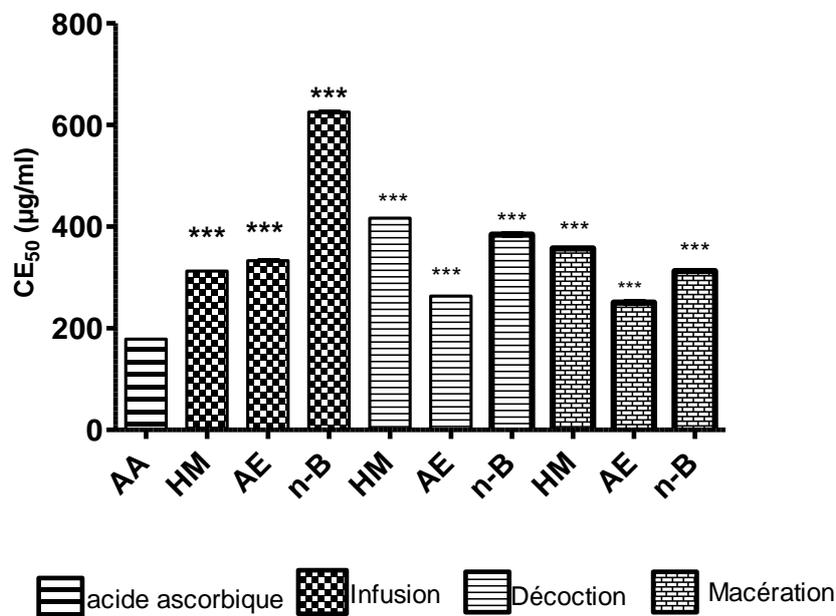


**Fig.23.** Pouvoir réducteur de l'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par décoction de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol



**Fig.24.** Pouvoir réducteur de l'extrait hydro-méthanolique et ses fractions acétate éthyle et n-butanol obtenues par macération de la partie aérienne de *S. officinalis*. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

Nous avons constaté que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation des concentrations des échantillons étudiés. La concentration efficace à réduire 50% du fer (CE<sub>50</sub>) de l'acide ascorbique et des différents extraits et fractions testées a été calculée à partir des équations de courbes de régression linéaire (Fig. 21, 22, 23 et 24). La figure 25 a résumé les valeurs de CE<sub>50</sub> pour chaque échantillon en comparaison avec celle de l'acide ascorbique (contrôle positif).

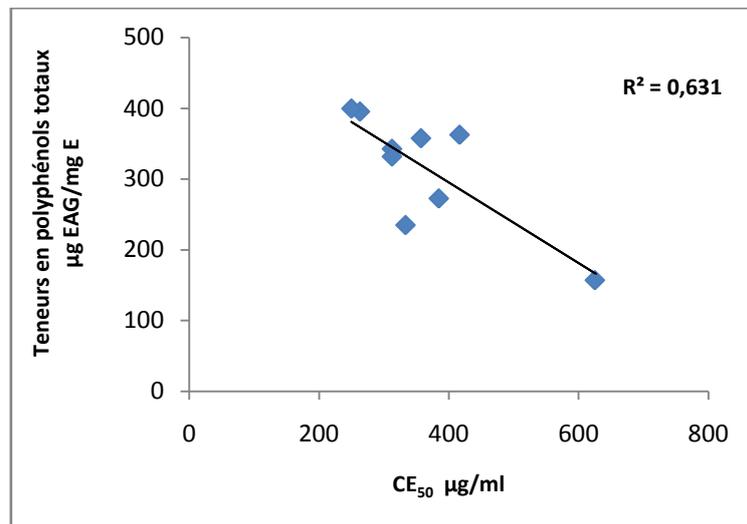


**Fig.25.** Les valeurs de CE<sub>50</sub> des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acide ascorbique (\*\*\*: p < 0,001). Valeurs-exprimées en moyenne ± ESM (n = 3). AA: acide ascorbique, HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

Nous avons remarqué que les valeurs de  $CE_{50}$  des différents échantillons de *S. officinalis* ont varié de  $250 \pm 0,001$  à  $625 \pm 0,004$   $\mu\text{g/ml}$ . Le pouvoir réducteur du fer le plus élevé a été observé par la fraction acétate éthyle préparée par macération ( $EC_{50} = 250 \pm 0,001$   $\mu\text{g/ml}$ ) qui est significativement faible ( $p < 0.001$ ) et relativement proche de celui de l'acide ascorbique ( $EC_{50} = 178,57 \pm 0,001$   $\mu\text{g/ml}$ ).

La capacité réductrice du fer des différentes préparations d'extraits hydro-méthanoliques a été obtenue dans l'ordre suivant : l'infusion > macération > décoction. Alors que pour les fractions nous avons obtenu la macération > décoction > infusion.

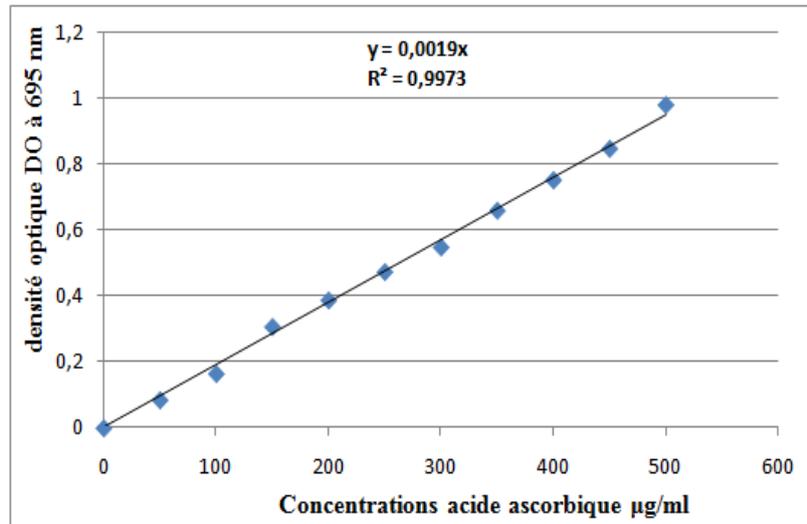
Une forte corrélation a été constatée entre les teneurs en polyphénols totaux et le pouvoir réducteur des différents extraits et fractions de *S. officinalis* avec un coefficient de corrélation ( $R^2$ ) de 0,631 (fig.26)



**Fig.26.** Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité réductrice du fer des différents extraits et fractions de *S. officinalis*

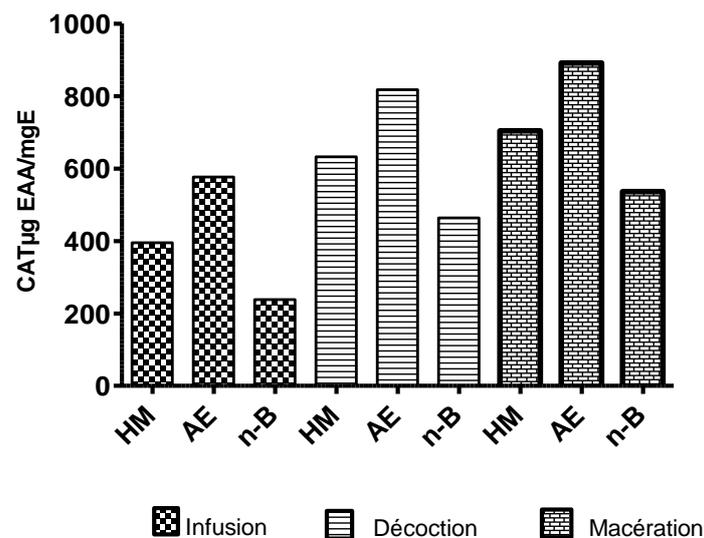
### 2.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale des différents extraits et fractions testées de la partie aérienne de *S. officinalis* a été exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y=0,0019 x$ ;  $R^2=0,997$ ) (Fig. 27).



**Fig.27.** Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour calculer la capacité antioxydante totale

La figure 28 a représenté les valeurs de la capacité antioxydante totale pour chaque préparation d'extrait ou fraction.



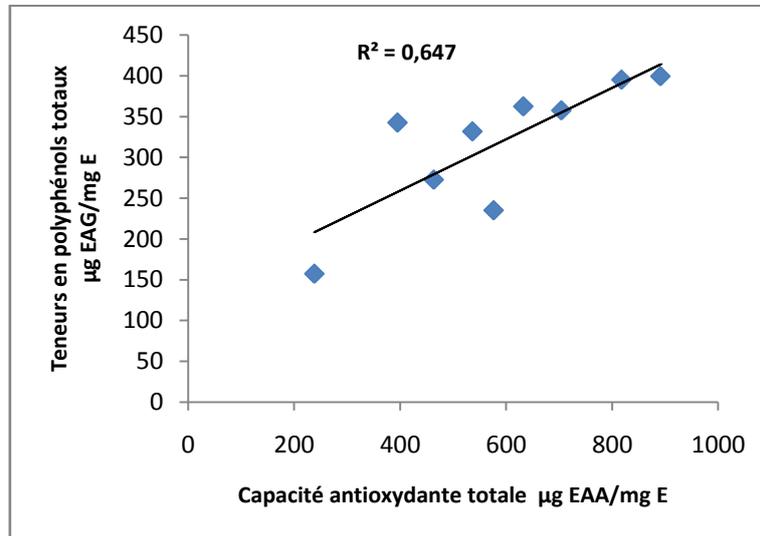
**Fig.28.** capacité antioxydante totale des extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis*. Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (n = 3). HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

Les résultats illustrés dans la figure 28 ont démontré que tous les extraits et les fractions de *S. officinalis* possèdent une capacité antioxydante totale relativement importante.

Par ailleurs, la macération a révélé les meilleures activités. Nous avons distingué que les valeurs les plus élevées ont été présentées par la fraction acétate éthyle préparée par macération ( $891,33 \pm 0,0008 \mu\text{g EAA/mg E}$ ) puis par décoction ( $817,83 \pm 0,06 \mu\text{g EAA/mg E}$ ).

Les valeurs de la capacité antioxydante totale des différentes préparations des échantillons étudiés ont été classées dans l'ordre suivant : macération > décoction > infusion.

La figure 29 a justifié une forte corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et la capacité antioxydante totale des différents extraits et fractions de *S. officinalis* ( $R^2 = 0,647$ ).



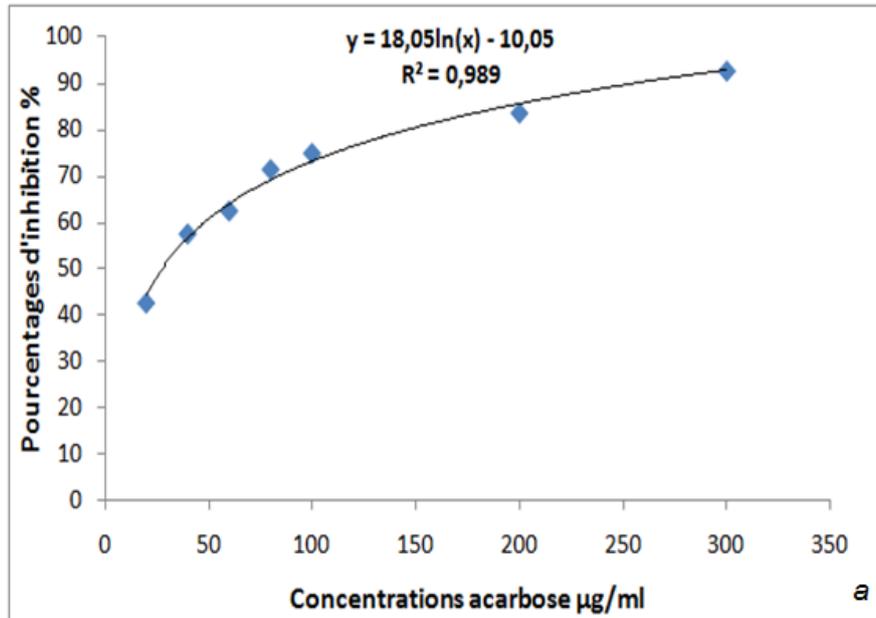
**Fig.29.** Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et la capacité antioxydante totale des différents extraits et fractions de *S. officinalis*

### 3. Activité antidiabétique

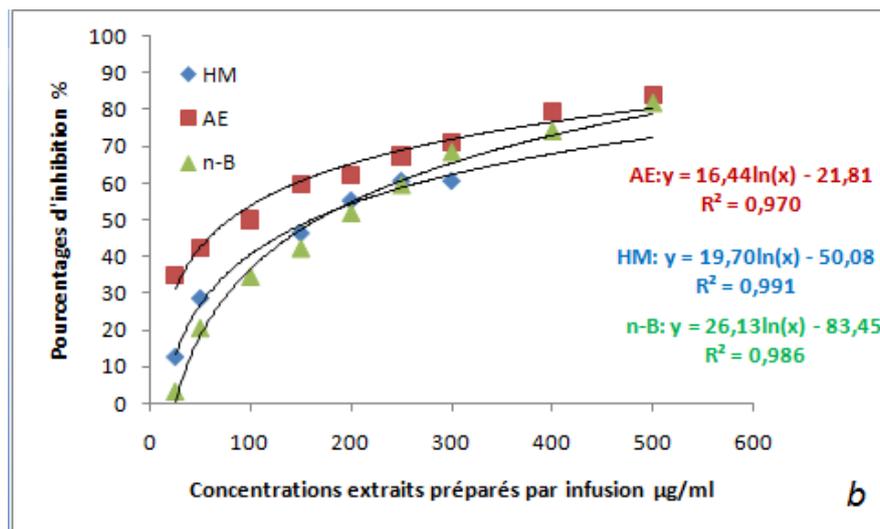
Les extraits et les fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* ont été évalués pour leur activité antidiabétique testée *in vitro* par les méthodes d'inhibition enzymatique :  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase.

#### 3.1. Alpha-amylase

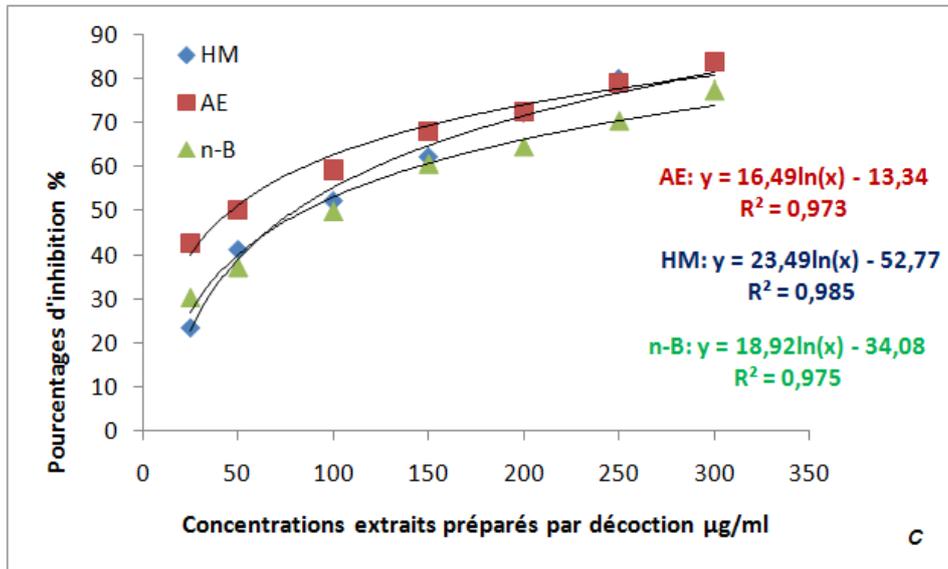
Les figures 30, 31, 32 et 33 ont représenté les résultats des pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase par l'acarbose (molécule antidiabétique commerciale) et par chaque échantillon végétal.



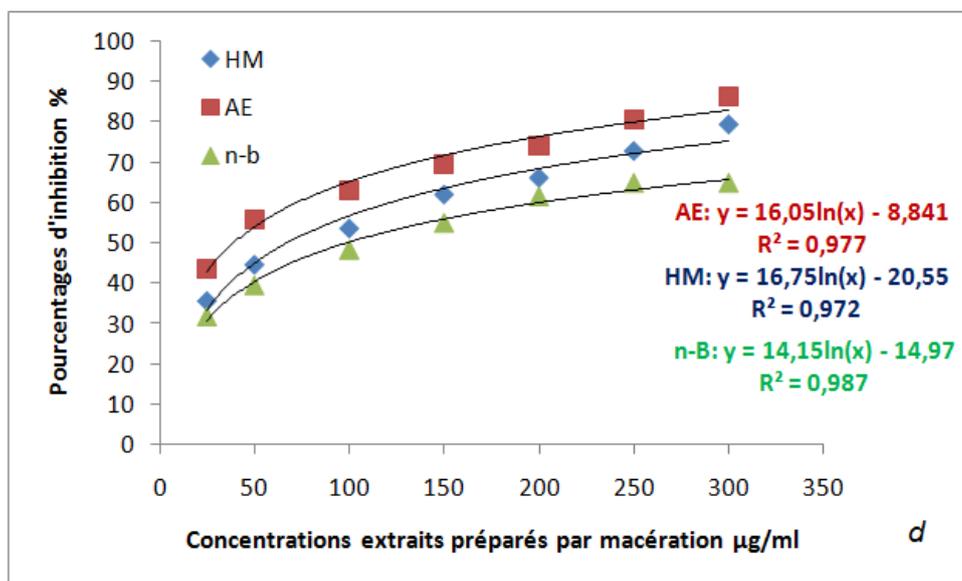
**Fig.30.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations d'acarbose



**Fig.31.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par infusion. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

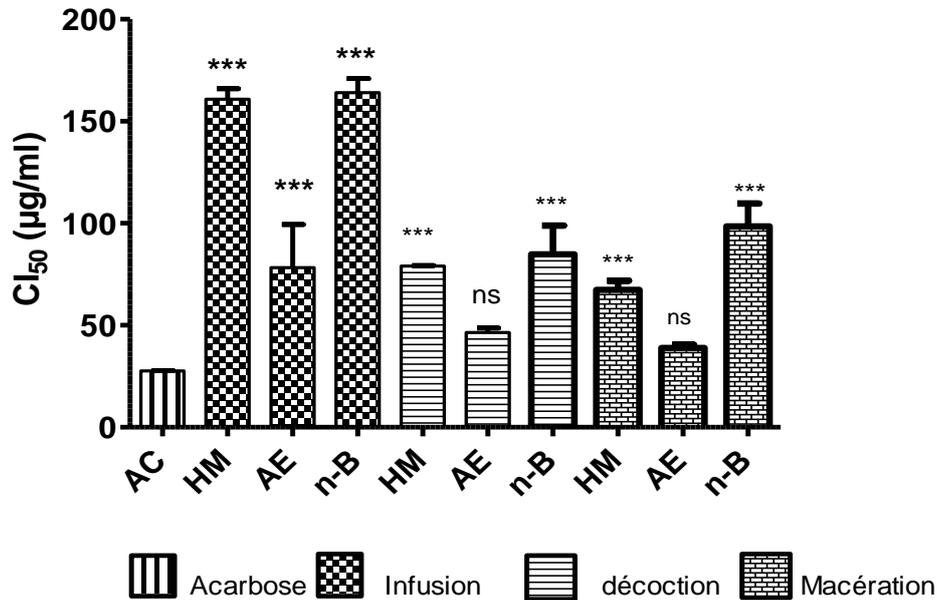


**Fig.32.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par décoction. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol



**Fig.33.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase en fonction des différentes concentrations des préparations de la partie aérienne de *S. officinalis* obtenues par macération. HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

Les résultats ont confirmé que les pourcentages d'inhibition enzymatiques sont dose-dépendantes. Les fractions acétate éthyle ont montré les meilleurs résultats d'inhibition enzymatique  $\alpha$ -amylase. Nous avons calculé la concentration inhibitrice à 50% à partir des équations des courbes de régression logarithmique (Fig. 30, 31, 32 et 33). Les résultats obtenus ont représenté par la figure 34.

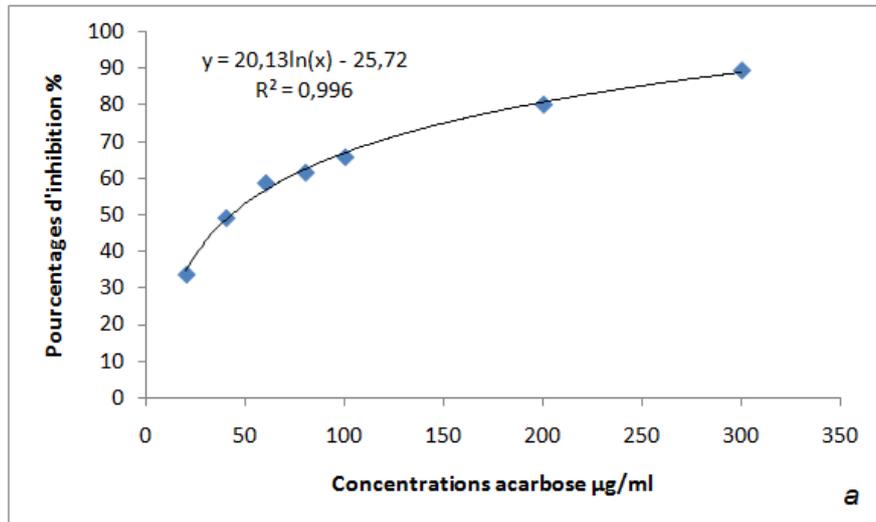


**Fig.34.** Valeurs des CI<sub>50</sub> de l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase par les extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acarbose (\*\*\*:  $p < 0,001$ , ns:  $p > 0,05$ ). Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 3$ ). AC : acarbose, HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle; n-B: fraction n-butanol

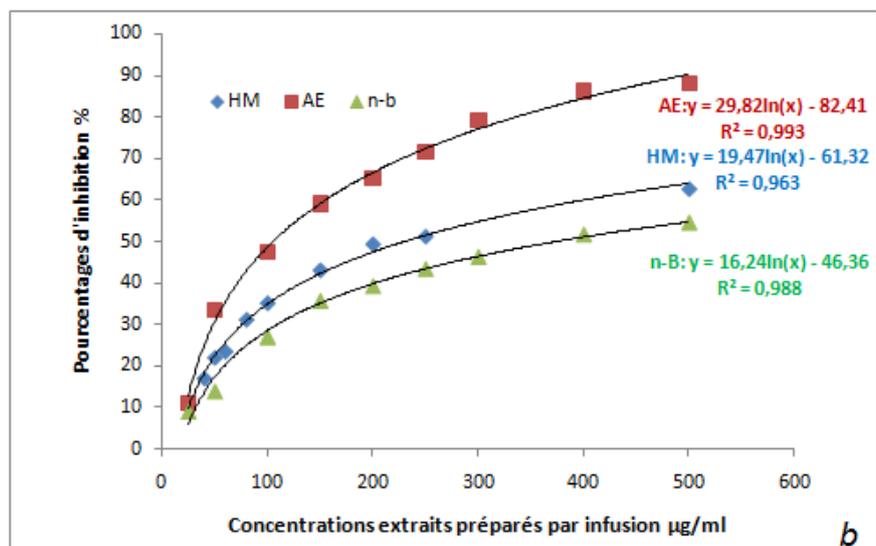
L'activité inhibitrice  $\alpha$ -amylase la plus élevée a été représentée par la fraction acétate éthyle préparée par macération (CI<sub>50</sub> = 38,86  $\pm$  1,58  $\mu$ g/ml). Statistiquement, elle n'a pas présenté une différence significative en comparaison avec l'activité inhibitrice de l'acarbose (CI<sub>50</sub> = 27,66  $\pm$  0,09  $\mu$ g/ml).

### 3.2. Alpha-glucosidase

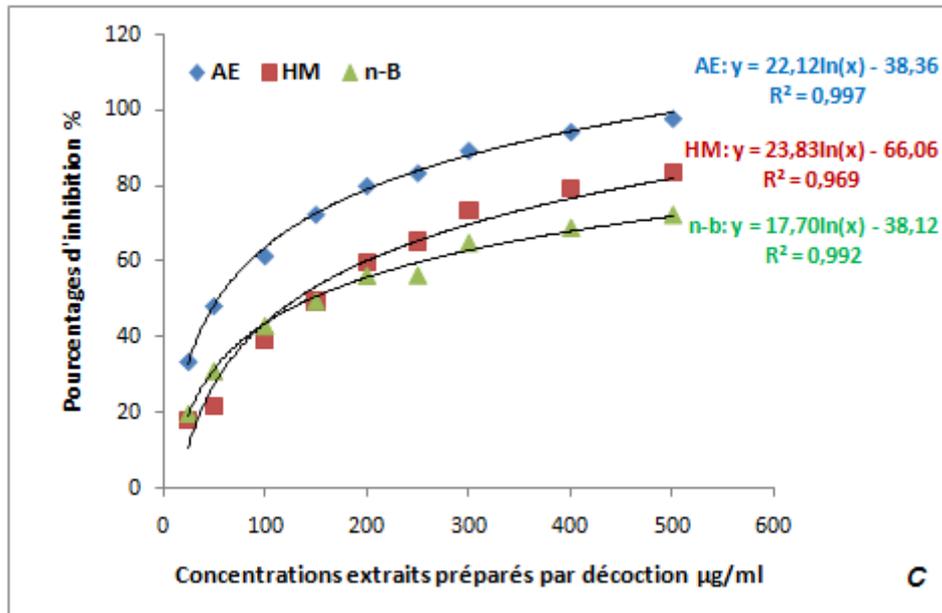
La figure 35 a montré les pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations d'acarbose. Les résultats des pourcentages d'inhibition enzymatique  $\alpha$ -glucosidase par les différentes préparations d'extraits et fractions de *S. officinalis* ont été représentés par les figures 36, 37 et 38.



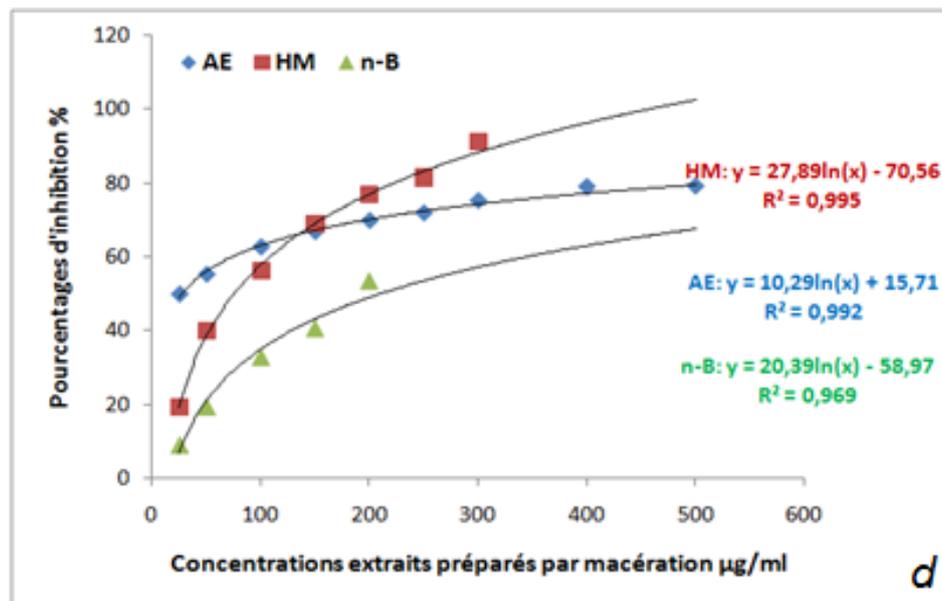
**Fig.35.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations d'acarbose.



**Fig.36.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par infusion. HM : extrait hydro-méthanol, AE : fraction acétate éthyle ; n-B : fraction n-butanol



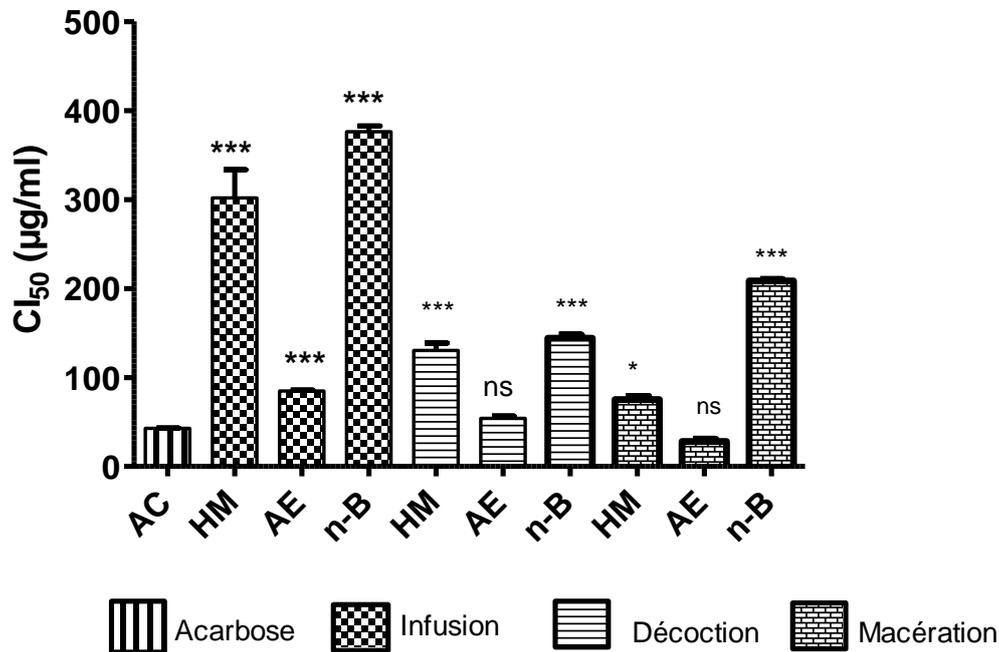
**Fig.37.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par décoction. HM : extrait hydro-méthanol, AE : fraction acétate éthyle ; n-B : fraction n-butanol



**Fig.38.** Pourcentages d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase en fonction des différentes concentrations des échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* préparés par macération. HM : extrait hydro-méthanol, AE : fraction acétate éthyle ; n-B : fraction n-butanol

Les pourcentages d'inhibition enzymatique ont augmenté en fonction de l'augmentation des concentrations des extraits, fractions ou d'acarbose. Les résultats d'IC<sub>50</sub> calculés des différentes concentrations d'extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis* et

d'acarbose qui ont inhibé 50% de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase ont été représentés dans la figure 39.



**Fig.39.** Valeurs des CI<sub>50</sub> d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase par les extraits hydro-méthanoliques et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol préparées par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* en comparaison avec l'acarbose (\*\*\*:  $p < 0,001$ , \*:  $p < 0,1$ , ns:  $p > 0,05$ ). Valeurs exprimées en moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 3$ ). AC : acarbose, HM: extrait hydro-méthanol, AE: fraction acétate éthyle, n-B: n-butanol

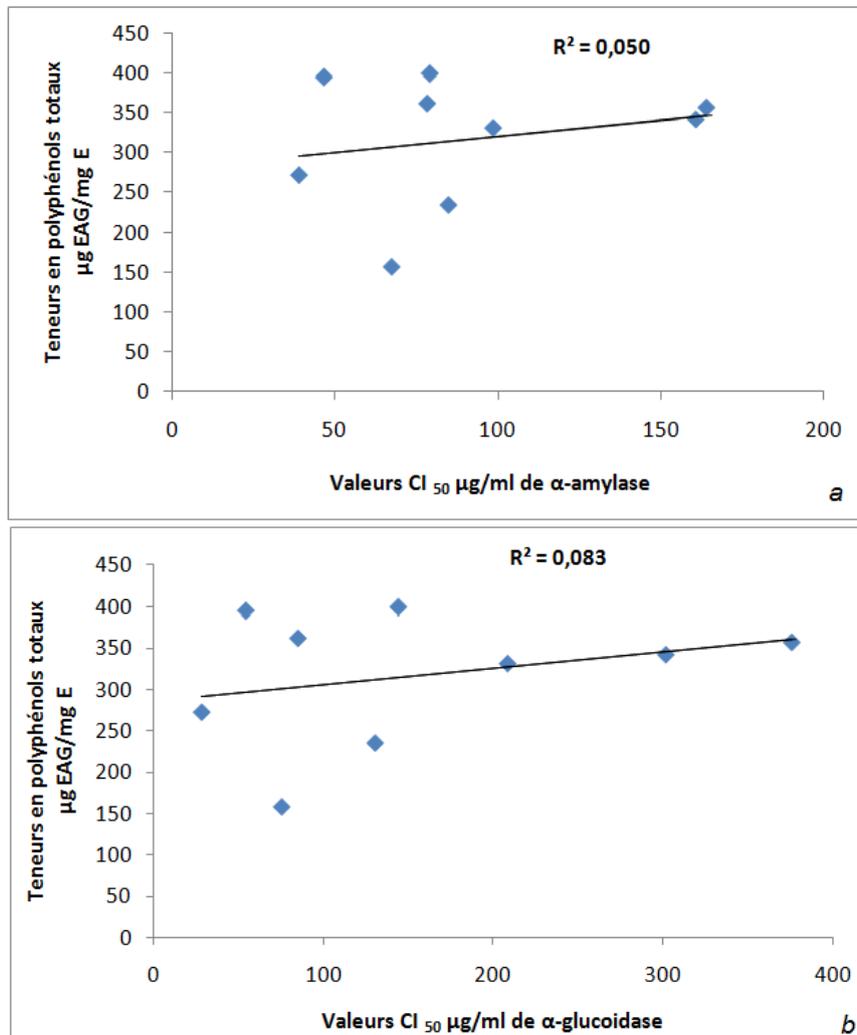
Nous avons utilisé l'acarbose comme un contrôle positif (CI<sub>50</sub> = 42,94  $\pm$  0,09  $\mu$ g/ml) afin d'évaluer la capacité inhibitrice des différents échantillons de la partie aérienne de *S. officinalis* pour l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

Nous avons remarqué que les fractions acétate éthyle des différentes préparations *S. officinalis* ont enregistré les meilleurs résultats d'inhibition enzymatique  $\alpha$ -glucosidase. La fraction acétate éthyle préparée par macération a révélé une forte activité inhibitrice pour l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase mieux que celle du standard antidiabétique (CI<sub>50</sub> = 42,94  $\pm$  0,09  $\mu$ g/ml) avec une valeur de CI<sub>50</sub> de 27,93  $\pm$  2,81  $\mu$ g/ml.

L'ensemble des résultats obtenus ont montré que tous les extraits et fractions testées de la partie aérienne de *S. officinalis* ont inhibé l'activité des deux enzymes :  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase. Leurs valeurs CI<sub>50</sub> ont été variables. Cependant, nous avons constaté que l'activité inhibitrice des échantillons a été plus importante pour l' $\alpha$ -glucosidase.

Les fractions acétate éthyle ont présenté les meilleurs résultats de l'inhibition des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase. En outre, la macération a révélé les résultats les plus importantes pour les deux tests.

Les résultats de corrélation entre l'activité antidiabétique ( $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase) et la teneur en polyphénols totaux des extraits et fractions ont été représentés dans la figure 40.



**Fig.40.** Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les valeurs de CI<sub>50</sub> pour  $\alpha$ -amylase (a) et  $\alpha$ -glucosidase (b) des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*

Une faible corrélation a été distinguée entre les teneurs en polyphénols totaux et les valeurs de CI<sub>50</sub> pour  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase des différents extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*, avec des coefficients de corrélation de 0,050 et 0,083, respectivement.

# **Discussion générale**

*Salvia officinalis* (Sauge) est une plante médicinale de la famille des *Lamiaceae*. En médecine traditionnelle, elle a été utilisée pour le traitement de différents types de troubles notamment les convulsions, les ulcères, la goutte, les rhumatismes, l'inflammation, les tremblements, la paralysie, la diarrhée et l'hyperglycémie. Ces dernières années, cette plante a fait l'objet d'études intensives pour témoigner de son utilisation traditionnelle et trouver de nouveaux effets biologiques. Ces études ont révélé un large éventail d'activités pharmacologiques pour *S. officinalis* y compris les effets anticancéreux, anti-inflammatoire, antioxydant, antimicrobien, antimutagène, hypoglycémiques et hypolipidémiques (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017).

Le présent travail a porté sur une détermination qualitative phytochimique et une estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes contenus dans des extraits hydro-méthanoliques préparés par infusion, décoction ou macération et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol de la partie aérienne de *S. officinalis*. De plus, le test hémolytique a été utilisé comme un premier rapport de toxicité préliminaire des extraits et fractions de la partie aérienne de *S. officinalis*. L'évaluation de l'activité antioxydante a été testée par le test antiradicalaire DPPH, le pouvoir réducteur du fer et la méthode de la capacité antioxydante totale. En outre, l'activité antidiabétique des extraits et des fractions de *S. officinalis* a été évaluée par l'inhibition de l'activité enzymatique  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase pour la première fois par la présente étude.

L'extraction est la séparation des constituants actifs des plantes médicinales utilisant des solvants sélectifs selon des procédures standard. Le but de toute extraction est de séparer les métabolites secondaires solubles du résidu insoluble (Azwanida, 2015). La méthode d'extraction par solvant est fréquemment utilisée pour l'isolement de divers composés phénoliques du matériel végétal. Ces composés phytochimiques consistent une structure complexe de polarité variable (Vanielie et al. 2019). Donc, le bon choix de la méthode et de solvant d'extraction peut conduire à une augmentation de rendement des composés phénoliques extraits des plantes, ce qui représente les meilleures propriétés antioxydantes (Vanielie et al. 2019). Le solvant aqueux, qui est un solvant polaire, est couramment utilisé dans les pratiques ethnobotaniques. Cependant, l'utilisation de différents types de solvants organiques et leur combinaison avec de l'eau gagne une large acceptation en raison d'influence sur le rendement en antioxydants phénoliques (Venkatesan et al., 2019). Le choix de solvants de polarités variables est recommandé afin de sélectionner la quantité et la qualité optimale en ces composés. Nous avons utilisé le mélange eau-méthanol (30:70, v/v) dans

l'extraction des composés phénoliques de *S. officinalis*. L'acétate éthylique et le n-butanol ont été employés dans le fractionnement liquide-liquide de ces composés. Tripathi et Nidhi (2019) ont rapporté que le mélange hydro-méthanol est un solvant efficace largement utilisé dans l'extraction des composés phénoliques. Selon les résultats obtenus par Baskan et al. (2007), l'eau et le méthanol sont les meilleurs solvants pour extraire l'acide rosmarinique qui est un composant majoritaire bioactif de *salvia officinalis* (Müberra Koşar et al., 2010). Les rendements d'extractions obtenus des différents extraits et fractions de *S. officinalis* ont été variables allant de 1 à 7,3%, pour 10 g du matériel végétal sec. Le meilleur rendement a été présenté par l'extrait hydro-méthanolique préparé par macération. Des études précédentes ont rapporté des résultats différents pour les rendements d'extraction pour *S. officinalis*. Duletić-Laušević et son équipe (2019) ont trouvé des rendements plus élevés de 6,95 à 14,15% pour 10 g du matériel végétal sec des extraits aqueux et éthanoliques de *S. officinalis* préparés par macération pendant 24 heures. Par contre, des faibles rendements ont été obtenus par Bouharb et ses collaborateurs (2014). Ils ont enregistré des rendements de 2,33% et de 0,4% pour 100g de plante sèche macérée 24 heures dans l'eau distillée et dans l'éthanol, respectivement. Cette variabilité dépend de la région, la période de collecte, le solvant utilisé (Duletić-Laušević et al. 2016) ou de la phase de développement de la plante (Ben Farhat et al., 2014).

Le screening phytochimique a indiqué la présence de divers groupes de composés phytochimiques dans les extraits et les fractions. Les extraits bruts préparés par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *S. officinalis* ont révélé la présence des tanins, terpénoïdes, flavonoïdes, quinones, coumarines et saponines. Alors que les fractions ont été dépourvues de saponines et terpénoïdes. Des travaux antérieurs ont confirmé la richesse de cette plante en composés chimiques actifs qui pourrait expliquer son utilisation dans la médecine traditionnelle. Guezgouz et Ramdani (2018) ont révélé la présence des alcaloïdes, saponines, tanins, triterpènes, coumarines et flavonoïdes dans l'extrait aqueux préparé de la partie aérienne du *S. officinalis*. Du même, Taiba et al. (2017) ont trouvés les mêmes composés cités au paravent dans l'extrait butanolique et éthanolique de *S. officinalis*. Mekhaldi et al. (2014) ont révélé la présence des flavonoïdes, terpénoïdes et les stéroïdes dans les extraits méthanoliques des feuilles de *S. officinalis*.

Les composés phénoliques végétaux constituent l'un des principaux groupes chimiques des métabolites secondaires agissant comme efficaces antioxydants et puissants inhibiteurs d'enzymes (Khacheba et al., 2014). Il a été intéressant de déterminer leurs teneurs totales dans

les extraits et les fractions préparées de *S. officinalis*. De plus, les flavonoïdes présentent l'un des plus important groupe de composés phénoliques (Chethan et al., 2008) qui possèdent un large spectre de produits chimiques et activités biologiques comprenant les propriétés de piégeage des radicaux libres et d'inhibition enzymatique (Gholamhoseinian et al., 2008). Par conséquent, leurs teneurs ont été déterminées dans les différents extraits et fractions préparées. L'intérêt des composés phénoliques s'est accru ces dernières années notamment pour leur excellente propriété antioxydante. Cette propriété est utile dans le domaine de l'alimentation (inhibition de l'oxydation des aliments), la physiologie (protection contre le stress oxydatif) et la cosmétologie (Jasicka-Misiak et al., 2018). Ils inhibent les enzymes impliquées dans le stress oxydatif, réduisent les espèces réactives de l'oxygène et stimulent les systèmes de défense antioxydants endogènes (Bujor et al., 2016). Les fortes teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les plantes médicinales sont associées à leurs activités antioxydantes qui jouent un rôle dans la prévention du développement des maladies causées par le stress oxydatif (Saba et al., 2019). Les résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont démontré que tous les extraits et fractions étudiées renferment des teneurs considérables en ces composés. La macération a donné les meilleurs résultats après dosage. Les fractions acétate éthyle contiennent les teneurs les plus élevées en ces composés. La fraction acétate éthyle préparée par macération a révélé la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ( $399,39 \pm 0,45 \mu\text{g EAG/mg ES}$ ) et en flavonoïdes ( $345,84 \pm 0,06 \mu\text{g EC/mg ES}$ ). Ces teneurs en polyphénols sont variables et dépendent du type de solvant utilisé et de la méthode d'extraction utilisés (Venkatesan et al., 2019 ; Jiménez-Moreno et al., 2019). Les teneurs en ces composés dépendent aussi de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction, leurs structures chimiques, la méthode d'extraction et/ou la méthode de quantification. Selon Sampaio et al. (2001), les composés phénoliques comme d'autres métabolites secondaires responsables des effets pharmacologiques de la plante représentent une interface chimique entre la plante et l'environnement. Leur synthèse est souvent affectée par les facteurs environnementaux. De plus, leur distribution varie dans la même plante pendant les périodes de son développement. Les changements des conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) affectent leur biosynthèse (Kumar et al., 2017). En effet, la teneur des composés phénoliques dans une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh et al., 2008). Ainsi, les conditions d'échantillonnage (Schlesier et al., 2002) et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Park et Cha, 2003) influent sur les variations de ces

teneurs en polyphénols. En outre, la température utilisée pendant l'extraction affecte le contenu phénolique. Une température élevée favorise l'extraction en améliorant la solubilité des composés phénolique. Cependant, une température trop élevée peut induire la dégradation de certains de ces composés (Herrera et al., 2018). Néanmoins, des études antérieures indiquent la possibilité d'oxydation des composés phénoliques pendant un temps d'extraction prolongé (Nazck et Shahidi, 2004 ; Nazck et Shahidi, 2006 ; Chirinos et al., 2007 ; Drużyńska et al., 2007; Yap et al., 2009 ; Herrera et al., 2018). La concentration des flavonoïdes, dans les extraits des plantes, est liée à leur solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre, position des groupements hydroxyles libres, poids moléculaire et glycolysation de ces composés (Mohammedi et Atik, 2011 ; Iloki-Assanga et al., 2015). Des recherches sur divers extraits de *S. officinalis* ont indiqué que la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes contenue dans cette plante est influencée par la région de récolte, la saison, la phase phénologique et le solvant utilisé (Kontogianni et al. 2013; Ben Farhat et al. 2014; Duletić-Laušević et al. 2016 ; Duletić-Laušević et al., 2019). *S. officinalis* est une plante très riche en polyphénols. Elle est une source naturelle de plusieurs acides phénoliques et flavonoïdes (Sotiropoulou et al., 2020). Martins et al. (2015) ont démontré que les extraits aqueux préparés par décoction des feuilles de *S. officinalis* confortent une forte concentration de composés phénoliques par rapport aux les extraits méthanoliques. Duletić-Laušević et al. (2019) ont trouvé une forte teneur en polyphénols totaux (de 42,28 à 124,91 mg EAG/g E) et en flavonoïdes (de 7,39 à 45,82 mg EC/g E) dans les extraits éthanoliques de *S. officinalis*. De plus, Mekhaldi et son équipe (2014) ont affiché que les extraits méthanoliques de la sauge algérienne sont riches en polyphénols totaux ( $31,15 \pm 1,05$  mg EAG /100 g d'extrait) et en flavonoïdes ( $18,46 \pm 0,13$  mg EC /100 g E). En outre, Karimzadeh et Farahpour (2017) ont montré que l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *S. officinalis* renferme une forte teneur en flavonoïdes ( $116,71 \pm 2,34$  µg E Ruttin/mg d'extrait sec) et en polyphénols totaux ( $298,8 \pm 4,3$  µg EAG /mg d'extrait sec).

Le test d'hémolyse a été effectué, dans cette étude, pour évaluer la toxicité des différents extraits et fractions de *S. officinalis* sur les globules rouges. Les extraits des plantes peuvent affecter positivement les globules rouges en les protégeant contre l'hémolyse. Alors qu'autres peuvent causer des effets néfastes hémolytique (Lígia et al., 2019). Dans ce sens, les composés chimiques des plantes possèdent soit un effet hémolytique soit anti-hémolytique sur les érythrocytes humains. L'activité hémolytique des extraits des plantes est un indicateur de la cytotoxicité générale de ses phytoconstitués. La toxicité de la molécule active est un facteur

clé à investiguer avant l'administration du traitement. Par conséquent, les extraits des plantes médicinales doivent être évalués pour leur activité hémolytique potentielle. Le modèle des globules rouges a été largement utilisé dans l'exploitation et l'administration des médicaments comme une indication directe de la toxicité membranaire (Phuse and Khan, 2018). Les érythrocytes sont les cellules les plus abondantes du corps humain et qui sont facile à isoler. Par ailleurs, elles possèdent des propriétés physiologiques et morphologiques caractéristiques. Elles sont considérées comme la cible principale des radicaux libre en raison de présence de deux membranes riches en acides gras polyinsaturés et le transport d'oxygène associé à l'oxydoréduction des molécules d'hémoglobine (Phuse and Khan, 2018). Les résultats enregistrés ont prouvé que tous les échantillons testés de *S. officinalis* ont présenté des faibles taux d'hémolyse et par conséquent un faible taux de cytotoxicité. Le taux d'hémolyse le plus élevé a été présenté par l'extrait hydro-méthanolique préparé par décoction ( $17,06 \pm 0,41\%$  pour 200 mg/ml d'extrait), après une heure d'incubation. Ceci peut être corrélé à sa teneur en saponines, comme le montre le screening phytochimique. Les saponines peuvent interagir avec les stérols dans la membrane érythrocytaire provoquant son dommage et une perte d'hémoglobine (Baumann et al., 2000 ; Das et al., 2012). La plupart des saponines ont des propriétés hémolytiques (Oda et al., 2000) et cytotoxiques (Itabashi et al., 1999 ; Sparg et al., 2004). Guezgouz et Ramdani (2018) ont révélé que des extraits préparés des feuilles de *S. officinalis* de la région de Guelma ont protégé les érythrocytes contre la lyse membranaire (effet anti-hémolytique). L'étude réalisée par Lima et al. (2005) a rapporté que l'infusion de la sauge n'a aucun effet toxique sur la santé. les composés phénoliques des extraits de la sauge sont des puissants antioxydants piégeant l'oxygène réactif (Zheng et al., 2004), réduisant le stress oxydatif et améliorant le statut antioxydant tout en protégeant les membranes cellulaires (EL-Kholy et al., 2010).

Tous les extraits et fractions préparées de la partie aérienne de *S. officinalis* ont présenté un degré variable de piégeage des radicaux libres DPPH, de réduction du fer et d'activité antioxydante totale. Les résultats de corrélation ont démontré une forte corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des différents extraits et fractions testées par DPPH, FRAP et CAT ( $R^2$  a été de 0,923, 0,631, 0,647, respectivement). Nous avons remarqué que les fractions acétate éthyle ont présenté la plus haute capacité de piégeage des radicaux libres DPPH, de réduction de fer et une puissante capacité antioxydante totale. La fraction acétate éthyle préparée par macération a affiché une activité antiradicalaire ( $CI_{50} = 208,51 \pm 15,77 \mu\text{g/ml}$ ) comparable à celle de l'acide ascorbique ( $CI_{50}$  de  $206,43 \pm 4,16$

$\mu\text{g/ml}$ ). Du même, elle a présenté le meilleur pouvoir réducteur de fer ( $\text{EC}_{50} = 250 \pm 0,001$  /ml) et la meilleure capacité antioxydante totale ( $891,33 \pm 0,0008 \mu\text{g EAA/mg E}$ ). Les résultats des études antérieures ont montré que les extraits de *S. officinalis* possèdent une puissante activité antioxydante qui corrobore son utilisation traditionnelle dans le traitement de diverses maladies (Karimzadeh et Farahpour, 2017 ; Jasicka-Misiak et al., 2018; Duletić-Laušević et al., 2019 ; Andrei et al., 2020) et son utilisation dans la production des additifs alimentaires pour stabiliser et protéger les graisses dans les aliments contre l'oxydation (Martin et al., 2015). Il existe de nombreux rapports dans la littérature qui corrélient la teneur totale d'extrait en composés phénoliques avec son activité antioxydante (Duh et al., 1999 ; Zheng et Wang, 2001 ; Wangensteen et al., 2004 ; Kanatt et al., 2007, N'guessan et al., 2007 ; Sarikurkcu et al., 2008 ; Neagu et al., 2014 ; Saba et al., 2019 ). Les propriétés antioxydantes de la sauge sont principalement dues à son contenu en acides phénoliques et flavonoïdes (Yashaswini et al., 2019). Il a été rapporté que les acides salvianolique et rosmarinique isolés des feuilles de la sauge ont un rôle potentiel dans son activité antioxydante et une propriété très importante dans le piégeage des radicaux libres (Yashaswini et al., 2019). En plus, d'autres polyphénols de *S. officinalis*: l'acide caféique, le carnosol, l'acide carnosique, rosmanol, rosmadial, genkwanin et cirsimaritrine ont de puissantes propriétés antioxydantes. L'activité antiradicalaire de ces constituants est comparable à celui de l' $\alpha$ -tocophérol (Dianat et al., 2014). Par conséquent, la concentration, la structure et la nature des polyphénols de *S. officinalis* contribuent à son pouvoir antioxydant (Sotiropoulou et al., 2020). De plus, il est signalé qu'il existe une forte corrélation entre le niveau de l'acide rosmarinique et le potentiel d'activité antioxydante des extraits de cette plante (Mekhaldi et al., 2014). Il est bien connu que l'activité antioxydante des polyphénols contenue dans les extraits des plantes est due à leur capacité d'être donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons et de capturer les radicaux libres (Shon et al., 2003). Par conséquent, les plantes qui contiennent plus de groupements phénoliques possèdent une activité antioxydante élevée. Ainsi, les flavonoïdes exercent une activité antioxydante très puissante selon N'guessan et al. (2007) et Zhi et al. (2008).

Dans la prise en charge du diabète sucré, l'objectif principal est de réguler la concentration de glucose dans le sang afin de prévenir les complications de cette maladie chronique. Actuellement, le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale est une approche thérapeutique efficace pour gérer le diabète. Ce processus est généralement réalisé en retardant les enzymes clés dans le système digestif liées à l'adsorption du glucose (Wang et al., 2016). L'inhibition des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase est généralement utilisée comme thérapeutique pour

le diabète de type 2 (Sim et al., 2010). Certains agents antidiabétiques tel que l'acarbose réduisent la glycémie par l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase pancréatique, ainsi que l'enzymes  $\alpha$ -glucosidase de la bordure de brosse intestinale (Gy et al., 2008 ; Kazeem et al., 2013 ; Poongunran et al., 2015). L'acarbose est un inhibiteur compétitif et réversible de l' $\alpha$ -amylase pancréatique et l' $\alpha$ -glucosidase intestinale. Il joue le rôle d'un faux substrat et retarde ainsi l'hydrolyse des glucides complexes. Ce qui conduit à une absorption plus lente avec une réduction de la glycémie postprandiale (Lebovitz, 1997 ; DeFronzo, 1999). Cependant, ce médicament présente des effets secondaires tels que l'hypoglycémie, la diarrhée, les gastrites et les ballonnements intestinaux (Levetan, 2007). Par conséquent, les substances naturelles avec moins ou sans effets secondaires sont de plus en plus recherchées et recommandées. Dans la présente étude, nous avons évalué *in vitro* la capacité inhibitrice des différents extraits et fractions de *S. officinalis* sur l'activité des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase en utilisant l'acarbose comme contrôle positif. D'après les résultats obtenus, nous avons observé que tous les échantillons testés possèdent la capacité d'inhiber les deux enzymes avec des valeurs de  $CI_{50}$  variables. Par ailleurs, la fraction acétate éthyle préparée par macération a enregistré des résultats relativement intéressants sur l'inhibition de l'activité enzymatique  $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Elle a présenté une activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase ( $CI_{50} = 38,86 \pm 1,58 \mu\text{g/ml}$ ) comparable à celle de l'acarbose ( $CI_{50} = 27,66 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$ ). En outre, elle a démontré une capacité d'inhiber l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase ( $CI_{50} = 27,93 \pm 2,81 \mu\text{g/ml}$ ) meilleure que celle du contrôle positif ( $CI_{50} = 42,94 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$ ). Dans une étude sur vingt plantes traditionnelles algériennes utilisées dans la thérapie du diabète sucré, Khacheba et ses collaborateurs (2014) ont cités *S. officinalis* parmi les plantes inhibitrices de l'activité de l' $\alpha$ -amylase. En 2017, Khacheba et son équipe ont mentionné l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -glucosidase et l'activité antioxydante des extraits bruts de dix-huit plantes traditionnellement utilisées en Algérie pour soulager le diabète, y compris *S. officinalis*. Des recherches antérieures ont prouvé l'efficacité de *S. officinalis* à réguler la glycémie. Il a été démontré que les extraits de *S. officinalis* réduisent significativement la glycémie et les taux du cholestérol chez les patients diabétiques par rapport aux témoins (Eidi et Eidi, 2009 ; Behradmanesh et al., 2013). Eidi et Eidi (2005) ont indiqué l'effet hypoglycémiant de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles des feuilles de la sauge sur des animaux diabétiques. En 2009, les mêmes auteurs ont postulé que des doses de 0,2 et 0,4 g / kg de poids corporel de l'extrait de feuilles de *S. officinalis* L. pendant 14 jours ont réduit significativement le glucose sérique, les triglycérides et le cholestérol total et ont augmenté l'insuline plasmatique chez des rats diabétiques. En plus, Christensen et al. (2010) ont mentionné que des infusions de cette plante sont très

efficaces contre le diabète en réduisant la libération du glucose par le foie et en augmentant l'action de l'insuline. Govindaraj et al. (2013) ont rapporté que l'acide rosmarinique de *S. officinalis* augmente de manière significative les enzymes antioxydantes et réduit la résistance de l'insuline chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine. Une recherche faite par Ben Khedher et al. (2018) a montré que l'extrait méthanolique de la sauge améliore la sensibilité à l'insuline, inhibe la lipogenèse dans les adipocytes et réduit l'inflammation.

# **Conclusion et perspectives**

*S. officinalis* est une plante aromatique utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter, entre autres, le diabète. Les tests phytochimiques qualitatifs des extraits hydro-méthanoliques de la partie aérienne de *S. officinalis* et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol ont confirmé la présence de plusieurs composés bioactifs : les tanins, terpénoïdes, flavonoïdes, quinones, coumarines et saponines qui pourraient être responsable des différentes propriétés médicinales de cette plante.

L'analyse quantitative a révélé la richesse de ces extraits et fractions préparées en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les teneurs les plus élevées en ces composés ont été présentées par la fraction acétate éthyle préparée par macération. Cette fraction a montré les résultats les plus intéressants sur l'activité antioxydante et antidiabétique. La fraction acétate éthyle préparée par macération a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée contre le DPPH, comparable à celle de l'acide ascorbique. Elle a révélé la plus forte activité réductrice du fer et une capacité antioxydante totale puissante. De plus, cette fraction a présenté les activités inhibitrices les plus puissantes sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Ainsi, les extraits et les fractions de *S. officinalis* ont démontré des faibles taux d'hémolyse.

Les résultats de la présente étude ont fourni des informations scientifiques intéressantes sur l'utilisation traditionnelle de *S. officinalis* dans la prise en charge du diabète sucré et de ses complications. Cette étude pourrait conduire à de nouvelles formulations de médicaments antioxydants sans danger hémolytique et cytotoxique. De plus, des extraits et fractions de *S. officinalis* peuvent être considérés comme une source prometteuse de composés bioactifs naturels pour le développement des formulations médicamenteuses antidiabétiques appropriées dans l'inhibition des enzymes digestives.

Des études complémentaires sont nécessaires pour :

1. Identifier, caractériser, séparer et purifier les composés actifs de la fraction acétate éthyle préparée par macération de *S. officinalis* par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
2. Rechercher des effets toxiques aigus et chroniques de la fraction acétate éthyle préparée par macération par d'autres tests de toxicité ;
3. Étudier quelques enzymes impliquées dans le stress oxydatif : superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, etc.

4. Rechercher des effets hypoglycémiant, antihyperglycémiant, antihyperlipémiant de la fraction acétate éthyle préparée par macération purifiée sur les rats normaux et rendus diabétiques;
5. Rechercher le mécanisme d'action de cette fraction à l'échelle cellulaire : recherche de l'effet insulino-sécrétoire de ces extraits dans les îlots de Langerhans isolés, l'effet sur la captation du glucose par les tissus insulino-sensibles (adipocytes, myocytes et cellules hépatiques isolées).

# **Références bibliographiques**

**ADA (Association Américaine du Diabète).** (2020). Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 43: 14-31.

**ADA (Association Américaine du Diabète).** (2009). Therapy for diabetes mellitus and related disorders. Virginia: American Diabetes Association.

**Ademiluyi A.O., Oboh G.** (2012). Phenolic-rich extracts from selected tropical underutilized legumes inhibit  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and angiotensin I converting enzyme in vitro. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 23: 17–25.

**Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi A.H., Khani M.** (2003). *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebocontrolled trial. *J Clin Pharm Ther*, 28: 53-59.

**Akkawi R., Valente A.L., Badawy S.Z.** (2012). Large mesonephric cyst with acute adnexal torsion in a teenage girl. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 25: 143-145.

**Al-Snafi A.E.** (2020). Phenolics and flavonoids contents of medicinal plants, as natural ingredients for many therapeutic purposes- A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 10: 42-81.

**Andrei M., Babotă M., Pop A., Fizes I., Diuzheva A., Locatelli M., Carradori S., Campestre C., Menghini L., Sisea C.R. Sokovic M., Zengin G., Păltinean R., Bădărău S., Vodnar D.C., Crisan G.** (2020). Chemical Constituents and Biologic Activities of Sage Species: A Comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (Schur ex Griseb. & Schenk) Schur. *Antioxidants*, 9: 480.

**Angelova P.R., Abramov A.Y.** (2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Letters*, 592: 692–702.

**APG III, 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.*; 161: 105-121.

**Apostolidis E., Kwon Y.I., Shetty K.** (2007). Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 8: 46–54.

**Arulselvan P., Ghofar H.A.A., Karthivashan G., Halim M.F.A., Ghafar M.S.A., Fakurazi S.** (2014). Antidiabetic therapeutics from natural source: A systematic review. *Biomed. Prev. Nutr.*, 4: 607–617.

**Asmat U., Abad K., Ismail K.** (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J.*, 24: 547-53.

**Atoui A. K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P.** (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem*, 89: 27–36.

**Azevedo M.I., Pereira A.F., Nogueira R.B., Rolim F.E., Brito G.A.C., Wong D.V.T., Lima-Júnior R.C.P., de Albuquerque R.R., Vale M.L.** (2013). The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Mol Pain.*, 9: 53.

**Azwanida N.N.** (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *J Med Aromat Plants*, 4: 196.

**Azzi R.** (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest Algérien: enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-

toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrillus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

**Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N.** (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *J Med Plants Res*, 6: 2041-2050

**Baba Aissa F.** (2000). Encyclopédie des plantes utiles Flore d'Algérie et du Maghreb. EDAS Librairie moderne Rouïba: 368.

**Badiee P., Nasirzadeh A.R., Motaffaf M.** (2012). Comparison of *Salvia officinalis* L. essential oil and antifungal agents against candida species. *J Pharm Technol Drug Res*, 1: 7.

**Bahare S., Athar A., Nanjangud V.A.K., Farukh S., Ramírez-Alarcón K., Ruiz-Ortega A.** (2019). Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components. *Biomolecules*, 9: 551.

**Baricevic D., Sosa S., Della Loggia R., Tubaro A., Simonovska B., Krasna A., Zupancic A.** (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *J Ethnopharmacol*, 75: 125-132.

**Barrett M.L., Udani J.K.** (2011). A proprietary  $\alpha$ -amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*): a review of clinical studies on weight loss and glycemic control. *J Nutr*, 10: 24.

**Basit A., Fawwad A., Qureshi H., Shera A. S., NDSP Members.** (2018). Prevalence of diabetes, pre-diabetes and associated risk factors: second National Diabetes Survey of Pakistan (NDSP), 2016–2017. *BMJ Open*, 8: 20961.

**Baskan S., Oztekin N., Erim F.B.** (2007). Determination of carnosic acid and rosmarinic acid in sage by capillary electrophoresis. *Food Chem*, 101: 1748-1752.

**Batina A.** (2010). diabétologie maladie métabolique et de nutrition, UNIKIS.

**Baumann E., Stoya G., Völkner A., Richter W., Lemke C., Linss W.** (2000). Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. *Acta Histochemica*, 102: 21–35.

**Behradmanesh S., Derees F., Rafieian-kopaei M.** (2013). Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J Ren Inj Prev*, 2: 51-54.

**Ben Farhat M., Chaouch-Hamada R., Sotomayor J.A., Landoulsi A., Jordan M.J.** (2014). Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. *J IND CROP PROD*, 54: 78-85.

**Ben Khedher M.R., Hammami M., Arch J.R.S., Hislop D.C., Eze D., Waegent E.T. Kępczyńska M.A., Zaibi M.S.** (2018). Preventive effects of *Salvia officinalis* leaf extract on insulin resistance and inflammation in a model of high fat diet induced obesity in mice that responds to rosiglitazone. *Peer J*.

**Benarba B., Belabid L., Riqhi K., Bekkar A.A., Elouissi M., Khaldi A., Hamimed A.** (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *J Ethnopharmacol*, 175: 626-636.

**Bisset N.G., Wichtl M.** (2001). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis with Reference to German Commission E Monographs*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press: 440-443.

**Bokkon I.** (2012). Recognition of functional roles of free radicals. *J Curr Neuropharmacol*, 10: 287.

- Bommer S., Klein P., Suter A.** (2011). First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes. *Adv Ther*, 28: 490-500.
- Bouharb H., EL Badaoui K., Zair T., EL Amari J., Chakir S., Alaoui T.** (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Biosci*, 78: 6685-6693.
- Bowen R.** (2006). Dietary Polysaccharides. [Arbl.cvmb.colostate.edu](http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/basics/polysac.html).  
<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/basics/polysac.html>. Date de consultation: 22/10/2020.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Jovin E.** (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia officinalis L.*, *Lamiaceae*) essential oils. *J Agric Food Chem.*, 55: 7879-7885.
- Brownlee M.** (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54:1615-25.
- Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. 3ème édition. Paris: Tec & Doc. Lavoisier.
- Bujor O-C., Le Bourvellec C., Volf I., Popa V., Dufour C.** (2016). Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. *Food Chem*, 213:58-68.
- Butkowski E.G., Jelinek H.F.** (2017). Hyperglycaemia, oxidative stress and inflammation markers. *Redox Re*, 22: 257-264.
- Campbell R.K., White J.R.** (2008). More choices than ever before: emerging therapies for type 2 diabetes. *Diabetes Educ*, 34: 518-34.
- Chethan S., Sreerama Y. N., Malleshi N. G.** (2008). Mode of inhibition of finger millet malt amylases by the millet phenolics. *Food Chem*, 111: 187-191.
- Cheynier V., Comte G., Davies K.M. Lattanzio V., Martens S.** (2013). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiol Biochem*, 72: 1-20.
- Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., Larondelle Y.** (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón*) tubers. *J Sep Purif Technol*, 55: 217-225.
- Christensen K.B., Jørgensen M., Kotowska D., Petersen R.K., Kristiansen K., Christensen L.P.** (2010). Activation of the nuclear receptor PPAR $\gamma$  by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis L.*). *J Ethnopharmacol*, 132: 127-133.
- Coppieters K.T., Boettler T., von Herrath M.** (2012). Virusinfections in type 1 diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2: a007682.
- Craig M.E., Jefferies C., Dabelea D., Balde N., Seth A., Donaghue K.C.** (2014). ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*, 15: 4-17.
- Das T. K., Banerjee D., Chakraborty D., Pakhira M.C., Shrivastava B., Kuhad R.C.** (2012). Saponin: Role in Animal system *Vet World*, 5: 248-254

**Davidson J.A., Parente E.B., Gross J.L.** (2008). Incretin mimetics and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: innovative treatment therapies for type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 52:1039–49.

**De Freitas M.V., Netto R.C., Da Costa Huss J.C., De Souza T.M., Costa J.O., Firmino C.B., Penha-Silva N.** (2008). Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*, 22: 219-24.

**DeFronzo R.A.** (1999). Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, 131: 281–303.

**Delamare Longaray A.P.L., Ivete T.M.P., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigary S.** (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis L.* and *Salvia triloba L.* cultivated in south Brazil. *Food Chem*, 100: 603–8.

**Demirci B., Hüsnü K., Baser C., Tümen G.** (2005). Composition of the essential oil of *Salvia aramiensis* Rech. fil. growing in Turkey. *J Flavour Frag*, 17: 23–5.

**Diamant M., Heine R.** (2003). Thiazolidinediones in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 63: 1373–406.

**Dianat M., Esmaeilzadeh M., Badavi M., Samarbafzadeh A., Naghizadeh B.** (2014). Cardiac protective effects of crocin on hemodynamic parameters and infarct size in compare vitamin E after ischemia reperfusion in isolated rat heart. *Planta Medica*, 80: 393-398.

**Dinarello C.A., Donath M.Y., Mandrup-Poulsen T.** (2010). Role of Il-1 beta in type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 17: 314-21.

**Dominguez Avila J.A., Rodrigo Garcia J., Gonzalez Aguilar G.A., de la Rosa L.A.** (2017). The Antidiabetic Mechanisms of Polyphenols Related to Increased Glucagon-Like Peptide-1 (GLP1) and Insulin Signaling. *Molecules*, 22: 903.

**Drużyńska B., Stepniewska A., Wolosiak R.** (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 6: 27-36.

**Duh P.D., Tu Y.Y., Yen G.C.** (1999). Antioxydant activity of water extract of harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm wiss Technol*, 32: 269-277.

**Duletić-Laušević S., Alimpić A., Pavlović D., Marin P.D., Lakušić D.** (2016). *Salvia officinalis* of different origin Antioxydant activity, phenolic and flavonoid content of extracts. *Agro Food Industry Hi Tech*, 27: 52-55.

**Duletić-Laušević S., Alimpić Aradski A., Živković J., Gligorijević N., Šavikin K., Radulović S., Danijela Ć., Petar D. Marin.** (2019). Evaluation of bioactivities and phenolic composition of extracts of *Salvia officinalis L. (Lamiaceae)* collected in Montenegro. *Botanica Serbica*, 43: 47-58.

**Eidi M., Eidi A.** (2009). Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis L.*) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 3: 40-44.

**Eidi M., Eidi A. Zamanizadeh H.** (2005). Effect of *Salvia officinalis L.* leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *J ethnopharmacol*, 100: 310-313.

**Eidi M., Eidi A., Bahar M.** (2006). Effects of *Salvia officinalis L.* (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition*, 22: 321-326.

- El Hadri A., del Río M.A.G., Sanz J., Coloma A.G., Idaomar M., Ozonas B.R. , González J.B. , Sánchez Reus M.I.** (2010). Cytotoxic activity of  $\alpha$ -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. *An R Acad Nac Farm*, 76: 343-356.
- EL-Kholy W.M., EL-Habibi E.M., Mousa A.T.** (2010). Oxidative stress in brains of rats intoxicated with aluminium and the neuromodulating effect of different forms of sage. *J Am Sci*, 6: 1462–1474.
- Elkhoufri N., Baali A., Amor H.** (2016). Maternal morbidity and the use of medicinal herbs in the city of Marrakech, Morocco. *Indian j tradit knowl*, 15: 79–85.
- Ercan P., El S.N.** Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. (2016). *Food Chem*, 205: 163–169.
- Evliyaoglu O., Kebapçılar L., Uzuncan N., Kılıçaslan N., Karaca B., Kocaçelebi R., Yensel N.** (2004). Correlations of Serum Cu, Zn, Mg and HbA1c in Type 2 and Type 2 Diabetes Mellitus, *Turk J Endocrinol Metab*, 2 : 75–79.
- 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 Biol*, 331: 372-9.
- Farhat M.B., Jordán M.J.; Chaouech-Hamada, R. Landoulsi A., Sotomayor J.A.** (2009). Variations in Essential Oil, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Tunisian Cultivated *Salvia officinalis*. *J Agric Food Chem*, 57: 10349–10356.
- Farzaneh V., Carvalho I.S.** (2015). A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Ind Crops Prod*, 65: 247–258.
- FID (Fédération Internationale du Diabète).** (2017). *IDF Diabetes Atlas*, 8th ed. Brussels, Belgium.
- FID (Fédération Internationale du Diabète).** (2019). *IDF Diabetes Atlas* Ninth edition.
- Fellah S., Diouf P.N., Petrissans M., Barth D., Romdahne M., Perrin D., Abderrabba M.** (2005). Supercritical CO<sub>2</sub>, Hydrodistillation extractions of *Salvia Officinalis L.* Influence of Extraction Process on Antioxidant Properties. In *Proceedings of the 10th European Meeting on Supercritical Fluids, Reactions, Materials and Natural Products*, Strasbourg/Colmar, France, 12–14 December 2005.
- Figueira I., Menezes R., Macedo D., Costa I., Dos Santos C.N.** (2017). Polyphenols Beyond Barriers: A Glimpse into the Brain. *Curr Neuropharmacol*, 15: 562–594.
- Fogel N.R., Weissberg-Benchell J.**(2010) Preventing poor psychological and healthoutcomes in pediatric type 1 diabetes. *Current Diab Rep*,10: 436-43.
- Forni C., Fachiano F. , Bartoli M., Pieretti S., Fachiano A. , D’Arcangelo D., Norelli S., Valle G., Nisini R. , Beninati S., Tabolacci C., Jadeja R. N.** (2019). Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/8748253>.
- Garcia-Alloza M., Dodwell S.A., Meyer-Luehmann M., Hyman B.T., Bacsikai B.J.** (2006). Plaque-derived oxidative stress mediates distorted neurite trajectories in the Alzheimer mouse model. *J Neuropathol Exp Neurol*, 65: 1082–1089.
- Gayathri G., Gayathri M.** (2016). Review on enhancement of glucose uptake and up-regulation of glucose transporters by antidiabetic medicinal plants. *Asian J Pharm Clin Res*, 9: 34-39.
- Gholamhoseinian A., Fallah H., Sharifi-Far F., Mirtajaddini M.** (2008). The inhibitory effect of some Iranian plants extracts on the alpha glucosidase. *Iran J Basic Med Sci*, 11: 1–9.

- Ghorbani A., Esmailizadeh M.** (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med*, 7: 433-440.
- Giacometti J., Bursać Kovačević D., Putnik P., Gabrić D., Bilušić T., Krešić G., Stulić V., Francisco B.J., Chemat F., Barbosa- Cánovas, Gustavo R.J.A.** (2018). Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques. *Food Res Int*, 113: 245–262.
- Gilly G.** (2005). *Plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse. Botanique-Culture-Chimie-production et marché.* Edition L'Harmattan, France.
- Glisic S., Ivanovic J., Ristic M., Skala D.** (2010). Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by supercritical CO<sub>2</sub>: Kinetic data, chemical composition and selectivity of diterpenes. *J Supercrit Fluids*, 52: 62–70.
- Gomar A., Hosseini A., Mirazi N.** (2014). Evaluation of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on morphine-induced memory impairment in adult male rats. *Focus Altern Complement Ther*, 19: 156-162.
- Govindaraj J., Sorimuthu P.S.** (2015). Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem.*, 404:143-159.
- Guezgouz Y., Ramdani S.** (2018). Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Salvia officinalis* (la sauge) *in vitro* et *in vivo*. Mémoire. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- Gy S., Barbosa F-S., Wele A., Gueye P-M., Gueye C-D., Cisse A., Dieye A-M., Bassene E., Faye B.** (2008). Activite anti-hyperglycemiant de la fraction f2 de l'extrait total acetonique de feuilles de *vernonia colorata* (composeae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaines*, 15 : 6 - 10.
- Halicioglu O., Astarcioglu G., Yaprak I., Aydinlioglu H.** (2011). Toxicity of *Salvia officinalis* in a newborn and a child: an alarming report. *Pediatr Neurol*, 45: 259-260.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.** (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, USA.
- Hamden K., Carreau S., Jamoussi K., Miladi S., Lajmi S., Aloulou D., Ayadi F., Elfeki A.** (2009). 1Alpha, 25 dihydroxyvitamin D3: therapeutic and preventive effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic and renal injury in alloxan-induced diabetes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 55: 215-22.
- Hamidpour M., Hamidpour R., Hamidpour S., Shahlari M.** (2014). Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. *J Tradit Complement Med*, 4: 82-88
- Hamza N., Berke B., Cheze C., Le Garrec R., Umar A., Agli A.N., Lassalle R., Jove J., Gin H., Moore N.** (2012). Preventive and curative effect of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds in C57BL/6J models of type 2 diabetes induced by high-fat diet. *J Ethnopharmacol*, 142: 516-522.
- Hamza N., Berke B., Umar A., Cheze C., Gin H., Moore N.** (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*, 238: 111841.

**Hanazaki K.** (2009). Problems associated with glucose toxicity: role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World J Gastroenterol*, 15: 4137-4142.

**Hans W.K.** (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition : 6-7.

**Harani H., Otmane A., Makrelouf M., Ouadahi N., Abdi A., Berrah A., Zenati A., Alamir B., Koceir E.A.** (2012). The relationship between inflammation, oxidative stress and metabolic risk factors in type 2 diabetic patients. *Ann Biol Clin*, 70: 669-677.

**Harborne J.** (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis.* third ed. UK, Chapman and Hall Thomson Science: 203–234.

**Hasanein P., Felehgari Z., Emamjomeh A.** (2016). Preventive effects of *Salvia officinalis L.* against learning and memory deficit induced by diabetes in rats: possible hypoglycaemic and antioxidant mechanisms. *Neurosci Lett.*, 622: 72-77.

**Hayouni E.A., Chraief I., Abedrabba M., Bouix M., Leveau J-Y., Hammami M., Hamdi M.** (2008). Tunisian *Salvia officinalis L.* and *Schinus molle L.* essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Int J Food Microbiol*, 125: 242-251.

**Hedge I.C., Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A.** (1972). *Salvia L. Flora Europaea.* Eds. Cambridge University Press UK: 188.

**Henneberg R., Otuki M. F., Furman A. E. F., Hermann P., Nascimento A. J., Leonart M. S. S.** (2013). Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxy urea. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 35: 52–55.

**Hernandez-Saavedra D., Perez-Ramirez I.F., Ramos-Gomez M., Mendoza-Diaz S., Loarca-Pina G., Reynoso-Camacho R.** (2016). Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity associated cardiovascular risk. *Med Chem Res*, 25: 163-172.

**Herrera A., Garrido-Amador P., Martínez I., Samper M.D., López-Martínez J., Gómez M., Packard T.T.** (2018). Novel methodology to isolate microplastics from vegetal-rich samples. *Marine Pollution Bulletin*, 129: 61–69.

**Hsia D.S., Grove O., Cefalu W.T.** (2018). An update on SGLT2 inhibitors for the treatment of diabetes mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 24: 73–9.

**Hubert A, J.** (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de Soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments : 174.

**Iloki-Assanga S.B., Lewis-luján L.M., Lara-Espinoza C.L., Gil-Salido A.A., Fernandez-Angulo D., Rubio-Pino J.L., Haines D.D.** (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros L.* and *Phoradendron californicum*. *BMC Res Notes*, 8 : 1-14.

**Infante-Garcia C., Garcia-Alloza M.N.** (2019). Review of the Effect of Natural Compounds and Extracts on Neurodegeneration in Animal Models of Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*, 20: 2533.

**Itabashi M., Segawa K., Ikeda Y., Kondo S., Naganawa H., Koyano T., Umezawa K.** (1999). A new bioactive steroidal saponin, furcreastatin, from the plant *Furcraea foetida*. *Carbohydrate Research*, 323: 57-62.

**Jacinto V.** (2006). Photo de Valter Jacinto sur le site [www.flickr.com](http://www.flickr.com) - Licence CC BY-NC-SA 3.0. 24/6/2006.

**Jakovljević M., Jokić S., Molnar M., Jašić M., Babić J., Jukić H., Banjari I.** (2019). Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations. *Plants*, 8: 55.

**Jasicka-Misiak I., PoliwođaA., Petecka M., Buslovych O., Shlyapnikov V.A., Wieczorek P.P.** (2018). Antioxidant Phenolic Compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. *Ecol Chem Eng S*, 25: 133-142.

**Jedinak A., Muckova M., Kostalova D., Maliar T., Masterova I.** (2006). Antiprotease and antimetastatic activity of ursolic acid isolated from *Salvia officinalis*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61: 77-82.

**Jha J.C., Banal C., Chow B.S., Cooper M.E., Jandeleit-Dahm K.** (2016). Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.*, 25: 657-684.

**Jiang J., Ghosh S.** (2019). PDB-101. Molecular explorations through biology and medicine. <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/alpha-glucosidase-inhibitors/alpha-glucosidase>. Date de consultation: 14/ 10/ 2020.

**Jiménez-Moreno N., Volpe F., Moler J.A., Esparza I., Ancín-Azpilicueta C.** (2019). Impact of Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Grape Stem Extracts. *Antioxidants*, 8: 597.

**Jokić S., Molnar M., Jakovljević M., Aladić, K., Jerković I.** (2018). Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Salvia officinalis* L. leaves targeted on Oxygenated monoterpenes,  $\alpha$ -humulene, viridiflorol and manool. *J Supercrit Fluids*, 133: 253–262.

**Jurkovič S., Osredkar J., Marc J.** (2008). Molecular impact of glutathione peroxidases in antioxidant processes. *Biochemia Medica*, 18: 162- 174.

**Kahn S.E., Hull R.L., Utzschneider K.M.** (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444: 840-6.

**Kailash C., Pradeep S., Shridhar D., Jain S.K.** (2019). Diabetes Mellitus and Oxidative Stress: A Co-relative and Therapeutic Approach. DOI: 10.7860/JCDR/2019/40628.12878.

**Kaliora A.C., Kogiannou D.A.A., Kefalas P., Papassideri I.S., Kalogeropoulos N.** (2014). Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of Greek herbal infusions; Balancing delight and chemoprevention? *Food Chem*, 142: 233–241.

**Kanatt S.R., Chander R., Sharma A.** (2007). Antioxi-dant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation- processed lamb meat. *Food Chem*, 100: 451-458.

**Kaneto H., Katakami N., Matsuhisa M., Matsuoka T.A.** (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* <https://doi.org/10.1155/2010/453892>.

**Karagözler A., Erdag B., Emec Y., et al.** (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food chem*, 111: 400-407.

**Karimzadeh S., Farahpour M.R.** (2017). Topical application of *Salvia officinalis* hydroethanolic leaf extract improves wound healing process, *Inidan J of Experimental Biology*, 55: 98-106.

**Kazeem M- I., Ogunbiyi J- V., Ashafa A- O.** (2013). In vitro Studies on the Inhibition of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ - Glucosidase by Leaf Extracts of *Picralima nitida* (Stapf). *Trop J Pharm Res*, 12: 719-725.

**Kennedy D.O., Pace S., Haskell C., Okello E.J., Milne A., Scholey A.B.** (2006). Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacol*, 31: 845-852.

**Keshavarz M., Bidmeshkipour A., Mostafaie A., Mansouri K., Mohammadi- Motlagh H.R.** (2011). Antitumor activity of *Salvia officinalis* is due to its antiangiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. *Cell J*, 12: 477-482.

**Khacheba I., Boussoussaa H., Djeridanea A., Bekhaouab A., Bensayahb N., Yousfia M.** (2017). Glucosidase inhibitory effect and antioxidant activity of the extracts of eighteen plants traditionally used in Algeria for diabetes. *Current Enzyme Inhibition*, 13: 1- 12.

**Khacheba I., Djeridane A., Yousfi M.** (2014). Twenty traditional Algerian plants used in alpha-amylase activity. *International Journal of diabetes therapy as strong inhibitors of Carbohydrate Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/287281>.

**Khan A., Najeebur- Rahman, Alkharfy K., Gilani A.** (2011). Antidiarrheal and antispasmodic activities of *Salvia officinalis* are mediated through activation of K<sup>+</sup> channels. *J Bangladesh Pharmacol Soc*, 6: 111-116.

**Khattab H.A.H., Mohamed R.A., Hashemi J.M.** (2012). Evaluation of hypoglycemic activity of *Salvia officinalis* L. (Sage) infusion on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Am Sci*, 8: 411-416.

**Kianbakht S, Dabaghian FH.** (2013). Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo controlled clinical trial. *Complement Ther Med.*, 21: 441-446.

**Kianbakht S., Abasi B., Perham M., Hashem Dabaghian F.** (2011). Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res*, 25: 1849-1853.

**Korkmaz M., Karakuş S., Özçelik H., Selvi S.** (2016). An ethnobotanical study on medicinal plants in Erzincan, Turkey. *Indian j tradit knowl*, 15: 192–202.

**Kozics K., Klusova V., Srancikova A., Mučaji P., Slameňová D., Hunáková L., Kusznierevicz B., Horváthová E.** (2013). Effects of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* on oxidant-induced DNA damage and antioxidant status in HepG2 cells. *Food Chem*, 141: 2198-2206.

**Kumar S., Yadav A., Yadav M., Parkash Yadav J.** (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.) Burm.f. *BMC Research Notes*, 10: 60.

**Lankatillake C., Huynh T., Dias D.A.** (2019). Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants. *Plant Methods*, 15: 105.

**Lascar N., Brown J., Pattison H., Barnett A.H., Bailey C.J., Bellary S.** (2018). Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 6: 69–80.

- Lebovitz H.E.** (1997). Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinol. Metab Clin N Am*, 26: 539–551.
- Lee J.Y., Cho P.Y., Kim T.Y., Kang S.Y., Song K.Y., Hong S.J.** (2002). Hemolytic activity and developmental expression of pore-forming peptide, clonorin. *Biochem Biophys Res Commun*, 296: 1238-1244.
- Lee Y.J., Suh K.S., Choi M.C., Chon S., Oh S., Woo J.T., Kim S.W., Kim J.W., Kim Y.S.** (2010). Kaempferol protects HIT-15 pancreatic beta-cells from 2-deoxy-D-ribose-induced oxidative damage. *Phytother Res*, 24: 419-423.
- Levetan C.** (2007). Oral antidiabetic agents in type 2 diabetes. *Curr Med Res Opin*, 23: 945–952.
- Li H., Horke S., Forstermann U.** (2013). Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends Pharmacol Sci*, 34: 313-319.
- Li H-B., Cheng K-W., Wong C-C., Fan K-W., Chen F., Jiang Y.** (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chem*, 102: 771–776.
- Lígia M.B., da Silva C.B., Rondon J.N., da Silva L.M., de Andrade S.F., Miguel O.G., Josiane de Fátima G.D., Marilis D.M.** (2019). Acute and subacute (28 days) toxicity, hemolytic and cytotoxic effect of *Artocarpus heterophyllus* seed extracts. *Toxicol Rep*, 6: 1304-08.
- Lima C.F., Andrade P.B., Seabra R.M., Fernandes-Ferreira M., Pereira-Wilson C.** (2005). The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *J Ethnopharmacol*, 97: 383-389.
- Lima C.F., Azevedo M.F., Araujo R., Fernandes-Ferreira M., Pereira-Wilson C.** (2006). Metformin-like effect of *Salvia officinalis* (common sage): is it useful in diabetes prevention? *Br J Nutr*, 96: 326-333.
- Lima C.F., Fernandes-Ferreira M., Pereira-Wilson C.** (2007). Drinking of *Salvia officinalis* tea increases CCl4-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol*, 45: 456-464.
- Lima C.F., Valentao P.C., Andrade P.B., Seabra R.M., Fernandes-Ferreira M., Pereira-Wilson C.** (2007). Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chem Biol Interact.*, 167: 107-115.
- Liné (2007).** Photo de Liné sur le site <http://commons.wikimedia.org> - Licence CC BY-SA 3.0 ou GFDL. 28/10/2007.
- Liu Y.W., Liu X.L., Kong L., Zhang M.Y., Chen Y.J., Zhu X., Hao Y.C.** (2019). Neuroprotection of quercetin on central neurons against chronic high glucose through enhancement of Nrf2/ARE/glyoxalase-1 pathway mediated by phosphorylation regulation. *Biomed Pharmacother*, 109, 2145–2154.
- Lu Y., Foo L.Y.** (2002). Polyphenolics of *Salvia*—A review. *Phytochemistry*, 59: 117–140.
- Lugrin J., Rosenblatt-Velin N., Parapanov R., Liaudet L.** (2014). The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biol Chem*, 395: 203-30.
- Mansourabadi A.M., Sadeghi H.M., Razavi N., Rezvani E.** (2015). Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, *Salvia officinalis* flavonoid extracted. *Adv Herb Med*, 1:31-41.
- Marchand L., Thivolet C.** (2016). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. *EMC - Endocrinologie*, 13: 1-12.

- Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins J.B.** (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17: 24– 38.
- Markosian C., Jiang J., Ghosh S.** (2019). PDB-101. Molecular explorations through biology and medicine. <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/alpha-glucosidase-inhibitors/acarbose>. Date de consultation: 14/ 10/ 2020.
- Martin N., Barros L., Santos-Buelga C., Henriques M., Silva S., Ferreira I. C.F.R.** (2015): Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis L.* *Food Chem*, 170: 378–385.
- Mekhaldi A., Bouznad A., Djibaoui R., Hamoum H.** (2014). Phytochemical study and biological activity of sage (*Salvia officinalis L.*). *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8: 1231-1235.
- Mills S., Bone K.** (2005). *The Essential Guide to Herbal Safety*. St Louis, Missouri: Elsevier: 558-559.
- Miroddi M., Navarra M., Quattropani M.C., Calapai F., Gangemi S., Calapai G.** (2014). Systematic review of clinical trials assessing pharmacological properties of *Salvia* species on memory, cognitive impairment and Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*, 20: 485-495.
- Mitic-Culafic D., Vukovic-Gacic B., Knezevic-Vukcevic J., Stankovic S., Simic D.** (2005). Comparative study on the antibacterial activity of volatiles from sage (*Salvia officinalis L.*). *Arch Biol Sci*, 57: 173-178.
- Mohammedi Z., Atik F.** (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from *Tamarix aphylla (L.) Karst.* *Int J Pharma Bio Sci*, 2: 609-615
- Moss L., Rouse M., Wesnes K.A., Moss M.** (2010). Differential effects of the aromas of *Salvia* species on memory and mood. *Hum Psychopharmacol*, 25: 388-396.
- Moss M., Rouse M., Moss L.** (2014). Aromas of *salvia* species enhance everyday prospective memory performance in healthy young adults. *Adv Chem Eng Sci*, 4: 339-346.
- Müberra Koşar H.J., Damien Dorman K., Hüsnü Can Başer, Raimo Hiltunen.** (2010). *Salvia officinalis L.*: Composition and Antioxidant-related Activities of a Crude Extract and Selected Sub-fractions. *Nat Prod Commun*, 5: 1453 - 1456.
- N'guessan J.D., Zirihi G.N., Kra A.K.M., Kouakou K., Djaman A.J., Guede-Guina F.** (2007). Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *IJONAS*, 4: 425-429.
- Nanjan M.J., Mohammed M., Prashantha Kumar B.R., Chandrasekar M.J.N.** (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: a critical review. *Bioorg Chem*, 77: 548–67.
- Nazck M., Shahidi F.** (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogram A*, 1054: 95-111.
- Nazck M., Shahidi F.** (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 41: 1523- 1542.
- Neagu E., Paun G., Radu G.L.** (2014). Chemical composition and antioxidant activity of *Salvia officinalis* concentrated by ultrafiltration. *Romanian Biotechnological Letters*, 19: 9203-9211.

- Nicolella H., Senedese J., Furtado R., Veneziani R., Tavares D.** (2015). Evaluation of antiinflammatory potential of diterpene manool in macrophages by quantification of nitric oxide. *J Int Soc Antioxid Nutr Health*, 1: 124-128.
- Oda K., Matsuda H., Murakami T., Katayama S., Ohgitani T., Yoshikawa M.** (2000). Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biological Chem*, 381: 67-74.
- Oguntibeju O.O.** (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 11: 45-63.
- Olivares R.J., Arellano P.A.** (2008). Bases moleculares de las acciones de la Insulina. *Rev Educ Bioquímica*, 27: 9-18.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé).** (2016). Global report on diabetes. Geneva: WHO Press.
- Ou J.Y., Huang J.Q., Wang M.F., Ou S.Y.** (2017). Effect of rosmarinic acid and carnosic acid on AGEs formation in vitro. *Food Chem*, 221: 1057–1061.
- Özcan B., Birgul E.M., Coleri A., Yolcu H., Caliskan M.** (2009). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of *Salvia microstegia* (Boiss.) et. Bal. from Antakya, Turkey. *Fresenius Environ Bull.*, 18: 658–62.
- Ozturk M.C., Xu Q., Cinar A.** (2018). Agent-based modeling of the interaction between CD8+ T cells and Beta cells in type 1 diabetes. *Journal Plos*, 13: 19.
- Park H.J., Cha H.C.** (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean J Biol society*, 7: 327-330.
- Pataky M.W., Yu C.S., Nie Y., Arias E.B., Singh M., Mendias C.L., et al.** (2019). Skeletal muscle fiber type-selective effects of acute exercise on insulin-stimulated glucose uptake in insulin-resistant, high-fat-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 316: 695–706.
- Pedro D.F., Ramos A.A., Lima C.F., Baltazar F., Pereira-Wilson C.** (2016). Colon cancer chemoprevention by sage tea drinking: decreased DNA damage and cell proliferation. *Phytother Res*, 30: 298-305.
- Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C.** (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, 4: 89-96.
- Phuse S.S., Khan Z.H.** (2018). Assessment of hemolytic effect of Cassia flower extracts on human RBCs. *J. drug deliv ther*, 8: 18-20.
- Poongunran J., Perera H-K- I., Fernando W- I-T., Jayasinghe L., Sivakanesan R.** (2015).  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Nine Sri Lankan Antidiabetic Plants. *Br J Pharmacol res*, 7: 365-374.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337-341.
- Radi R., Denicola A., Morgan B., Zielonka J.** (2018). Foreword to the free radical biology and medicine special issue on current fluorescence and chemiluminescence approaches in free radical and redox biology. *Free Radic Biol Med*, 128: 1-2.
- Radulescu V., Silvia C., Eliza O.** (2004). Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *salvia officinalis*. *J Chromatogr A*, 1027: 121-126.

- Ramdane F., Sobti A., Hrizat N.H., Hadj M.M.** (2019). Effet protecteur de *Myrtus nivellei* contre le stress oxydatif chez les rattes rendues diabétiques à l'alloxane. *Phytothérapie*. DOI 10.3166/phyto-2019-0220.
- Rehman K., Akash M.S.H.** (2017). Mechanism of generation of oxidative stress and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: how are they interlinked? *J Cell Biochem*, 118: 3577-3585.
- Reinehr T.** (2013). Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes*, 4: 270–81.
- Ren L., Qin X. Cao X., Wang L., Bai F. Bai, G., Shen Y.** (2011). Structural insight into substrate specificity of human intestinal maltase-glucoamylase. *Protein Cell*, 2: 827-36.
- Roby M.H., Sarhan M.A., Selim K.A.H., Khael K.I.** (2013). Evaluation of antioxidant activity, total polyphenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris L.*), sage (*Salvia officinalis L.*) and marjoram (*Origanum majorana L.*) extracts. *Ind Crops Prod*, 43: 827–831.
- Rodrigues M.R., Kanazawa L.K., das Neves T.L.M., da Silva C.F., Horst H., Pizzolatti H.G., Santos A.R.S., Baggio C.H., de Paula Werner M.F.** (2012). Antinociceptive and antiinflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *J Ethnopharmacol*, 139: 519-526.
- Royal Australian College of General Practitioners.** (2016). General practice management of type 2 diabetes: 2016–18. East Melbourne: Royal Australian College of General Practitioners.
- Russo A., Formisano C., Rigano D., Senatore F., Delfine S., Cardile V., Rosselli S., Bruno M.** (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis L.*) grown in different environmental conditions. *Food Chem Toxicol*, 55: 42-47.
- Sa C.M., Ramos A.A., Azevedo M.F., Lima C.F., Fernandes-Ferreira M., Pereira- Wilson C.** (2009). Sage tea drinking improves lipid profile and antioxidant defences in humans. *Int J Mol Sci*, 10: 3937-3950.
- Saba A.J., Suhayla M.K., Zahraa R.H.** (2019). Study the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia Officinalis*) Leaves Extract. *Indian J Public Health Res Dev*, 10: 556- 559.
- Sales P.M., Souza P.M., Simeoni L.A., Magalhães P.O., Silveira D.** (2012).  $\alpha$ -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *J Pharm Sci*, 15: 141–183.
- Samarth R. M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A.** (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract. *Food Chem*, 106: 868-873.
- Sampaio B.L., Bara M.T.F., Ferri P.H., da Costa Santos S., de Paula J.R.** (2011). Influence of environmental factors on the concentration of phenolic compounds in leaves of *Lafoensia pacari*. *Rev bras farmacogn*, 21: 1127–1137.
- Samuel V.T., Shulman G.I.** (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, 148: 852–871.
- Sarikurkcü C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Harmandar M.** (2008). Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresour Technol*, 99: 4239-4246.
- Schlesier K., Harwat M., B.hm V., Bitsch R.** (2002). Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free Radical Res*, 36: 177–87.

**Scholey A.B., Tildesley N.T., Ballard C.G., Wesnes K.A., Tasker A., Perry E.K., Kennedy D.O.** (2008). An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacol (Berl)*, 198: 127-139.

**Schroder S., Beckmann K., Franconi G., Meyer-Hamme G., Friedemann T., Greten H.G., Rostock M., Efferth T.** (2013). Can medical herbs stimulate regeneration or neuroprotection and treat neuropathic pain in chemotherapy-induced peripheral neuropathy? *Evid Based Complement Alternat Med*: 423713.

**Seven A., Guzel S., Seymen O., Civelek S., Bolayirli M., Uncu M., Burcak G.** (2004). Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma. *Yonsei Med J*, 45: 703- 710.

**Shafiee-Nick R., Ghorbani A., Vafae Bagheri F., Rakhshandeh H.** (2012). Chronic administration of a combination of six herbs inhibits the progression of hyperglycemia and decreases serum lipids and aspartate amino transferase activity in diabetic rats. *Adv Pharmacol Sci*: 789796.

**Shibano M., Kitagawa S., Nakamura S., Akazawa N., Kusano G.** (1997). Studies on the constituents of *Broussonetia* species. II. Six new pyrrolidine alkaloids, broussonetine A, B, E, F and broussonetinine A and B, as inhibitors of glycosidases from *Broussonetia kazinoki* SIEB. *Chem Pharm Bull*, 45: 700–705.

**Shon, M.Y., Kim, T.H., Sung, N.J.** (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaeta*-ceae) extracts. *Food Chem*, 82: 593-597.

**Sies H., Berndt C., Jones D.P.** (2017). Oxidative stress. *Annu Rev Biochem*, 86: 715–748.

**Šilić C., Korene Z., Mitić V.** (1973). *Atlas Drveća i Grmlja*. Eds. Zavod za Izdavanje Udžbenika: Sarajevo, Bosnia and Herzegovina: 174.

**Sim L., Willemsma C., Mohan S., Naim HY., Pinto BM., Rose DR.** (2010). Structural basis for substrate selectivity in human maltase-glucoamylase and Sucraseisomaltase Nterminal domains. *J Biol. Chem*, 285: 17763–17770.

**Sim, L., Quezada-Calvillo, R., Sterchi, E.E., Nichols, B.L., and Rose, D.R.** (2008) Human Intestinal Maltase–Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity. *J Mol Biol*, 375: 782-792.

**Sotiropoulou N.S., Megremi S.F., Tarantilis P.** (2020). Evaluation of Antioxidant Activity, Toxicity, and Phenolic Profile of Aqueous Extracts of Chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) and Sage (*Salvia officinalis L.*) Prepared at Different Temperatures. *Appl Sci*, 10: 2270.

**Sow D.S., Traoré D., Dramé B.S.I., Konaté M., Bah M., Gninkoun C.J., Traoré B., Mariko M., Traoré A.K., Sidibé A.T.** (2019). Statut des marqueurs du stress oxydatif au service de médecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali. *Mali medical*, Tome XXXIV N°2.

**Sparg G.S., Light M.E. Van staden J.** (2004). Biological activities and distribution of plant saponine. *J Ethnopharmacol*, 94: 219-243.

**Swinnen S.G., Hoekstra J.B., DeVries J.H.** (2009). Insulin therapy for type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32: 253–259.

**Tadera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T.** (2006). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52: 149–153.

**Taiba I., Boumahart M., Boulifa A.** (2017). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia officinalis* L. Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine.

**Tanaka Y., Gleason C.E., Tran P.O., Harmon J.S., Robertson R.P.** (1999). Prevention of glucose toxicity in HIT-T15 cells and zucker diabetic fatty rats by antioxidants. Proc Natl Acad Sci USA, 96: 10857-10862.

**Tangvarasittichai S.** (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes, 6: 456–480.

**Tatsch E., Bochi G.V., Piva S.J., De Carvalho J.A., Kober H., Torbitz V.D., Duarte T., Signor C., Coelho A.C., Duarte M.M., Montagner G.F., Da Cruz I.B., Moresco R.N.** (2012). Association between DNA strand breakage in type 2 diabetes. Mutat Res, 732: 16-20.

**Thalapaneni N., Chidambaram K., Ellappan T., Sabapathi M., Mandal S.** (2008). Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by talinium portulacifolium (forssk) leaf extracts. J Compl Integr Med, 11: 5.

**Thomas M.** (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat en Chimie Analytique -Phytochimie l'université d'Orléans.

**Tinio K., Jiang J., Ghosh S.** (2019). PDB-101. Molecular explorations through biology and medicine. <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/alpha-glucosidase-inhibitors/miglitol>. Date de consultation: 14/ 10/ 2020.

**Trabsa H., Baghiani A., Boussoualim N., Krache I., Arrar L.** (2020). *In vivo* and *in vitro* antioxidant and anti-hemolytic effect of Algerian *Centaurea calcitrapa* L. Extracts. J drug deliv ther, 10: 202-207.

**Traykova B., Stanilova M., Nikolova M., Berkov S.** (2019). Growth and Essential Oils of *Salvia officinalis* Plants Derived from Conventional or Aeroponic Produced Seedlings. Agric conspec sci, 84: 77-81.

**Trease G.E., Evans W.C.** (2002). Pharmacognosy. 15th ed. Edinburg, Saunders WB: 585.

**Tremblay M.S., Colley R.C., Saunders T.J., Healy G.N., Owen N.** (2010). Physiological and health implications of a sedentary lifestyle. Appl Physiol Nutr Metab, 35: 725–740.

**Tripathi Y.C., Nidhi S.** (2019). Total phenolic, total flavonoid content and antioxidant efficacy of leaves of *Eupatorium Adenophorum*. Int J Pharma Bio Sci, ISSN 0975-6299.

**Tsao R.** (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2: 1231–1246.

**Ulubelen A.** (2000). Chemical constituents: Terpenoids in the genus *Salvia*. In Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles; Kintzios, S.E., Ed.; Harwood Academic: Reading, UK, 14: 55–68.

**Vanielie T. J., Muskhazli M., Sulaiman S. Kankara, Rusea G.** (2019). Effect of Drying Methods and Extraction Solvents on Phenolic Antioxidants and Antioxidant Activity of *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser (Loranthaceae) Leaf Extracts. Sains Malays, 48: 1383–1393.

**Velickovic D.T., RanCelovic N.V., Ristic M.S., Velickovic A.S., Smelcerovic A.A.** (2003). Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. J Serb Chem Soc., 68:17-24.

- Venkatesan T., Choi Y-W., Kim Y-K.** (2019). Impact of Different Extraction Solvents on Phenolic Content and Antioxidant Potential of *Pinus densiflora* Bark Extract. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/3520675>.
- Walch S., Tinzoh L., Zimmerman B., Stuhlinger W., Lachenmeier D.** (2011). Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. *Front Pharmacol*, 2: 29.
- Walker J.B., Sytsma K.J.** (2007). Staminal Evolution in the Genus *Salvia* (Lamiaceae): Molecular Phylogenetic Evidence for Multiple Origins of the Staminal Lever. *Ann Bot*, 100: 375–391.
- Wang P.C., Zhao S., Yang B.Y., Wang Q.H., Kuang H.X.** (2016). Anti-diabetic polysaccharides from natural source A review. *Carbohydrate Polymers*, 148: 86-97.
- Wangensteen H., Samuelsen A.B., Malterud K.E.** (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chem*, 88: 293- 297.
- Wanner C., Marx N.** (2018). SGLT2 inhibitors: the future for treatment of type 2 diabetes mellitus and other chronic diseases. *Diabetologia*, 61:2134–2139.
- Worthington C. C.** (1988). *Worthington enzyme manual: enzymes and related biochemicals*. Worthington Biochemical Corporation.
- Yap C.F., Ho C.W., Wan Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y., Leong Y. S.** (2009). Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malays*, 38: 511-520.
- Yaribeygi H., Lhaf F., Sathyapalan T., Sahebkar A.** (2020). Effects of novel antidiabetes agents on apoptotic processes in diabetes and malignancy: implications for lowering tissue damage. *Life Sciences*, 231: 116538.
- Yashaswini S., Fagan J., Schaefer J.** (2019). Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of Garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 8: 3139-3148.
- Yeh W.J., Hsia S.M., Lee W.H., Wu C.H.** (2017). Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: a review of recent findings. *J Food Drug Anal*, 25: 84–92.
- Zhang L., Hogan S., Li J., Sun S., Canning C., Zheng S. J., Zhou K.** (2011). *Food Chem*, 126: 466.
- Zhang X., Caner S., Kwan E., Li C., Brayer G.D., Withers S.G.** (2016). Evaluation of the Significance of Starch Surface Binding Sites on Human Pancreatic alpha-Amylase. *Biochem*, 55: 6000-6009.
- Zheng Q., Xiling S., Xubo, Meng S.** (2004). Protective effects of luteolin-7-glucoside against liver injury caused by carbon tetrachloride in rats. *Pharmazie*, 59: 286–289.
- Zheng W., Wang S.Y.** (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem*, 49: 5165 -5170.
- Zhi P. R., Liang L. Z., Yi M. L.** (2008) Evaluation of the Antioxidant Activity of *Syzygium cumini* Leaves. *Molecules*, 13: 2545-56.
- Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64: 555–559.

## Valorisation des travaux de recherche

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet d'une publication et des communications scientifiques.

### Publication Internationale

Souad Mahdi, Rachid Azzi , Boucif Farid Lahfa.

Evaluation of in vitro  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of *Salvia officinalis* L. **Journal of Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Review**. 2020 ; 14: 689-694.

<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.002>.

### Communications Nationales et Internationales

MAHDI Souad, AZZI Rachid, OUFFAI Khaoula, ABBOU Souad, AISSAOUI Mohammed.

Screening phytochimique et dosage des polyphénols totaux dans l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. 5th International Workshop MGIBR 27 et 28 Avril 2019, Tlemcen.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Screening phytochimique, dosage des flavonoïdes et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par infusion et décoction de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. Journées nationales sur les énergies renouvelables et le développement durable 14 et 15 Juin 2019, Ain-Témouchent.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Screening phytochimique, dosage des polyphénols, flavonoides totaux et capacité antioxydante totale de l'extrait n-butanol préparé par macération de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. 4<sup>ème</sup> Congrès international Francophone de Médecine de Laboratoire 11 et 12 Octobre 2019, Alger.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait n-butanolique préparé par décoction de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. 4<sup>ème</sup> journée nationale Médico-Chirurgicale-Formation médicale continue 18 et 19 Octobre 2019, Ain-Témouchent.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid, LAHFA Farid. Evaluation de l'effet inhibiteur de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction de la partie aérienne de *Salvia officinalis* sur l'alpha-amylase. 12<sup>ème</sup> congrès international en prévention médicale le 25 et 26 Octobre 2019, Oran.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Activité antidiabétique de *Salvia officinalis* testée *in vitro* par l'alpha amylase. 1<sup>er</sup> Séminaire du laboratoire de recherche sur le diabète. Les 7<sup>èmes</sup> journées AMIWIT sur le diabète et les maladies vasculaires du 29 et 30 novembre 2019.

MAHDI Souad, AZZI Rachid et LAHFA Farid. Evaluation de l'activité hémolytique de l'extrait hydrométhanolique préparé par infusion de la partie aérienne de *Salvia officinalis* vis-à-vis des globules rouges humaines. 26<sup>ème</sup> congrès national de néphrologie 1 Décembre 2019, Alger.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Evaluation of antioxidant activity by DPPH and FRAP of the crude hydromethanolic extract prepared by maceration of the aerial part of *Salvia officinalis*. The 3<sup>rd</sup> International Conference Bioscience- Biothechnology and Cancer December 7<sup>th</sup>-8<sup>th</sup>, 2019, Oran.

MAHDI Souad, AZZI Rachid, LAHFA Farid. Screening phytochimique, dosage des polyphénols, flavonoïdes totaux et capacité antioxydante totale de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération de la partie aérienne de *Salvia officinalis*. 1<sup>er</sup> Symposium Biomolécules & Biotechnologies 18 -19 Décembre 2019, Blida.

## Résumé

*Salvia officinalis* de la famille des *Lamiacées* présente, dans la médecine traditionnelle, un vaste potentiel à traiter diverses affections et une efficacité relative à contrôler le diabète en raison de sa richesse en composés bioactifs. Ce travail porte sur une recherche phytochimique qualitative et des dosages quantitatifs des composés phénoliques des extraits méthanol-eau (70/30) préparés par infusion, décoction ou macération et leurs fractions acétate éthyle et n-butanol. Le test hémolytique *in vitro* a été utilisé pour mesurer la toxicité des différents extraits et fractions sur les érythrocytes humains pendant 60 min. L'évaluation de leur activité antioxydante a été effectuée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical DPPH, le test de réduction du fer et le test de la capacité antioxydante totale. De plus, nous avons évalué leurs activités inhibitrices *in vitro* sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Le screening phytochimique a révélé la richesse des extraits et fractions en tanins, terpénoïdes, composés réducteurs, flavonoïdes, quinones, coumarines et saponines. La fraction acétate éthyle préparée par macération a démontré les taux les plus élevés en polyphénols totaux ( $399,39 \pm 0,45 \mu\text{g EAG/mg ES}$ ) et en flavonoïdes ( $345,84 \pm 0,06 \mu\text{g EC/mg ES}$ ). Les résultats de la toxicité ont montré que l'activité hémolytique de tous les extraits et fractions n'a pas dépassé les 20% et qu'elle a été dose-dépendante. Les fractions acétate éthyle préparées par infusion, décoction ou macération ont montré des taux d'hémolyse faibles ( $1,79\% \pm 0,03$ ,  $11,58\% \pm 0,1$ ,  $3,77\% \pm 0,02$ , respectivement pour la dose de 200 mg/ml). La fraction acétate éthyle préparée par macération a démontré l'activité du piégeage du radical DPPH la plus forte ( $IC_{50} = 208,51 \pm 15,77 \mu\text{g/ml}$ ), le pouvoir réducteur du fer le plus élevé ( $EC_{50} = 250 \pm 0,001 \mu\text{g/ml}$ ) et la capacité antioxydante totale la plus puissante ( $891,33 \pm 0,0008 \mu\text{g EAA/mg E}$ ). Ainsi, les extraits et les fractions ont montré un effet inhibiteur significatif sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. La fraction acétate éthyle préparée par macération a révélé le meilleur pouvoir inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 38,86 \pm 1,58 \mu\text{g/ml}$  et  $27,93 \pm 2,81 \mu\text{g/ml}$ , respectivement). Ces résultats suggèrent que les activités hémolytique, antioxydante et antidiabétique de *S. officinalis* pourraient contribuer à des effets thérapeutiques bénéfiques sur le diabète et le stress oxydatif. Les fractions acétate éthyle enrichies en polyphénols pourraient être considérées comme une source d'antioxydants naturels et davantage utilisées pour la prévention, le traitement du diabète et ses complications.

**Mots clés :** *S. officinalis*, composés phénoliques, stress oxydatif, diabète sucré, hémolyse

## Abstract

*Salvia officinalis* from the *Lamiaceae* family presents a vast potential to treat various ailments and its effectiveness in controlling diabetes in traditional medicine because of its richness in bioactive compounds. This work relates to qualitative phytochemical research and quantitative assays of phenolic compounds in methanol-water extracts (70/30) prepared by infusion, decoction or maceration and their ethyl acetate and n-butanol fractions. The *in vitro* hemolytic test was used to measure the toxicity of the different extracts and fractions on human erythrocytes for 60 min. The evaluation of their antioxidant activity was performed *in vitro* by DPPH radical scavenging method, iron reduction test and total antioxidant capacity test. In addition, we evaluated their inhibitory activities *in vitro* on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes. Phytochemical screening revealed the richness of extracts and fractions in tannins, terpenoids, reducing compounds, flavonoids, quinones, coumarins and saponins. Ethyl acetate fraction prepared by maceration demonstrated the highest levels of total phenolics ( $399.39 \pm 0.45 \mu\text{g EAG / mg ES}$ ) and flavonoids ( $345.84 \pm 0.06 \mu\text{g EC / mg ES}$ ). Toxicity results showed that hemolytic activity of all extracts and fractions did not exceed 20% and it was dose dependent. Ethyl acetate fractions prepared by infusion, decoction or maceration exhibited the lowest hemolysis rates ( $1.79\% \pm 0.03$ ,  $11.58\% \pm 0.1$ ,  $3.77\% \pm 0.02$ , respectively for the dose of 200 mg/ml). The fraction of ethyl acetate prepared by maceration demonstrated the strongest DPPH radical scavenging activity ( $IC_{50} = 208.51 \pm 15.77 \mu\text{g / ml}$ ), the highest reducing power of iron ( $EC_{50} = 250 \pm 0.001 \mu\text{g / ml}$ ) and the strongest total antioxidant capacity ( $891.33 \pm 0.0008 \mu\text{g EAA / mg E}$ ). Thus, extracts and fractions showed a significant inhibitory effect on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Ethyl acetate fraction prepared by maceration revealed the best inhibiting effect on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 38.86 \pm 1.58$  and  $27.93 \pm 2.81 \mu\text{g / ml}$ , respectively). These results suggest that the hemolytic, antioxidant and antidiabetic activities of *S. officinalis* may contribute to its traditionally claimed therapeutic benefits on diabetes and oxidative stress. Phenolic enriched ethyl acetate fractions could be considered as a source of natural antioxidants and further developed for the prevention and treatment of diabetes and its complications.

**Key words:** *S. officinalis*, phenolic compounds, oxidative stress, diabetes mellitus, hemolysis

## المخلص

تقدم الميرامية ، من عائلة Lamiaceae ، في الطب التقليدي إمكانات هائلة لعلاج الأمراض المختلفة وفعاليتها في السيطرة على داء السكري بسبب ثرائها بالمركبات النشطة بيولوجيا. يتعلق هذا العمل ببحوث كيميائية نباتية نوعية وفحوصات كمية لمحتويات المركبات الفينولية لمستخلصات الكحول المائي (70/30) المحضرة عن طريق التسريب، الغلي أو النقع ومشتقات أسيتات الإيثيل و n-بوتانول. تم استخدام اختبار انحلال الدم في المختبر لقياس سمية المستخلصات والمشتقات المختلفة على كريات الدم الحمراء البشرية لمدة 60 دقيقة عند 37 درجة مئوية. تم إجراء تقييم نشاطهم المضاد للاكسدة في المختبر عن طريق طريقة DPPH واختبار ارجاع الحديد واختبار القدرة الكلية لمضادات الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك ، قمنا بتقييم أنشطتها المثبطة مخبريا على إنزيمات ألفا أميلاز وألفا غلوكونيداز. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثراء المستخلصات والمشتقات بالتانينات ، التربينويدات ، المركبات المختزلة ، الفلافونويد ، الكينون ، الكومارين ، والصابونين. أظهر مشتق أسيتات الإيثيل المحضر بالنقع أعلى مستويات إجمالي البوليفينول ( $399.39 \pm 0.45 \mu\text{g EAG / mg ES}$ ) ومركبات الفلافونويد ( $345.84 \pm 0.06 \mu\text{g EC / mg ES}$ ). أظهرت نتائج السمية أن نشاطهم المضاد للاكسدة في المختبر لم يتجاوز 20% وأنها تعتمد على الجرعة. أظهرت مشتقات أسيتات الإيثيل المحضرة بالنقع أو الغليان أو النقع أدنى معدلات انحلال الدم ( $1.79\% \pm 0.03$  ،  $11.58\% \pm 0.1$  ،  $3.77\% \pm 0.02$  ، على التوالي بالنسبة للجرعة 200 مغ / مل). أظهر مشتق أسيتات الإيثيل المحضر بالنقع أقوى نشاط مضاد للجذور الحرة DPPH ( $IC_{50} = 208.51 \pm 15.77 \mu\text{g / ml}$ ) وأعلى قدرة إجمالية لمضادات الأكسدة ( $891.33 \pm 0.0008 \mu\text{g EAA / mg E}$ ). أظهرت النتائج أن نشاطهم المضاد للاكسدة والمشتقات تأثيرًا مثبطًا كبيرًا على ألفا أميلاز ( $IC_{50} = 38.86 \pm 1.58$  مغ / مل) وألفا غلوكونيداز ( $IC_{50} = 27.93 \pm 2.81$  مغ / مل). تشير النتائج المحصل عليها أن نتائج انحلال الدم، الأنشطة المضادة للاكسدة والمضادة لداء السكري للميرامية قد تساهم في فوائدها العلاجية المزعومة تقليديًا على مرض السكري والإجهاد التأكسدي. يمكن اعتبار مشتقات أسيتات الإيثيل الغني بالفينول مصدرًا لمضادات الأكسدة الطبيعية التي يمكن تطويرها أيضًا للوقاية من مرض السكري ومضاعفاته وعلاجه.

**الكلمات المفتاحية:** الميرامية ، مركبات الفينول ، الإجهاد التأكسدي ، داء السكري ، انحلال الدم