

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE  
LA NATURE ET DE LA VIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA  
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

N° : .....

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention  
du diplôme de Master Académique

Par :  
ABDALLAOUI Safa  
SAOULI Yasmine

Intitulé

**Étude phytochimique et l'activité biologique de  
la plante médicinale *Ruta montana* (Clus.) L.**

Soutenu devant le jury composé de:

Dr. GUETTOUCHI Ahlem	MCA	Université de M'Sila	Président
Dr. BELKASSAM Abdelouahab	MCA	Université de M'Sila	Rapporteur
Dr. HADJI Abasse	MAA	Université de M'Sila	Examineur

**Année universitaire : 2023 /2024**

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux pour son guide qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement notre directeur de mémoire « **Dr. BELKASSAM Abdelouahab** » pour son encadrement son assistance et à l'intérêt qu'il nous apporté quant à la réalisation de ce travail qui ne serait pas réalisé sans aide.*

*Nous remercions tous les membres de jury qui ont accepté de juger ce travail.*

*Nous tenons à remercier « **Dr. GUETTOUCHI Ahlem** » nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à « **Dr. HADJI Abasse** » d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Un merci spécial à notre chef de département **Bounar rabah** et nos enseignants **Dr Benderradji Laid, Dr Hamdi bendif, Mme Khalfa hanane, Dr Ghadbane mouloud, Dr Benmhaia redhouane.***

*Nous remercions également les techniciens de laboratoire de Département de Science de la nature et de la vie*

***Halima et Samiha***

*Un remerciement particulier à tous ceux qui ont contribué à ce travail d'une manière ou d'une autre et à tous ceux qui ont participé à ses détails et à ses faux pas afin que la lumière montre merci beaucoup.*

*Merci à tous ceux qui nous ont donné de l'espoir et qui nous ont souri et à tous ceux qui sont en sécurité que nous arriverons.*

*Merci beaucoup.*

***Safa et Yasmine***

# Dédicace



*Je dédie ce modeste travail accompagnée d'un profond amour,*

*Quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer  
mon amour sincère.*

*A la femme qui m'arrosée de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour incessible,  
à la mère des sentiments fragiles qui m'a bénie par ces prières...*

***Mon adorable mère Abdallaoui Nouara***

*A l'homme de ma vie, mon support qui m'a appris, m'a supporté et m'a dirigé vers  
la gloire...*

***Mon cher père Abdallaoui Mostefa***

*A mes sœurs, qui sont toujours à mes cotés, je leur souhaite de réussir leur vies*

***Nono, Kristina, Sabrina et Naziha***

*Un merci spécial à mon marie **Dr. Athmane Abdallaoui** et ma famille pour leur  
encouragements et leur soutiens*

*Sans oublier mon directeur **monsieur A. Belkassam** qui m'a donné la force et le  
courage pour compléter ce travail*

*A mes meilleurs copines du cœurs: **Habiba, Yasmine, Khadidja et Zobida***

*A toute les membres de la famille merci pour leur amour et leur encouragements*

*Je tiens avec un grand respect et grand plaisir de remercier et à témoigner toute  
ma reconnaissance à mes enseignants pour leur encouragements et leur soutiens  
durant ces deux ans...*

***Chef Département Dr Bounar rabah , Dr Belkassam Abdelouahab, Dr  
bendarradji laid.***

***Safa Abdallaoui***

# Dédicace



*Je dédie cette mémoire à mon père et à ma mère.*

***À mon cher père:***

*merci pour ton soutien constant et continu dans mon parcours scolaire et dans ma vie entière. Je te suis reconnaissant et je ne peux pas estimer à quel point tu m'as encouragé et guidé. Tu es le soutien que je n'ai jamais trouvé égalé.*

***À ma chère mère:***

*merci pour ton soutien et ta présence constante dans toutes les situations. Tu es le symbole de la tendresse et de la force dans ma vie, et je ne peux pas exprimer à quel point je te suis reconnaissant.*

***À mon fiancé:***

*je te remercie du fond du cœur pour ton soutien constant et ton encouragement à chaque étape. Ton soutien pendant cette période a eu un impact majeur sur la réalisation de mes objectifs.*

***À mes chers frères et sœurs, ainsi qu'à tous mes amis et à tous ceux qui ont été à mes côtés:***

*pendant cette période, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude. Votre soutien et votre présence ont été la raison de ma force et de ma confiance en moi-même. Je vous souhaite à tous bonheur e*

***Yasmine Saouli***

## TABLE DES MATIERES

Remercîments	
Dédicace	
Tableau des matières	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01
<b>Première Partie : Étude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Présentation de la plante étudiée</b>	
I. 1. La famille Rutaceae.....	05
I.1.1. Généralités .....	05
I.1.2. Description botanique de la famille des Rutaceae .....	05
I.1.3. Habitat et Distribution de la famille Rutaceae.....	05
I.1.4. Phytothérapie de Rutaceae.....	06
I.1.5. Le genre <i>Ruta</i> .....	06
I.2. L'espèce <i>Ruta montana</i> (Clus.) L.....	06
I.2.1 Nomenclature de la plante.....	06
I.2.2 Position systématique de L'espèce <i>Ruta montana</i> (Clus.) L.....	07
I.2.3 Utilisations principale de la plante .....	07
I.2.4 Description botanique de la plante <i>Ruta montana</i> (Clus.) L.....	08
I.2.5 Etude phytochimique du genre <i>Ruta</i> .....	08
<b>Chapitre II : Métabolisme secondaire</b>	
II.1. Composition chimique de la plante .....	10

II.2 Métabolisme .....	10
II.2.1. Métabolisme primaire.....	10
II.2.2. Métabolisme secondaires.....	10
II.2.2.1. Classification des métabolites secondaires.....	10
a. Polyphenols .....	11
b. Les alcaloïdes .....	14
c. Terpenoïdes .....	15
II.3. Composition chimique des huiles essentielles.....	16

### **Chapitre III : Activité biologique**

III.1. Activité biologique .....	18
III.1.1. Activité antioxydant.....	18
III.1.1.1. Les antioxydants.....	18
III.1.1.2. Stress oxydant .....	19
III.1.1.3. Les radicaux libres .....	19
III.1.1.4. Mécanisme d'action les antioxydants.....	19
III.2. Activité antibactérienne.....	19
III.2.1. Les bactéries .....	19
III.2.2. Les antibiotiques .....	20
III.2.3. Description des souches bactériennes étudiées .....	20

### **Deuxième Partie: Partie expérimental**

#### **Chapitre I : Matériels et Méthodes**

I.1. Matériel végétal.....	27
I.2. Caractérisation quantitatives des extraits.....	28

I.2.1. Principe de macération.....	28
I.2.2. Extraction type solide/liquide.....	28
I.3. Extraction de l'huile essentielle de <i>Ruta montana</i> (Clus.) L.....	30
I.3.1. Procédé d'extraction.....	30
I.3.2. Conservation de l'huile essentielle de la plante <i>Ruta montana</i> .....	32
I.3.3. Calcul du rendement de l'huile essentielle de la plante <i>Ruta mantana</i> .....	32
I.4. Caractérisation qualitatives de <i>Ruta montana</i> .....	32
I.5. Activité antioxydants .....	34
I.6. Évaluation de l'activité antibactérienne de <i>Ruta montana</i> .....	36
 <b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b>	
II.1. Évaluation des techniques d'extraction .....	39
II.1.1. Rendements d'extraits de la plante <i>Ruta montana</i> .....	39
II.2. Analyse qualitatives des extraits de la plante <i>Ruta montana</i> .....	40
II.2.1. Chromatographie sur CCM.....	40
II.3. Résultats d'activité biologiques de la plante <i>Ruta montana</i> .....	43
II.3.1. Activité antioxydant .....	43
II.3.2. Activité antibactérienne.....	44
Conclusion.....	47
Références bibliographiques .....	49
 Annexe	
Résumé	

## *Liste des abréviations*

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CHCl<sub>3</sub>**: chloroforme.

**Cm**: centimètre.

**DMSO**: Diméthyle sulfoxyde.

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

**Ebrt**: L'extrait brut (hydro-méthanolique)

**g**: gramme.

**HE**: Huile essentielle

**H<sub>2</sub>O**: L'eau distillée.

**I (%)** : Pourcentage d'inhibition.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 %.

**MH**: Müller-Hinton.

**MeOH**: Methanol.

**mg/ml** : Milligramme par millilitre.

**mg**: Milligramme

**ml**: millilitre

**mm** : Millimètre

**MS** : Matière sèche.

**nm**: nanomètre.

**P** : Poids.

**p/p** : Poids sur poids.

**R (%)** : Le rendement en %.

**R<sub>f</sub>** : Rapport frontal.

**UV**: Ultraviolet

**µl** : Microlitre.

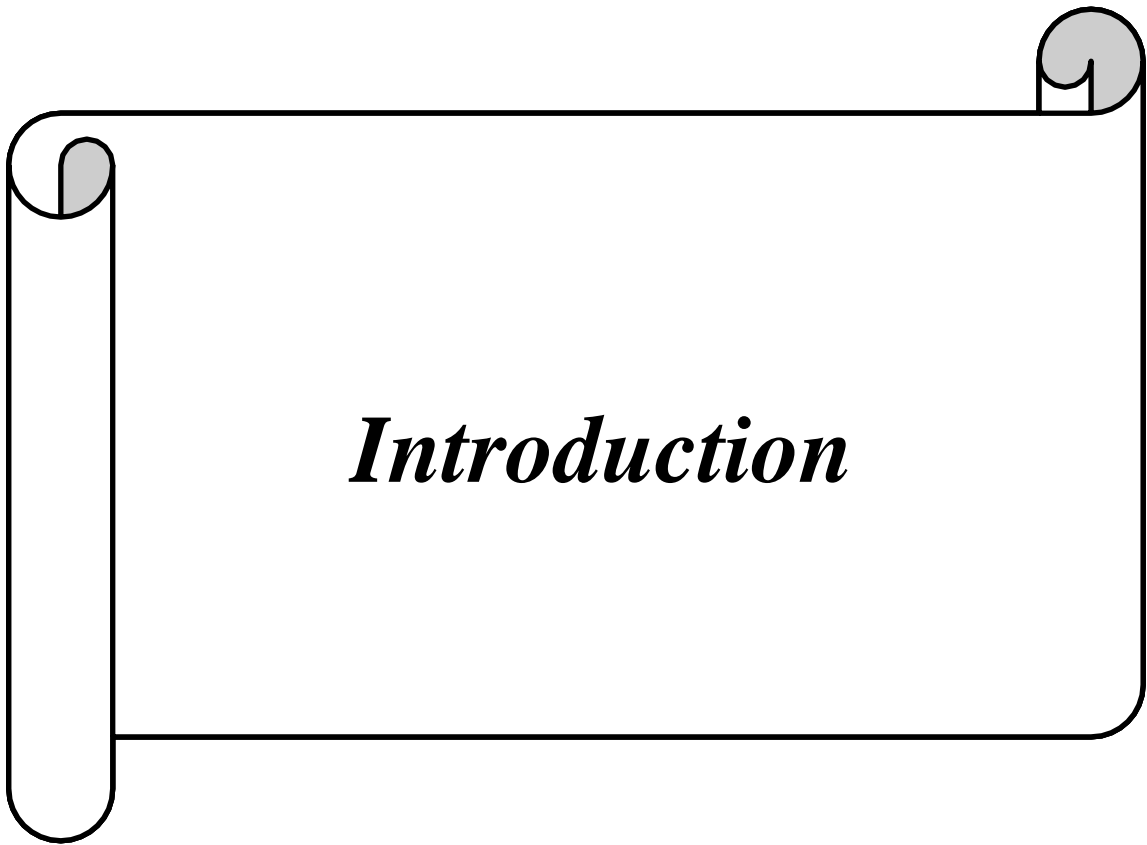
**µg/ml** : microgrammes par millilitre.

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01:</b> Les différents Systèmes utilisés pour la CCM de gel desilice.....	32
<b>Tableau 02:</b> Les souches bactériennes utilisées.....	36
<b>Tableau 03:</b> Les rapports frontaux (Rf) et les couleurs des spots obtenus dans 5 systèmes par CCM dans l'extrait brut de la plante <i>Ruta montana</i> .....	41
<b>Tableau 04:</b> Diamètre de zone d'inhibition de différente concentration de l'extrait brut et extrait de huile essentiel de la plante <i>Ruta montana</i> sur la croissance de 6 Souche bactériennes .....	44

## *Liste des figures*

<b>Figure 01:</b> Propriétés des polyphénols.....	11
<b>Figure 02:</b> Squelette de base commun aux flavonoïdes.....	12
<b>Figure 03:</b> structure des coumarines.....	14
<b>Figure 04:</b> L'espèce bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	21
<b>Figure 05:</b> L'espèce bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
<b>Figure 06:</b> L'espèce <i>Escherichia coli</i> .....	22
<b>Figure 07:</b> L'espèce <i>Bacillus cereus</i> .....	23
<b>Figure 08:</b> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	24
<b>Figure 09:</b> Structure peptidoglycan et composition chimique.....	24
<b>Figure 10:</b> Photo originale de la plante <i>Ruta montana</i> .....	27
<b>Figure 11:</b> Carte géographique de la Wilaya de M'Sila.....	27
<b>Figure 12:</b> Etapes d'extraction par macération.....	29
<b>Figure 13:</b> Protocole de préparation des extraits.....	30
<b>Figure 14:</b> 100g de matière végétale.....	31
<b>Figure 15:</b> Appareil de clevenger .....	31
<b>Figure 16:</b> D'huile essentielle de <i>Ruta montana</i> .....	31
<b>Figure 17:</b> Appareil de l'Ultra-violet pour l'observation des couleurs de la séparation.....	33
<b>Figure 18:</b> Les plaques dans le système de solvant.....	33
<b>Figure 19:</b> Réaction du test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	35
<b>Figure 20:</b> Photo originale de l'appareil Spectrophotométrie.....	35
<b>Figure 21:</b> Rendement des différents extraits de l'espèce <i>Ruta montana</i> .....	39
<b>Figure 22:</b> Révélation de plaque CCM de gel de silice de l'Extrait brut de la plante <i>Ruta montana</i> de feuille, sous lampe UV365 nm de S1,S2,S3,S4,S.....	41



***Introduction***

## Introduction

---

Les plantes ont été utilisées comme médicaments à travers l'histoire dans le monde entier, car elles sont considérées comme moins toxiques et plus douces que les médicaments pharmaceutiques traditionnels. Les industries pharmaceutiques montrent un intérêt croissant pour l'étude de l'ethnobotanique. **(Didier et al., 2011)**.

Dans les pays en développement, la médecine traditionnelle est essentielle pour fournir des soins de santé aux communautés rurales qui manquent d'un système de santé primaire efficace **(Tabuti et al., 2003)**.

Les plantes médicinales sont une ressource vitale pour la majorité des communautés rurales en Afrique, où plus de 80% de la population dépend de ces plantes pour les soins de santé **(Jiofack et al., 2009)** Malgré les avancées récentes, les pays continuent d'utiliser les plantes médicinales dans les soins de santé, les considérées comme une source importante de traitements naturels.

À la fin des années 1970, l'Organisation mondiale de la santé a estimé qu'il y avait environ 21 000 espèces végétales dans le monde possédant des propriétés médicinales **(Penso, 1980)**.

Environ 65 à 80% de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins en soins de santé primaires, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne. **(Ang-Lee et al., 2006)**.

L'Algérie, le plus grand pays bordant la Méditerranée avec une superficie de 2 381 741 km<sup>2</sup>, est renommée pour la diversité de ses plantes médicinales et aromatiques. Ces connaissances traditionnelles, transmises de génération en génération de manière orale, sont particulièrement préservées dans les communautés rurales, notamment par les femmes **(Ilbert et al., 2016)**.

La région de Msila en Algérie est réputée pour sa riche biodiversité en plantes médicinales, utilisées depuis des siècles par les habitants pour leurs propriétés curatives et thérapeutiques dans la médecine traditionnelle **(Benlachhab et al., 2022)**. Les habitants de M'sila ont conservé des connaissances ancestrales sur les plantes médicinales, transmises de génération en génération. Un intérêt croissant pour ces remèdes naturels mène à des études scientifiques et à leur intégration dans la médecine moderne. Utilisées en infusion, décoction, cataplasme ou huiles essentielles, ces plantes apportent des bienfaits pour la santé et le bien-être des habitants **(Ouadeh et al., 2021)**.

*Ruta montana* une plante aromatique, membre de la famille des Rutaceae, est couramment appelée localement 'Fidjel' par la population. **(Merghache, S et al., 2009)**.

Dans ce projet, nous cherchons à extraire les huiles essentielles de la plante médicinale *Ruta montana* et à évaluer leur activité antioxydante et antibactérienne.

## Introduction

---

Notre manuscrit est divisé en deux parties :

❖ **La partie bibliographique comporte trois chapitres :**

- Le premier chapitre : une présentation de la plante étudiée « *Ruta montana* ».
- Le deuxième chapitre: le métabolisme secondaire.
- Le troisième chapitre : les activités biologiques (antioxydant et antibactérienne).

❖ **La partie expérimentale est divisée en deux chapitres:**

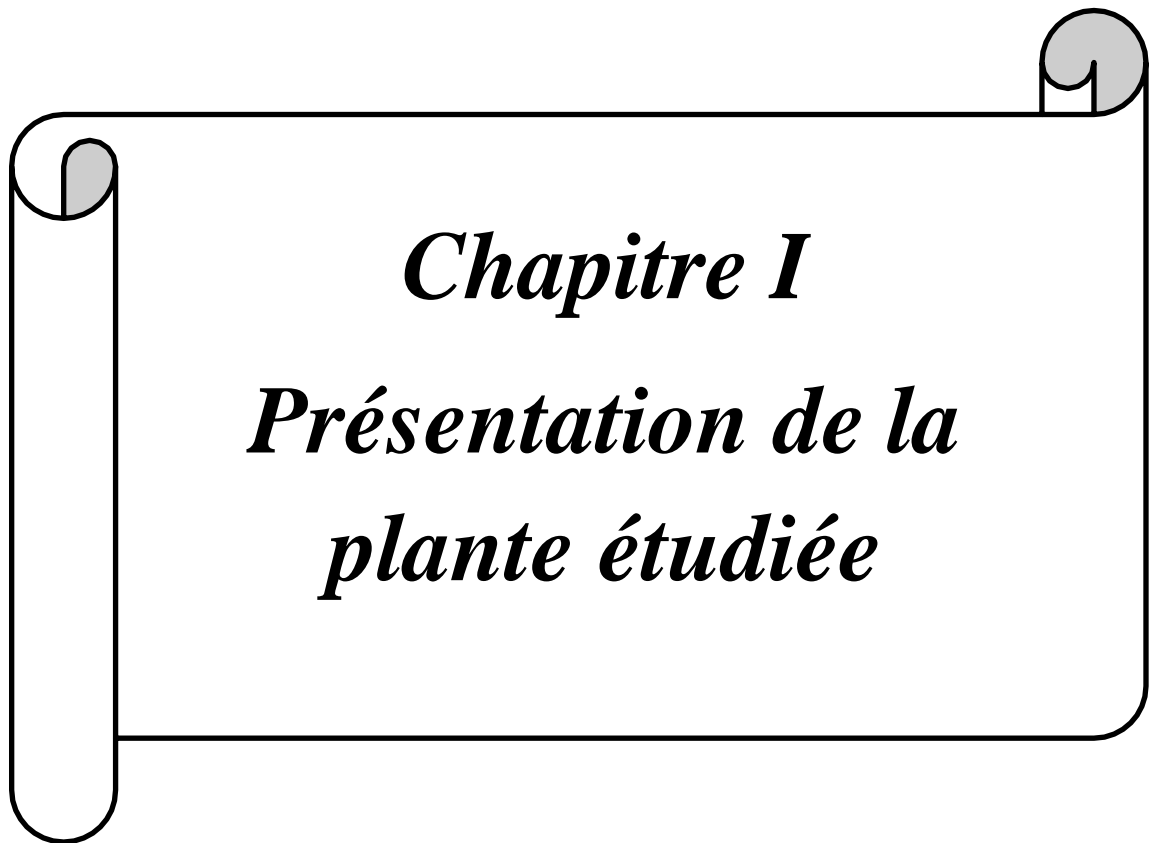
Dans le premier chapitre les matériaux et méthodes utilisés sont présentés, tandis que dans le deuxième chapitre, les résultats et la discussion sont exposés.

Enfin, la conclusion générale comprend un résumé des principales découvertes.



*Première Partie*

*Étude bibliographique*



*Chapitre I*  
*Présentation de la*  
*plante étudiée*

## I.1. La famille Rutaceae

### I.1.1. Généralités

Les Rutaceae sont en effet une famille de plantes angiospermes dicotylédones qui regroupe environ 150 genres et plus de 1500 espèces. Elles sont réparties dans le monde entier, mais sont plus abondantes dans les régions tropicales et subtropicales. Cette famille comprend un large éventail de plantes, allant des arbres et arbustes aux herbes et lianes. Les Rutaceae sont souvent caractérisées par des feuilles composées, des fleurs à pétales souvent imbriqués, et des fruits divers, parmi lesquels les agrumes sont les plus célèbres (**Bottineau, 2010**).

Certains genres de Rutaceae ont une importance économique considérable. Par exemple, le genre *Citrus* comprend des agrumes tels que les oranges, les citrons et les pamplemousses, qui sont cultivés dans le monde entier pour leurs fruits juteux et riches en vitamines. D'autres genres, comme *Ruta*, sont utilisés en phytothérapie pour leurs propriétés médicinales (**Spichiger, 1987**).

La famille des Rutaceae, qui englobe les agrumes, compte près de 850 genres, regroupant environ 1600 espèces réparties dans les régions tropicales, subtropicales, et plus particulièrement en Afrique du Sud et en Australie (**Nicolini, 1991**).

### I.1.2. Description botanique de la famille des Rutaceae

Cet arbre, de petite taille ou mesurant entre 3,50 et 15 mètres, présente un port dressé ou étalé, avec un tronc court et épais souvent orné d'excroissances verruqueuses à la base. Ses feuilles, alternes et composées-digitées, sont portées par un pétiole mince de 10 à 15 cm de long. Elles se composent généralement de (-3) 5 folioles pétiolulées, de formes elliptiques, lancéolées ou ovales, de tailles variées. Les inflorescences axillaires forment des panicules courtes, avec des fleurs dioïques-polygames de petite taille, d'environ 1 cm de diamètre, de couleur jaune-verdâtre. Les fruits sont des drupes rondes ou ovoïdes, mesurant de 6 à 12 cm de diamètre, avec une peau très fine de couleur jaune-verdâtre à maturité. Ils contiennent généralement de 1 à 5 graines ovoïdes ou elliptiques, enveloppées dans une pulpe fondante et juteuse de couleur crème ou jaunâtre (**Fouqué, 1974**).

### I.1.3. Habitat et Distribution de la famille Rutaceae

L'habitat et la distribution de la famille des Rutaceae en Algérie varient en fonction des espèces spécifiques. Cette famille de plantes peut être trouvée dans une variété d'écosystèmes à travers le pays, y compris les régions montagneuses, les forêts, les zones côtières et les plaines .

Certaines espèces de Rutaceae, telles que les agrumes du genre *Citrus*, sont cultivées dans les régions côtières et les vallées fertiles pour leurs fruits. D'autres membres de la famille, comme

*Ruta montana*(Clus.)L. peuvent être trouvés dans les montagnes et les zones rocheuses.

Cependant, une étude détaillée de l'habitat et de la distribution spécifiques des Rutaceae en Algérie nécessiterait une recherche botanique approfondie et des enquêtes sur le terrain pour identifier les espèces présentes dans différentes régions du pays.(Guy,1979)

### I.1.4. Phytothérapie de Rutaceae

Les plantes de la famille des Rutaceae sont utilisées dans diverses applications médicinales et cosmétiques. Elles sont traditionnellement employées pour stimuler la menstruation, comme contraceptif, pour traiter l'hypertension, soulager l'hystérie, atténuer les symptômes de gueule de bois, soulager les maux d'oreille et les maux de tête, ainsi que comme antiseptique cutané et dans la fabrication de produits anti-moustiques. De plus, elles sont appliquées en cataplasme externe pour soulager les douleurs rhumatismales.

Un composé important isolé de certaines plantes de cette famille, la rutine, est un flavonoïde qui a été suggéré pour ses propriétés antioxydantes et son potentiel à réduire les niveaux de triacylglycérols. En outre, les plantes de ce genre présentent des propriétés antifongiques et insecticides, et contiennent des flavonoïdes qui démontrent une activité antibactérienne et des effets cytotoxiques (Armando, 2005).

### I.1.5. Le genre *Ruta*

Le genre *Ruta* Il s'agit d'une plante vivace, herbacée, faisant partie de la famille des Rutaceae et pouvant atteindre environ 1 mètre de hauteur. Ses feuilles sont glauques et finement découpées en segments linéaires. Les capsules sont globuleuses. mesurant environ 3,5 x 4 mm, avec 4 loges obtuses et de très courtes tiges. Les fleurs sont petites, mesurant 5 à 6 mm, avec des pétales dentelés sur les bords (Quezel et Santa, 1963).

## I.2. L'espèce *Ruta montana* (Clus.)L.

Dans les montagnes de Tessala, dans le nord-ouest de l'Algérie, on trouve deux espèces du genre *Ruta*: *Ruta chalepensis*(Clus.)L. et *Ruta montana* (Clus.) L. connues localement sous le nom de Fidjel. (Bouzidi et al., 2012). La *Ruta montana* (Clus.) L. pousse sur des sols limoneux riches en calcaire total. D'après l'étude des formations végétales abritant des espèces du genre *Ruta*, il apparaît qu'elles se développent dans les garrigues associées à *Chaemerops humilis*(Clus.) L. situées entre 700 et 1000 mètres d'altitude, où elles cohabitent avec des espèces de l'ordre des Stellarietea mediae

### I.2.1. Nomenclature de la plante

En arabe : فيجلة أو فيجلة الجبل (Baba aissa, 1999), en français: *Rue*, en anglais: *Rue*, en allemand : Raute, en italien: *Ruta* (Bonnier, 1999). En espagnol: *Ruda* (Duke et al., 2008).

### I.2.2. Position systématique de l'espèce *Ruta montana*(Clus.)L

*Ruta montana*(Clus.)L. est une espèce typiquement méditerranéenne. La taxonomie retenue pour la *Ruta montana* est le suivant (Guignard, 2001).

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Dialypetales

**Ordre :** Spindales ( Rutales )

**Famille :** Rutaceae

**Sous famille :** Rutiodées

**Genre :** *Ruta*

**Espèce :** *Ruta montana* (Clus.) L

### I.2.3. Utilisation principale de la plante *Ruta montana* (Clus.) L.

Les usages de l'espèce *Ruta montana*(Clus.) L. dans l'ensemble des pays du Maghreb sont innombrables et fréquent

#### ➤ **En médecine traditionnelle**

En Afrique ainsi que sur d'autres continents, cette plante est incluse dans la composition de plusieurs préparations médicamenteuses utilisées en médecine traditionnelle. Les différentes parties de la plante sont couramment utilisées en raison de leurs propriétés emménagogues, abortives, antispasmodiques, analgésiques et antiparasitaires (Ait Youssef, 2006).

#### ➤ **Vétérinaire**

Certains éleveurs et praticiens vétérinaires ont utilisé *Ruta montana*(Clus.)L. comme anthelminthique pour traiter les parasites internes chez les animaux. Des études plus approfondies sont nécessaires pour évaluer son efficacité et sa sécurité dans ce contexte

Les propriétés antiseptiques de *Ruta montana*(Clus.)L peuvent être utiles dans le traitement des infections cutanées chez les animaux. Des applications topiques sous forme de pommades ou de compresses peuvent être utilisées pour traiter les plaies infectées ou les dermatites (Ameri , 2017).

#### ➤ **Cosmétique**

Les composés phytochimiques présents dans *Ruta montana*, tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques, ont des propriétés antioxydantes qui peuvent aider à protéger la peau contre les dommages causés par les radicaux libres et à réduire les signes du vieillissement cutané

(Benedec et al., 2018).

Utilisées comme fondements de parfums ou comme additifs alimentaires (Merghache et al., 2009).

### I.2.4. Description botanique de la plante *Ruta montana* (Clus.) L

Un axe feuillé est composé d'une tige portant des feuilles. Cette tige, souvent cylindrique ou conique, est munie d'un méristème apical à son extrémité. Les feuilles poussent à partir des nœuds le long de la tige, avec chaque portion de tige entre deux feuilles consécutives appelée entrenœud. La croissance en longueur de l'axe feuillé est dirigée par l'activité du méristème apical. Deux processus sont impliqués: la division cellulaire pour former les tissus des futurs organes (tiges et feuilles), et l'élongation des cellules nouvellement formées, ce qui allonge les entrenœuds. Cette croissance peut être continue lorsque le méristème terminal est actif en permanence, permettant l'allongement simultané des cellules et des entrenœuds. Ou elle peut être rythmique, avec des phases alternées d'activité et de repos du méristème, conduisant à une succession de périodes d'élongation et de pause dans l'allongement de la tige.

L'unité de croissance désigne la portion de tige formée pendant une période d'élongation (Halle et Martin, 1968).

### I.2.5. Etude phytochimique du genre « *Ruta* »

L'intérêt suscité de l'étude phytochimique du genre « *Ruta* » revêt plusieurs aspects:

- Un aspect pharmacologique: à cause de la présence d'une substance « rutine »: rutoside ou quercétine 3-rhammoglucoside. Selon Weiss, ce principe (1%) peut être utilisé en même titre que le marron d'Inde dans l'insuffisance veineuse (Guy, 1967).
- Un aspect thérapeutique: en raison de l'utilisation de différentes espèces en médecine traditionnelle.
- Un aspect chimique: en raison de la présence de nombreux alcaloïdes, flavonoïdes, les coumarines, les saponines, les lignines et les tritèrènes (Belkassem et al., 2011).
- Aspect aromatisant: en raison de la présence d'une huile essentielle



*Chapitre II*  
*Métabolisme*  
*secondaire*

### II.1. Composition chimique de la plante

Cette étude vise à explorer les propriétés phytochimiques et biologiques des huiles essentielles et des extraits de parties aériennes de *Ruta montana*(Clus.) L . récoltées dans la région de Boulemane, au Moyen Atlas, au Maroc. Les huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation, se sont avérées riches en composés tels que la 2-undécanone, le 2-undécanol et l'acétate de 2-undécanol. Les analyses ont également révélé la présence d'alcaloïdes, de mucilages, de triterpènes, de stérols, de flavonoïdes, de tannins galliques et catéchiques, ainsi que de dérivés d'anthracène combinés dans les parties aériennes de la plante. Les extraits phénoliques ont montré des niveaux significatifs de composés actifs, avec une forte activité antioxydante et des effets antimicrobiens marqués contre diverses souches bactériennes et fongiques. Ces résultats suggèrent le potentiel économique de cette espèce en tant que produit biologique valorisé, pouvant trouver des applications dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Drioiche et al., 2020).

### II.2. Métabolisme

Le métabolisme englobe toutes les réactions chimiques dans le corps, y compris le métabolisme énergétique qui génère l'énergie pour les cellules. Cela comprend diverses voies métaboliques et réactions nécessaires au fonctionnement cellulaire (Ferré, 2022).

#### II.2.1. Métabolisme primaire

Le métabolite primaire joue un rôle essentiel dans le maintien des processus physiologiques normaux et est souvent désigné sous le nom de métabolite central (Sanchez, 2008).

#### II.2.2. Métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire comprend les processus cellulaires impliqués dans la création de petites molécules qui, bien qu'elles ne soient pas essentielles à la survie immédiate de la cellule, peuvent offrir un avantage sélectif dans des circonstances particulières (Haas,2015).

##### II.2.2.1. Classifications des métabolismes secondaires

Elle montre une grande variété en termes de voies métaboliques impliquées , comprenant (Génard , 2010)

- a. polyphénols
- b. Alcaloïdes
- c. Terpenoïdes

### a. polyphénols

#### a.1. Généralités

Les polyphénols constituent une gamme complexe de composés dérivés du métabolisme secondaire des plantes, agissant en réponse à leur environnement. Autrefois appelés "tanins végétaux" jusqu'en 1980, ils se subdivisent en quatre principales familles: les acides phénoliques, les flavones, les acides chlorogéniques et les quinones. Chacune de ces familles englobe une diversité de sous-catégories telles que les phénols simples, les coumarines, les stilbénoides, les flavonoïdes, les anthocyanes et les lignanes (**Pachtere, 2020**).

#### a. 2. Propriétés bénéfiques des polyphénols

Les polyphénols offrent une activité antioxydante qui protège les cellules contre divers stress, notamment le vieillissement et l'exposition à des éléments comme les infections, les rayons UV et la pollution. De plus, des recherches récentes suggèrent leur implication potentielle dans la prévention de maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, du diabète, de l'ostéoporose et des cancers. Leur importance suscite un intérêt croissant chez les experts en nutrition, les épidémiologistes, l'industrie agroalimentaire, ainsi que les secteurs pharmaceutique et cosmétique (**Uthurry et al., 2011**).

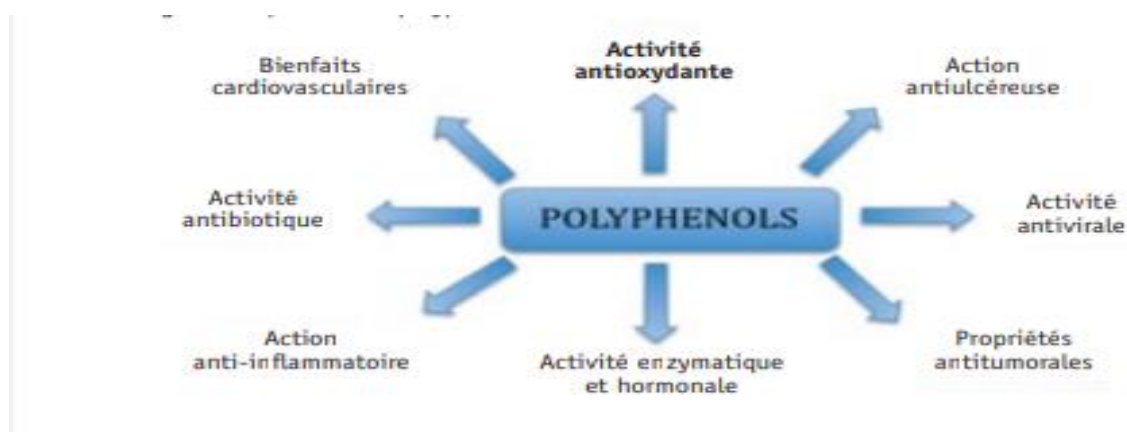


Figure 01 : Propriétés des polyphénols (**Uthurry et al., 2011**).

#### a.3. Principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques, avec environ 8000 molécules répertoriées, représentent une des catégories principales de métabolites secondaires présents chez les plantes (**Mehinagic et al., 2011**).

##### a.3.1. Les acides phénoliques

###### ❖ Définition

Le terme "acide-phénol" est utilisé pour décrire les composés organiques qui comportent au moins une fonction carboxylique et une fonction hydroxyle phénolique (**Bruneton, 2009**).

❖ **Propriétés physico-chimiques**

Les composés phénoliques sont solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques se dissolvent dans le bicarbonate, tandis que leurs glycosides sont solubles dans l'eau. Les dérivés d'acides cinnamiques ont tendance à former des isomères dans les solutions aqueuses. Tous ces composés sont instables et peuvent être oxydés, surtout dans des conditions alcalines (**Bruneton, 2005**).

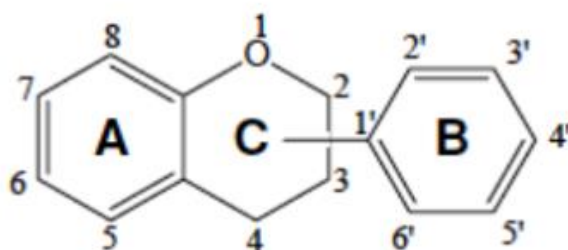
**a.3.2. Les flavonoïdes**

❖ **Définition**

Les flavonoïdes, une famille composée de plus de 4 000 éléments, représentent la plus vaste catégorie de polyphénols, reconnue pour leurs puissantes propriétés antioxydantes. Leur découverte initiale remonte à 1936, lorsque Albert Szent-Györgyi isola ces composés dans le zeste de citron, une avancée qui lui valut le prix Nobel de Médecine en 1937 pour sa contribution à l'isolement de la vitamine C (**Pachtere, 2020**).

❖ **Structure des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure de base composée de deux cycles benzéniques ( cycles A et B ) reliés par une chaîne linéaire à trois carbones, formant ainsi un hétérocycle oxygéné ( cycle C ) ( **Figure 02** )



**Figure 02** : Squelette de base commun aux flavonoïdes (**Anthoni , 2007**).

❖ **Propriétés Physico-chimiques des flavonoïdes**

➤ **Solubilité des flavonoïdes**

L'impact des propriétés chimiques et physiques des flavonoïdes limite leur utilisation dans le domaine pharmaceutique, en raison de leur faible solubilité dans l'eau, attribuée en partie aux substituants liés à leur structure de base. Des études ont montré que la solubilité dépend du nombre de groupes hydroxyle et de fragments de sucre, avec une diminution causée par la

méthylation de ces groupes (**Halbwirth, 2010**). De plus, la composition du solvant et la température influent sur la

Solubilité, laquelle augmente avec la température et la fraction de DMSO dans les mélanges (**Jabbari et al., 2017**). Quant au pH, il joue également un rôle, certaines flavonoïdes montrant une plus grande solubilité en milieu basique (**Tommasini et al., 2004**).

### ➤ Stabilité des flavonoïdes

La stabilité des flavonoïdes est affectée par divers facteurs, notamment la lumière (**Smith, 2000 ; Ishihara, 2003**), le pH (**Mochizuki, 2002**), la température (**Ungar, 2003**) ainsi que la présence d'enzymes (**Makris, 2002**). Ces paramètres peuvent influencer significativement la durabilité et l'intégrité des flavonoïdes, soulignant ainsi l'importance de prendre en compte ces éléments lors de leur manipulation et de leur utilisation dans divers contextes .

### ➤ Inhibition d'enzymes

Les flavonoïdes inhibent diverses enzymes (**Ursini F, 1994**), comme la xanthine oxydase et la protéine kinase, responsables de la production de l'anion superoxyde O<sub>2</sub>. Ils sont également efficaces contre des composés générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que la cyclo-oxygénase, la lipoxygénase, la monooxygénase microsomale, la glutathion S-transférase, la succinoydase mitochondriale et la NADH oxydase (**Brown, 1998**). Ainsi, les flavonoïdes régulent la production d'ERO dans l'organisme.

### a.3.3. Les tanins

#### ❖ Définition

Depuis l'Antiquité, les tanins sont largement utilisés dans divers domaines, allant du tannage des peaux à leur utilisation dans l'industrie alimentaire. Dans la médecine traditionnelle asiatique, les extraits de plantes riches en tanins sont employés pour traiter plusieurs affections, telles que la diarrhée (**Yoshida, 1991**) et les problèmes gastro-intestinaux (**Saijo, 1989**), tout en agissant comme anti-inflammatoires et antiseptiques (**Haslam, 1989**). Leur capacité à précipiter certains composés toxiques en fait des agents précieux dans le traitement des empoisonnements, à l'exception de la morphine. Souvent, les tanins sont identifiés comme les principes actifs des médicaments à base de plantes (**Haslam, 1996**).

### ➤ Classification des tanins

Il existe deux groupes de tanins différents (**Würdig, 1989**).

- ✓ Les Tanins hydrolysables: qui peuvent être fractionnés en leurs composants,
- ✓ Les Tanins condensés: constitués de tanins oligomériques et polymériques.

### a.3.4. Les coumarines

#### ❖ Définition

Les coumarines sont des composés chimiques présents naturellement en tant que métabolites secondaires dans les plantes supérieures et les micro-organismes (Curir *et al.*, 2007 ; Lee, 2004 ). Elles servent de base à la création d'agents chimiques et biologiques diversifiés, et leurs dérivés ont montré une activité biologique contre diverses cibles, telles que les enzymes et les voies de signalisation. Les coumarines ont été largement étudiées pour leur potentiel thérapeutique en raison de leur activité pharmacologique variée (Xu *et al.*, 2009).

#### ❖ Structure des coumarines

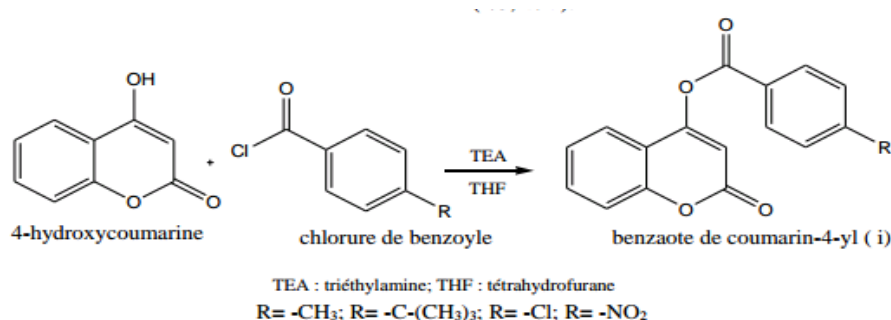


Figure 03 : Structure des coumarines

### b . Alcaloïdes

#### ❖ Définition

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés d'origine végétale qui agissent souvent comme des alcalis, formant avec les acides des sels cristallisés. Ces substances, caractérisées par leur diversité et leur constante expansion, réagissent chimiquement de manière commune et présentent une activité physiologique notable (Delépine , 1953).

#### ❖ Répartition des alcaloïdes

La répartition des alcaloïdes suggère certaines observations chimiotaxinomiques: Chaque espèce possède généralement des alcaloïdes avec un squelette identique. Les espèces appartenant au même genre contiennent des alcaloïdes étroitement apparentés.

De plus, les genres voisins renferment eux-mêmes des alcaloïdes communs ainsi que des alcaloïdes plus spécifiques (Garnier *et al.*, 1969).

#### ❖ Localisation des alcaloïdes

Alb. Goris a mené une étude approfondie sur la localisation histochimique des alcaloïdes chez les végétaux il y a environ quarante ans (**Goris , 1914**). Cette étude, basée sur la méthode classique d'Errera utilisant le réactif iodoioduré de Bouchardat, est largement reconnue pour sa qualité et sa fiabilité. Les alcaloïdes sont identifiés par leur réaction avec ce réactif, puis leur nature est confirmée en traitant les tissus avec de l'alcool tartrique pour dissoudre les alcaloïdes et éviter toute précipitation indésirable (**Bézanger-Beauquesne , 1958**). il ya deux parties :

### ➤ Dans les tissus

Les alcaloïdes se trouvent principalement dans les tissus végétaux, souvent combinés à des acides ou des tanins. Ils peuvent être localisés dans le suc cellulaire, la paroi cellulaire, ou des cellules spécialisées comme les laticifères. Leur concentration est élevée dans les régions de croissance, les points végétatifs, et les tissus actifs tels que les bourgeons et les ovules matures . Certains tissus superficiels, comme les feuilles de certaines plantes, peuvent libérer des alcaloïdes sous forme de gouttelettes volatiles par temps chaud . (P. Guérin) (**Bonner, 1950**).

### ➤ Dans les organes

Les alcaloïdes se trouvent dans divers organes végétaux, avec des préférences pour l'endoderme des racines et des tiges, ainsi que la périphérie de la moelle. Les fruits renferment également ces composés, notamment dans le mésocarpe et le placenta. Dans les graines, les alcaloïdes peuvent être présents dans le tégument ou l'albumen, mais ils peuvent disparaître lors de la maturation. Certains exemples de graines riches en alcaloïdes comprennent *Strychnos Nux-vomica* et *Physostigma venenosum*, tandis que d'autres comme *Atropa Belladonna* et *Datura Stramonium* en contiennent moins dans leurs tissus superficiels. Certaines graines comme celles de *Papaver somniferum* sont dépourvues d'alcaloïdes, ce qui les rend utilisables comme aliment. Au cours de la germination, il y a souvent une diminution initiale des alcaloïdes présents dans la graine (**Bézanger-Beauquesne ,1958**).

## c. Terpenoïdes

### ❖ Généralités

Les terpénoïdes, avec plus de 22 000 composés identifiés, jouent des rôles cruciaux dans les plantes, en tant qu'hormones, pigments, transporteurs d'électrons et composants membranaires (**Connolly et Hill.,1991**). Ils agissent également comme signaux de communication et mécanismes de défense, attirant les pollinisateurs, repoussant les herbivores et servant d'antibiotiques (**Devon et Scott., 1972**). De plus, ils sont des ressources précieuses, fournissant des huiles essentielles, des résines et des cires utilisées dans divers produits (**Glasby,1982**). Ils comprennent également des polymères d'importance industrielle et une variété de produits pharmaceutiques et agrochimiques (**Harborne,1991**). De nombreux composés terpénoïdes

spécifiques servent également dans la communication et la défense ( **Dawson, 1994** ).

### c.1. Les huiles essentielles

#### ❖ Définition

Les huiles essentielles sont des extraits volatils de diverses parties de plantes, comme les fleurs, les racines, les feuilles, les tiges et les graines, ainsi que parfois d'animaux tels que la civette ou le musc (**Randriamiharisoa, 1995**).

#### ❖ Propriétés physiques

- Densité .
- Pouvoir rotatoire .
- Indice de réfraction (**Noudogbessi et al., 2008**).
- température ambiante (**Fernandez et Chemat., 2012**).
- Les huiles essentielles sont volatiles (**Kaloustian et Hadji-Minaglou., 2012**).

### II.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles regroupent une diversité de composés chimiques appartenant à la famille des terpènes, notamment les monoterpènes et les sesquiterpènes (C10 et C15). L'analyse de leur composition chimique représente un défi majeur pour les scientifiques en raison de la complexité et de la diversité des composés, rendant la plupart difficiles à identifier avec précision. Par exemple, l'huile essentielle d'Ylang Ylang contient une multitude de composés chimiques, dont on estime le nombre à plusieurs centaines. Cette complexité entourant la composition des huiles essentielles en fait un domaine d'étude et d'analyse fascinant pour les chercheurs et les chimistes (**Randriamiharisoa, 1995**).



***Chapitre III***  
***Activité biologique***

### III.1. Activité biologique

De nombreuses recherches récentes en épidémiologie et, expérimentation mettent en évidence les activités antioxydantes et les activités antibactériennes des flavonoïdes, présents en abondance dans les plantes médicinales et alimentaires. Ces composés pourraient jouer un rôle essentiel dans la prévention de maladies infectieuses, cardiovasculaires et cancéreuses, selon plusieurs études (**Johnson, 1999; Nicoli et al., 1999**).

#### III.1.1. Activité antioxydant

##### III.1.1.1. Antioxydants

###### ❖ Définition

Les antioxydants sont des substance qui protègent les cellules en prévenant les dommages causés par l'oxydation. L'oxydation, une réaction chimique, produit des radicaux libres, des molécules très réactives avec des électrons non appariés. Les antioxydants interrompent cette réaction en chaîne en neutralisant les radicaux libres, ce qui empêche les dommages cellulaires et réduit les risques de maladies comme le cancer et les maladies cardiaques (**Mamta et al., 2014**).

###### ❖ Modes d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent être regroupés en deux catégories selon leur origine: les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ils se trouvent dans les compartiments intra et extracellulaires (**Cano et al., 2006**).

###### a- Systèmes antioxydants endogènes(enzymatique)

Des systèmes enzymatiques complexes jouent un rôle crucial dans la réparation des dommages oxydatifs au niveau des protéines et de l'ADN, complétés par certains oligoéléments tels que le sélénium, le cuivre et le zinc, qui agissent comme cofacteurs pour divers enzymes antioxydants. Il est impossible de détailler tous les mécanismes d'action de ces antioxydants, mais il est important de souligner que ceux de faible poids moléculaire agissent de manière complexe, parfois en synergie (**Defraigne et Pincemail., 2008**).

###### b- Systèmes antioxydants exogènes(non enzymatique)

Les antioxydants non enzymatiques constituent une catégorie d'antioxydants qui ne se trouvent pas naturellement dans le corps mais qui doivent être fournis pour garantir un métabolisme adéquat (**Benvenuti et al., 2004**). Certains de ces antioxydants comprennent les minéraux, les vitamines, les caroténoïdes, les polyphénols, et d'autres, et ils sont indispensables pour maintenir la santé du corps et lutter contre l'oxydation néfaste (**Salih, 2020**).

### ❖ Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être regroupés en deux grandes catégories selon leur origine (Mamta et al., 2014).

- ❖ Les antioxydants de synthèse
- ❖ Les antioxydants naturels

#### III.1.1.2. Stress oxydant

Le stress oxydant survient lorsque l'équilibre entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants) est rompu, entraînant des dommages souvent irréversibles pour la cellule (Desmier, 2016).

#### III.1.1.3. Les radicaux libres

Un radical est une entité chimique possédant un électron non apparié, ce qui lui confère une grande réactivité. Dans le contexte biologique, les radicaux dérivés de l'oxygène sont d'une importance particulière, car ils peuvent causer des dommages oxydatifs aux cellules s'ils ne sont pas équilibrés par des mécanismes de défense antioxydatifs (Justine et Carole., 1981).

#### III.1.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les antioxydants ont divers mécanismes d'action, tels que la capture de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction des radicaux ou des peroxydes, ainsi que la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

### III.2. Activité antibactérienne

#### ❖ Généralités

Plusieurs études épidémiologiques et expérimentales récentes suggèrent que les flavonoïdes, présents en grande quantité dans les plantes médicinales et alimentaires, possèdent des propriétés antioxydantes et antibactériennes remarquables. Ils pourraient ainsi contribuer à la prévention des maladies infectieuses, cardiovasculaires et cancéreuses. (Johnson et Nicoli., 1999).

#### III.2.1 Les bactéries

#### ✓ Généralités

Les bactéries sont omniprésentes et jouent un rôle majeur dans la biodiversité et les cycles biogéochimiques. Elles causent des maladies mais sont également essentielles pour notre santé digestive. Elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire depuis longtemps, notamment dans la fermentation du lait, et récemment dans la production d'enzymes et de médicaments. Leur présence généralisée est due à leur remarquable capacité d'adaptation. Comprendre cette adaptabilité pourrait améliorer la prévention et le traitement des infections à long terme, tout en ouvrant des opportunités dans le développement durable, notamment dans les domaines industriel et agricole (Cottinet, 2013).

### ➤ Classification des bactéries

Les bactéries se trouvent partout dans la nature, du sol à l'air en passant par l'eau, et elles colonisent aussi les plantes et les animaux. Cependant, certaines espèces bactériennes peuvent causer des maladies graves chez l'homme, telles que le choléra, la syphilis et la tuberculose (Hahn.,2003) .

La coloration de Gram permet de classer les bactéries en deux groupes distincts. (Benlahrache et Boukerzaza, 2022).

#### ❖ Les bactéries à gram positif :

Les cocci à Gram positifs sont responsables de 50% des cas de sepsis documentés en France et aux États-Unis (Zahar et al.,2011). Pendant le sepsis, plusieurs facteurs de virulence bactérienne entrent en jeu, et la réponse pro-inflammatoire excessive de l'hôte est impliquée dans l'apparition de défaillances multi-viscérales (Annane et al.,2005).

#### ❖ Les bactéries à gram négatif :

Les bacilles anaérobies à Gram négatif sont courants en tant que flore normale dans de nombreux sites du corps humain. Dans l'intestin, par exemple, ils surpassent les coliformes de 100 à 1. Ils participent sans aucun doute à de nombreux processus physiologiques, peuvent jouer un rôle dans certains états pathophysiologiques, et sont fréquemment impliqués dans des infections de divers types dans tout le corps (Finegold et Hewitt, 1962).

### III.2.2. Les antibiotiques

#### ➤ Généralités

La découverte des antibiotiques a été l'une des grandes avancées médicales du XXe siècle . Associés à la vaccination, ils ont notamment contribué à réduire les grandes épidémies, en particulier dans les pays occidentaux. Ces molécules permettent de bloquer la croissance des bactéries ou de les détruire. Dans le premier cas, elles sont appelées bactériostatiques, dans le deuxième cas, bactéricides (Walsh, 2003;Waglechner et al., 2017). La plupart des antibiotiques sont produits naturellement par des microorganismes pour contrôler leur croissance ou dans des conditions spécifiques, mais certains sont également synthétisés. Ils sont cruciaux pour inhiber ou éliminer les bactéries, ce qui en fait des outils indispensables dans le traitement des infections bactériennes (Opatowski, 2020).

### III.2.3. Description des bactéries étudiées

#### ➤ L'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des Pseudomonadaceae, regroupe des bactéries mobiles aérobies gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité (Willcox, 2007; Dasgupta et al., 2000;

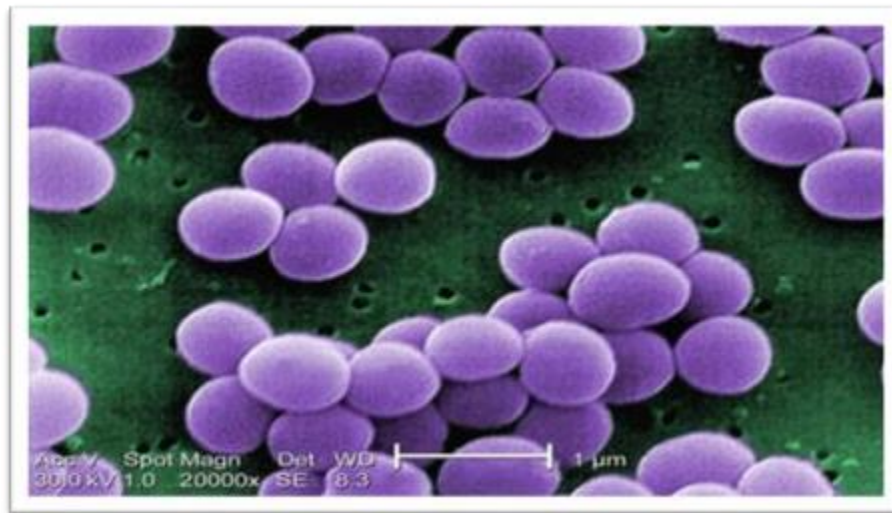
**Kayser et al, 2001**). Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments , tels que la pyocyanine ( vert-bleu ) et la pyorubrine ( jaune-vert ) fluorescent( **Willcox, 2007; Enoch et al., 2004; Palumbo, 1972**). *P. aeruginosa* peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines (**Liu,1974**). D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des biofilms et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce. La combinaison de toxines et de substances dangereuses est un facteur qui joue un rôle déterminant dans la forte virulence de *P. aeruginosa* dans différents hôtes (**Stover et al., 1983**).



**Figure 04 :** L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* ( **Oms, 2006** ).

### ➤ L'espèce *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est un type de bactérie en forme de coccus, colorée en violet par la méthode de coloration de Gram, indiquant sa nature Gram positive. Elle a un diamètre variant de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  et ne produit pas de spores. Cette bactérie est immobile, peut vivre dans des environnements aérobies ou anaérobies, et possède des enzymes telles que la catalase et la coagulase. Connue sous le nom de staphylocoque doré, *S. aureus* est l'espèce type du genre *Staphylococcus* et est associée à la production de diverses toxines. Ces toxines sont souvent responsables d'épidémies associées à cette bactérie, comme mentionné par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (**Anses,2011**).



**Figure 05:** L'espèce bactérienne *Staphylococcus aureus* (Anses, 2011).

➤ **L'espèce *Escherichia coli***

La bactérie *Escherichia coli* a été découverte en 1885 par l'allemand Theodor Escherich après son isolement dans des selles de nourrissons. Son nom actuel lui a été donné en 1919 par Castellani et Chambers (**Grimont, 1987**). Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. *Salmonella* et *Shigella* sont également membres de cette famille. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, capables de fermenter les nitrates et dépourvus d'oxydase (**Le Minor et al., 1990**).

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces: *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières permettant de les différencier (**Grimont, 1987**).



**Figure 06:** L'espèce bactérienne *Escherichia coli* (Anses, 2019).

### ➤ L'espèce *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus*, une bactérie du groupe *Bacillus cereus*, fait partie d'une branche distincte de bactéries Gram-positives dans le genre *Bacillus* (Frankland, et Frankland, 1887). Ce groupe comprend sept espèces étroitement liées, notamment *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, et d'autres (Cohn, 1872). Ces bactéries, qui vivent dans le sol, jouent un rôle *crucial* en tant que décomposeurs organiques et ont une importance médicale et économique en raison de leur potentiel pathogène pour les humains et les animaux (Helgason et al., 2004).

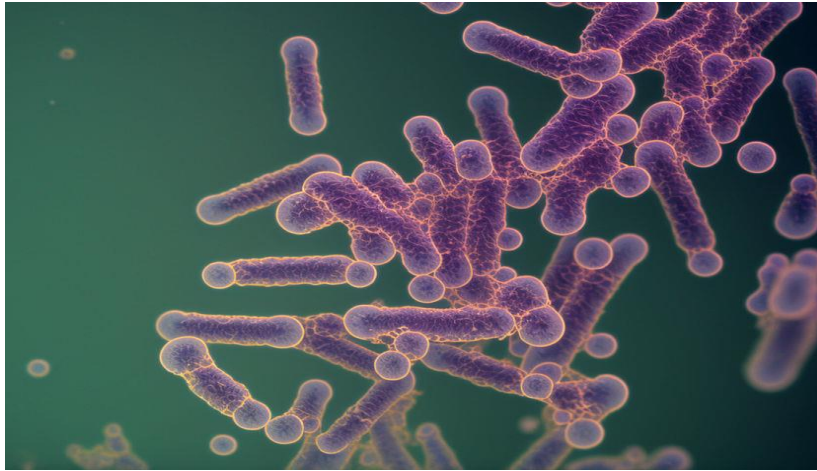


Figure 07 : L'espèce bactérienne *Bacillus cereus*.

### ➤ L'espèce *Agrobacterium*

Les bactéries *Agrobacterium*, les Agrobactéries, sont un groupe de bactéries du sol à Gram négatif, non sporulées, souvent isolées de tissus végétaux proliférant anormalement. *Agrobacterium* héberge un plasmide Ti modifié qui autorise à infecter la plante cible. Les tissus transformés sont ensuite régénérés en une plante saine et fertile exprimant de manière stable les gènes nouvellement introduits.

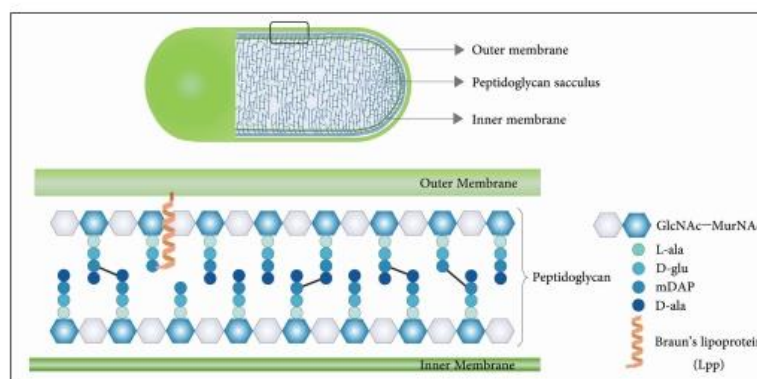
Ces *Agrobactéries* mobiles ( contenant de un à six flagelles par cellule ), aérobies ( utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons pendant la respiration cellulaire ), en forme de bâtonnets, ont un temps de génération plutôt lent ( d'une à plusieurs heures ) même dans des conditions de laboratoire optimales. Les *Agrobactéries* sont capables de cataboliser une grande variété de métabolites. Elles présentent un comportement chimiotactique pour certains exsudats végétaux, qu'ils utilisent dans la nature pour initier la colonisation d'un tissu végétal sensible.



**Figure 08:** *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*)

➤ **Peptidoglycan**

Le sacculus de *peptidoglycane* (muron) sert de composant crucial et distinctif dans la paroi cellulaire de nombreuses bactéries. Composé de brins de glycanes interconnectés par de courts *peptides*, ce sacculus forme une structure scellée en forme de poche enveloppant la membrane cytoplasmique. Notamment, il existe une diversité significative dans la composition peptidique et la séquence à travers diverses espèces bactériennes. De plus, la structure fine du Peptidoglycane varie notablement en fonction des conditions de croissance dans plusieurs espèces examinées. Malgré son importance, il existe une rareté de données biophysiques concernant l'épaisseur, l'élasticité et la porosité du Peptidoglycane. Divers modèles concernant l'architecture du Peptidoglycane sont explorés, en tenant compte à la fois des paramètres structurels et physiques (Vollmer et al., 2008).



**Figure 09 :** *Peptidoglycan* . Structure peptidoglycan et composition chimique (Shambhavi et al., 2021).



**Deuxième Partie**

*Partie expérimentale*



*Chapitre I*  
*Matériels et méthodes*

## I.1. Matériel végétal

### ➤ Identification de la plante *Ruta montana*(Clus.)L

Notre identification végétale a été réalisée au Laboratoire de Biologie Végétale, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université de Mohamed Boudiaf à M'sila. Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est la partie aérienne (feuilles, tiges, racine et fleurs) de la plante *Ruta montana*(Clus.)L. récoltée en 2024 dans la wilaya de M'sila.



Figure 10 : Photo originale de la plante *Ruta montana*

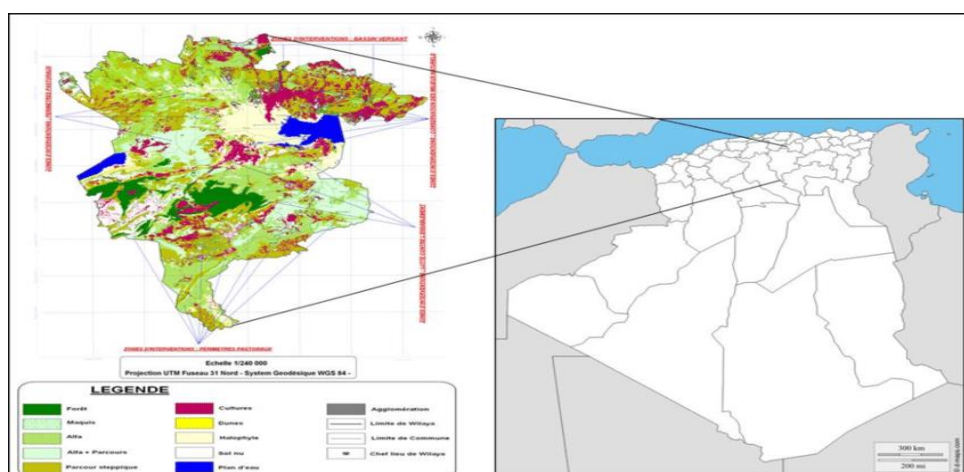


Figure 11 : Carte géographique de la Wilaya de M'Sila

### ➤ L'objectif de travail

L'objectif de ce travail est l'extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana*(Clus.)L » provenant de la wilaya de M'sila par une hydrodistillation (type clewenger), tout en comparant

leurs rendements, leur composition chimiques, ainsi que leurs pouvoirs antioxydants . Dans un autre axe, ce travail consiste à extraire l'huile essentielle de la même espèce récoltée de la région de M'sila en présence des agents surfactants et de comparer les rendements, la composition chimique, ainsi que l'activité antioxydante avec ceux obtenus en absence des tensioactifs.

### ➤ **Récolte de la plante**

La matière végétale est constituée de la partie aérienne (tige – feuilles – fleurs – racine ) de la plante *Ruta montana*(Clus.)L. Elle a été récoltée au milieu du mois de janvier 2024, dans la région de la Wilaya de M'sila, par monsieur "Belkassam Abdelouahab", un docteur à l'université de M'sila. Elle a ensuite été séchée à température ambiante avec une bonne ventilation et placée dans des sacs en papier pour la conserver, en vue d'une utilisation ultérieure.

### ➤ **Broyage des parties sèches**

Les organes de la plante sélectionnée à étudier sont broyés à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre végétale très fine prête à l'emploi.

## **I.2. Caractérisation quantitatives des extraits**

Les composés phénoliques ont été extraits des feuilles, des tiges, des fleurs et des racines de la plante *Ruta montana*(Clus.)L. En utilisant la méthode de macération en présence de méthanol.

### **I.2.1. Principe de macération**

La macération est le processus d'extraction des composés des herbes ou des plantes, en les plaçant dans un mélange alcoolique ou aqueux pendant une longue période pour extraire les substances actives. Cette opération permet d'obtenir un extrait riche en composés tels que les arômes ou les parfums. De plus, elle se déroule à température ambiante.

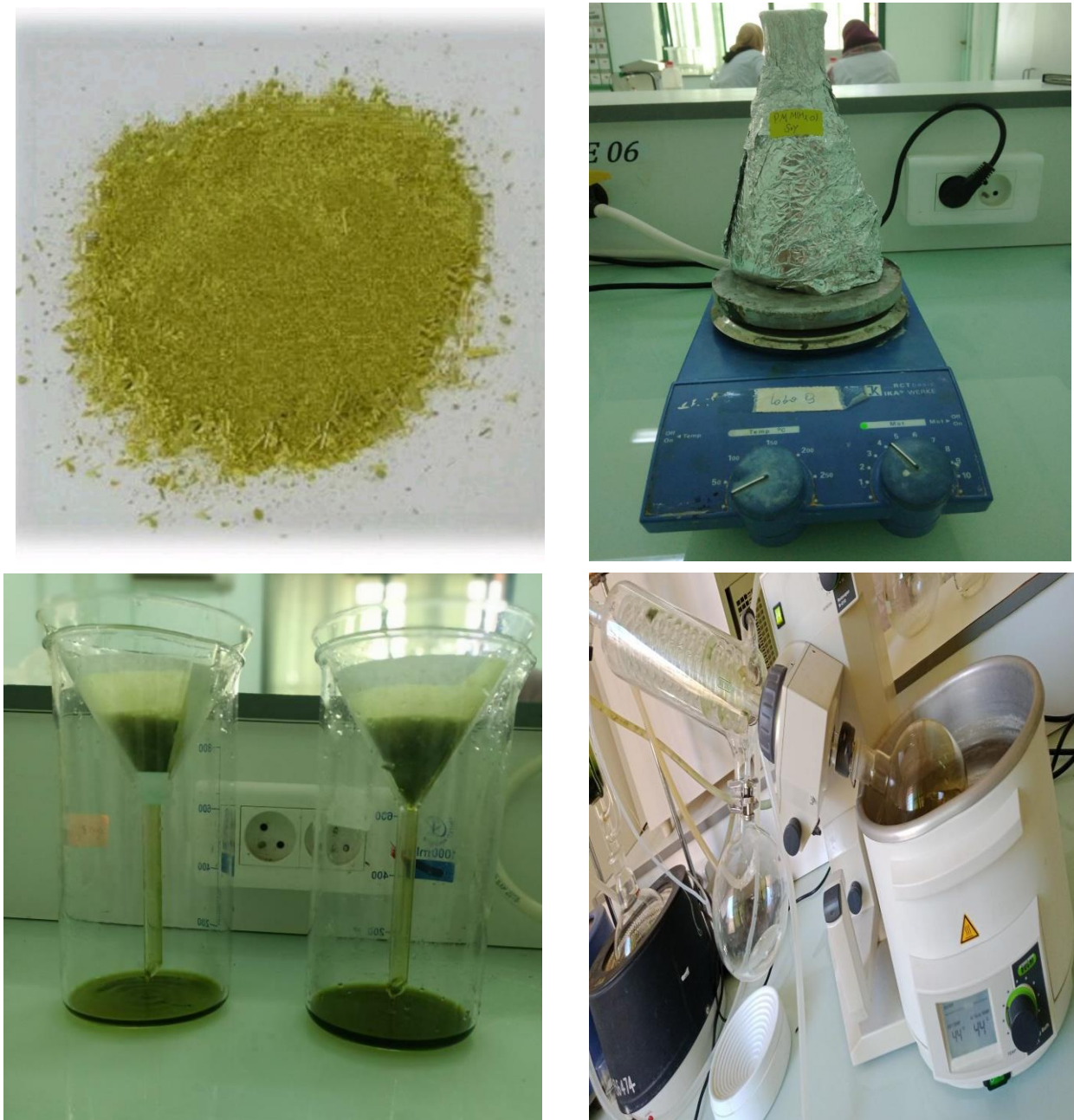
### **I.2.2. Extraction type solide/liquide ( Extraction par macération dans le méthanol aqueux )**

#### ➤ **Préparation des extraits**

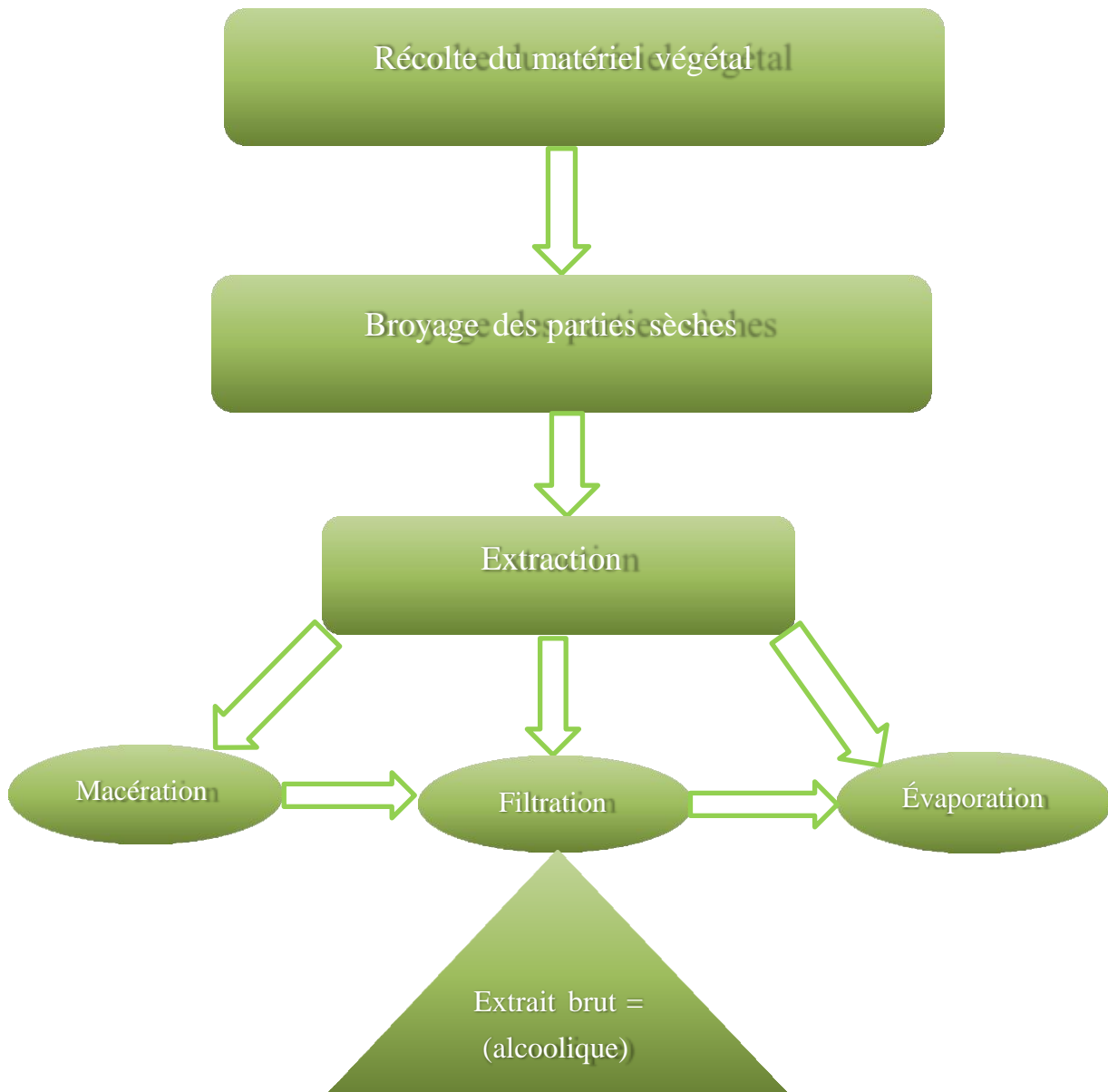
Après avoir broyé les matières végétales (feuilles, racines, tiges et fleurs), on a mis 60 g de poudre avec 80 ml de méthanol et 20 ml d'eau distillée, en remuant pendant 24 heures, à trois reprises.

Ensuite, on a filtré le mélange à l'aide de papier filtre, puis on a évaporé le solvant en utilisant un rotavapeur de type BUCHI R-210 à une température de 44 C .

Enfin, on obtient l'extrait méthanolique brut de la plante (feuilles, racines, tiges et fleurs) , qu'on conserve au réfrigérateur à 4 C.



**Figure 12 :** Les étapes d'extraction par macération



**Figure 13 :** protocole de préparation des extraits

### **I.3. Extraction de l'huile essentielle de *Ruta montana*(Clus.)L**

La méthode de distillation par entraînement à la vapeur d'eau, utilisant un appareil appelé de Clevenger est employée pour extraire les huiles essentielles. Il est préférable de nettoyer les matières végétales de la terre et d'autres herbes avant de les collecter. La matière végétale est placée dans un ballon rempli d'eau distillée , chauffée jusqu'à ébullition.

#### **I.3.1. Procédé d'extraction**

L'huile est extraite de la matière végétale (fleurs, racines, tiges et feuilles) en utilisant un appareil de Clevenger. Avant utilisation, il est nécessaire de nettoyer l'appareil avec de l'acétone et de l'eau distillée pour éviter toute contamination. On place 100g de matière végétale dans un

ballon de 1000 ml avec 1000 ml d'eau distillée .

Ensuite, le ballon est mis dans un bain-marie à une température de 3C jusqu'à ébullition, pendant 3 heures. Après cela, l'huile est extraite et placée dans un eppendorf tube et conservée au réfrigérateur à 4 C .



**Figure 14:** 100g de matière végétale



**Figure 15:** Appareil de clevenger



**Figure 16:** d'huile essentielle de *Ruta montana*

### I.3.2. Conservation de l'huile essentielle de la plante *Ruta montana*(Clus.)L

Les huiles essentielles sont conservées à une température avoisinant les 4C°, dans un flacon en verre hermétique bien fermé et bien enveloppé d'un papier aluminium et ceci pour la préserver de l'air et de la lumière (safa, yasmine, 2024).

### I.3.3. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle se définit comme la proportion entre le poids de l'huile extraite et celui de la plante à traiter. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) \times 100$$

**RHE** : rendement en huile essentielle en pourcentage

**MHE** : le poids de l'huile essentielle en (mg).

**MS** : le poids de la matière végétale sèche en (g).

## I.4. Caractérisation qualitatives de *Ruta montana*(Clus.)L

### I.4.1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM ) repose sur le principe de la séparation et de l'analyse des substances chimiques par leur migration et leur adsorption sur une phase stationnaire polaire, dans une phase mobile liquide, en fonction de leurs propriétés chimiques et de leur affinité avec les solvants et le support (Jazyet *al.*,2018).

#### ➤ Principe

La chromatographie sur couche mince est couramment utilisée pour séparer une grande variété de substances chimiques, des ions minéraux aux particules virales, en incluant les composés de la chimie organique et les substances naturelles des organismes vivants. Cependant, beaucoup la considèrent à tort comme peu adaptable à leurs besoins spécifiques, la percevant comme trop contraignante (Munier, 1968).

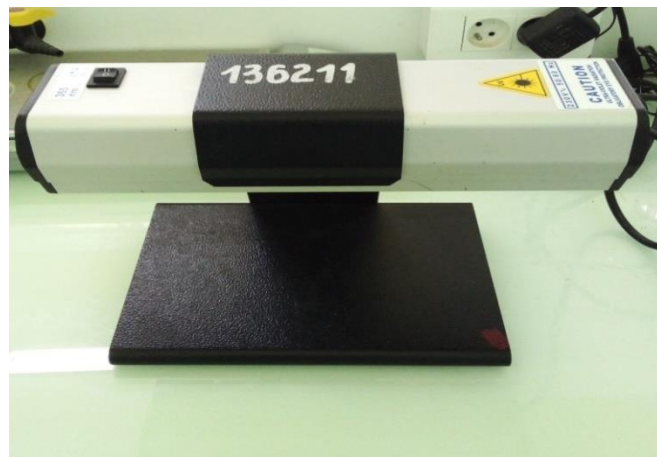
#### ❖ Mise en œuvre pratique

##### a. Préparation des plaques CCM

Nous avons utilisé des plaques de chromatographie de type Kieselgel 60F25432. Les plaques ont été découpées aux dimensions de 2,5 cm de largeur sur 10 cm de longueur. La phase mobile est composée de solvants organiques. Nous avons testé 5 systèmes pour obtenir la meilleure séparation des extraits de la plante de *Ruta montana*(Clus.)L.

**Tableau 01:** les différents Systèmes utilisés pour la CCM de gel de silice (**Belkassam, 2009**).

Systèmes solvants	N°	Proportion	Référence
Chloroforme/Ethanol	01	(3:1)	( Belkassam, 2009 )
Chloroforme/ Ethanol	02	(1:1)	
Chloroforme/ acétate d'éthyle	03	(8:2)	
Chloroforme/L'eau distille'	04	(9:1)	
n.Hexane/Ethanol/Chloroforme	05	(7:4:0,5)	



**Figure 17 :** Appareil de l'Ultra-violet pour l'observation des couleurs de la séparation.



**Figure 18:** Les plaques dans le système de solvant

### b. Le dépôt

Le produit extrait est placé au centre de la plaque à l'aide d'une pipette Pasteur, les points étant situés à 1 cm du bord inférieur de la plaque. Cette procédure permet d'analyser les composés organiques présents dans la plante de fenugrec.

### c. Développement des plaques

Chaque plaque est placée dans un bécher contenant des solvants organiques. La plaque est disposée verticalement dans le bécher. La lecture des résultats se fait lorsque les solvants organiques atteignent la ligne située à 1 cm du bord supérieur de la plaque.

### d. Révélation

Lors de la lecture des résultats, la plaque est séchée à température ambiante, puis placée dans une chambre à UV à une longueur d'onde de 365 nm. Le comportement des composés organiques est exprimé par le taux d'absorption  $R_f$ , calculé selon la formule suivante :

$$R_f = \frac{d}{D}$$

**d**: la distance parcourue par la molécule ;

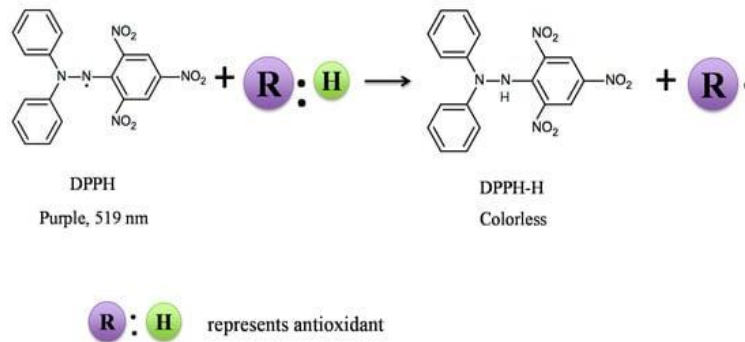
**D**: la distance parcourue par la phase mobile(front du solvant).

## I.5. Activité antioxydante

Dans notre étude, nous avons évalué les activités antioxydantes en réalisant plusieurs tests sur l'extrait pour déterminer sa capacité à lutter contre l'oxydation. Parmi ces tests, nous avons utilisé le test DPPH.

### I.5.1. Test DPPH

En solution, le DPPH se caractérise par une couleur pourpre intense qui vire au jaune pâle en présence d'un piègeur de radicaux libres (**Blois, 1958**). Ce radical libre stable accepte facilement un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable (**Th Kroyer, 2004**).



**Figure 19:** Réaction du test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (Liang et Kitts, 2014).

### I.5.2.Mise en œuvre pratique

Le mélange de 2 mg de DPPH avec 50 ml de Méthanole a été effectué, puis mélangé avec différentes concentrations d'extrait brut et extrait huile essentiel à des ratios de (10, 25, 50, 100 µg/ml). Ensuite, le mélange a été laissé dans l'obscurité pendant 30 minutes, où la couleur est passée du violet au jaune, et les résultats ont été lus à 517 nm sur un appareil spectrophotomètre

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs control} - \text{Abs test}) \times 100 / \text{Abs control}$$

Tels que :

**Abs control:** Absorbance du control négatif à la longueur d'onde 517 nm .

**Abs test:** Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517 nm.



**Figure 20:** Photo originale de l'appareil Spectrophotométrie

**I.6. Évaluation de l'activité antibactérienne de *Ruta montana*(Clus.)L****1.6.1.Principe**

Le principe de cette méthode se résume en un disque de papier imprégné de l'extrait brut à différentes concentrations, déposé directement sur la gélose, uniformément ensemencée avec le germe à tester. La croissance du germe est inhibée à une distance du disque par rapport à sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de la zone d'inhibition est détectée à l'œil nu et s'accorde à l'endroit où la croissance bactérienne commence (Massiaen et Cassini, 1981).

**1.6.2.Préparation de milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : **Muller-Hinton**. Préparé comme suit: Dissoudre 19 g de la poudre Muller-Hinton dans 500 ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C<sup>0</sup> et finalement couler le milieu dans les boîtes de pétri à 4 mm de hauteur et laisser quelques minutes jusqu'à la solidification.

**1.6.3.Préparation des dilutions d'extrait de la plante *Ruta montana*(Clus.)L**

Les extraits obtenus de la plante *Ruta montana*(Clus.)L ont été dissous dans le méthanol avec des dilutions successives au demi pour avoir trois concentrations à : C1=2mg/ml C2=4mg/ml, C3=8mg/ml.

**1.6.4.Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir de papier Wathman, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'auto-clave à 121°C<sup>0</sup> pendant 15 minutes et conservés jusqu'à l'utilisation.

**Tableau 02 : Les souches bactériennes utilisées**

Nom de souche et Code référence	Gram
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<b>Gram négatif</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<b>Gram négatif</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<b>Gram positif</b>
<i>Bacillus cereuse</i> ATCC 14579	<b>Gram positif</b>
<i>peptidoglycan</i> ATCC 20245	<b>Gram positif Gram négatif</b>
<i>Agrobacterum</i> ATCC 15834	<b>Gram négatif</b>

### I.6.5. Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes à été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques

- **Non sensible (-)** ou résistante : diamètre < 8mm
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm
- **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre > 20 mm (**Ponce, 2003**).



***Chapitre II***  
***Résultats et Discussion***

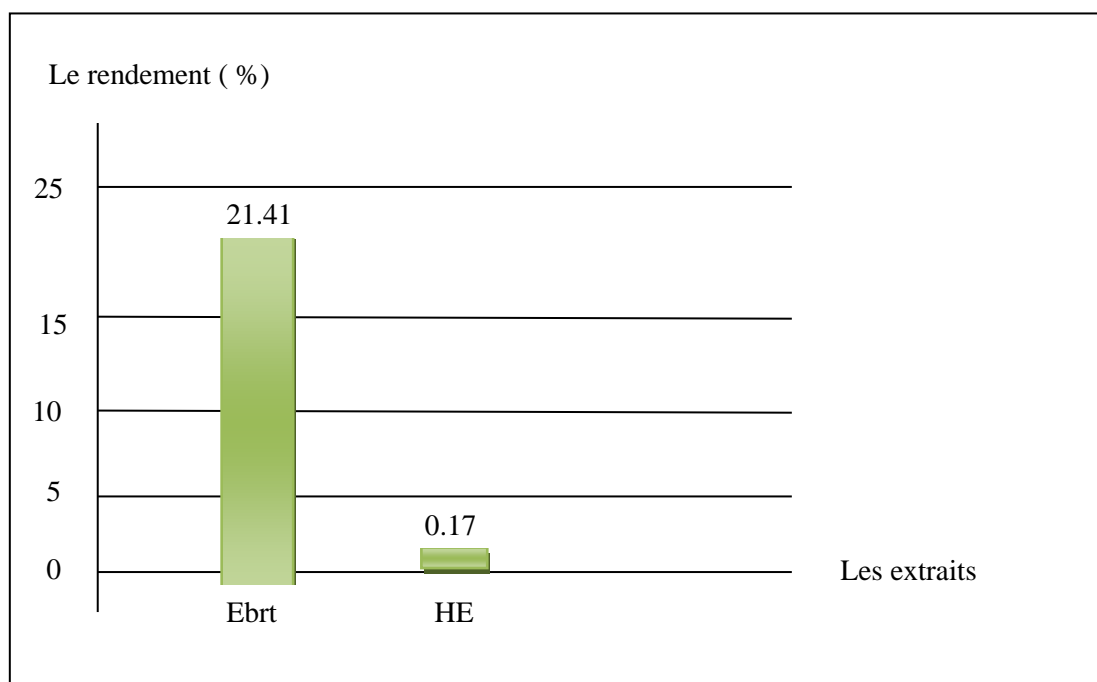
## II.1. Evaluation des techniques d'extraction

Les tests chimiques ont été réalisés sur la plante de *Ruta montana*(Clus.)L. qui se compose de fleurs, tiges, racines et de feuilles. Ces tests ont impliqué l'utilisation d'une variété de solvants polaires différents pour obtenir une séparation efficace des composés.

Les composés chimiques ont été identifiés en étudiant la qualité et la quantité des polyphénols et des flavonoïdes à l'aide de la technique des spectrophotomètres UV et d'autres techniques.

### II.1.1. Rendements d'extraits de la plante *Ruta montana*(Clus.)L

Les extraits des différentes parties de la plante de *Ruta montana*(Clus.)L ( fleurs, tiges, racines et feuilles ) ont été préparés par la méthode de macération. Deux solvants différents, à savoir le méthanol et l'eau distillée, ont été utilisés dans le processus d'extraction. Cette opération a permis d'obtenir deux types d'extraits des parties de la *Ruta montana*: l'extrait brut et les huiles essentielles.



**Figure 21 :** Rendement des différents extraits de l'espèce *Ruta montana*

Le rendement est calculé en pourcentage par rapport au poids de la matière sèche de la plante de *Ruta montana* transformée en poudre. Les résultats sont exprimés en pourcentage (**Figure 21**), et il a été observé que les rendements varient selon le type d'extrait, les conditions de séchage et la nature du solvant. le rendement de l'extraction d'huiles essentielles était le plus bas à **0,17 %**, tandis que le rendement de l'extrait brut alcoolique était le plus élevé à **21,41 %**.

Les rendements en huiles essentielles des parties aériennes sont de l'ordre de **1,04%** pour *Ruta montana*(Clus.)L et *Ruta chalepensis*(Clus.)L pour **1%** (**Daoudi et al.,2016**). Ce rendement

est significativement plus élevé comparé aux **0,17%** que nous avons obtenus précédemment.

Selon (**Mansour, 1990**). le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière de la *Ruta chalepensis*(Clus.)L est de **3,75 %**. Ce rendement est nettement inférieur à celui obtenu dans notre étude, qui est de **21,41%**.

Cette différence en rendement peut être attribuée à de nombreux facteurs, notamment le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la technique d'extraction (**Fellah et al 2006**). Comparé à nos résultats qui ont montré un rendement de **0,17%** pour l'extrait d'huile essentielle, et résultats de rendement de **21,41%** pour l'extrait brut. ces facteurs soulignent les différences notables dans le rendement.

Selon (**Belkassam et al., 2021**), la distillation à l'eau des parties aériennes sèches de la plante *Ruta montana*(Clus.) L cultivée à Mila (région subhumide) a produit une huile jaune avec un rendement important de **4,5%**. De même, à Oum El Bouaghi, la même opération pour la plante *Ruta montana*(Clus.) L. a donné un rendement de **1,5%**, des rendements importants comparés aux **0,17%** que nous avons extraits de la plante *Ruta montana*(Clus.) L.

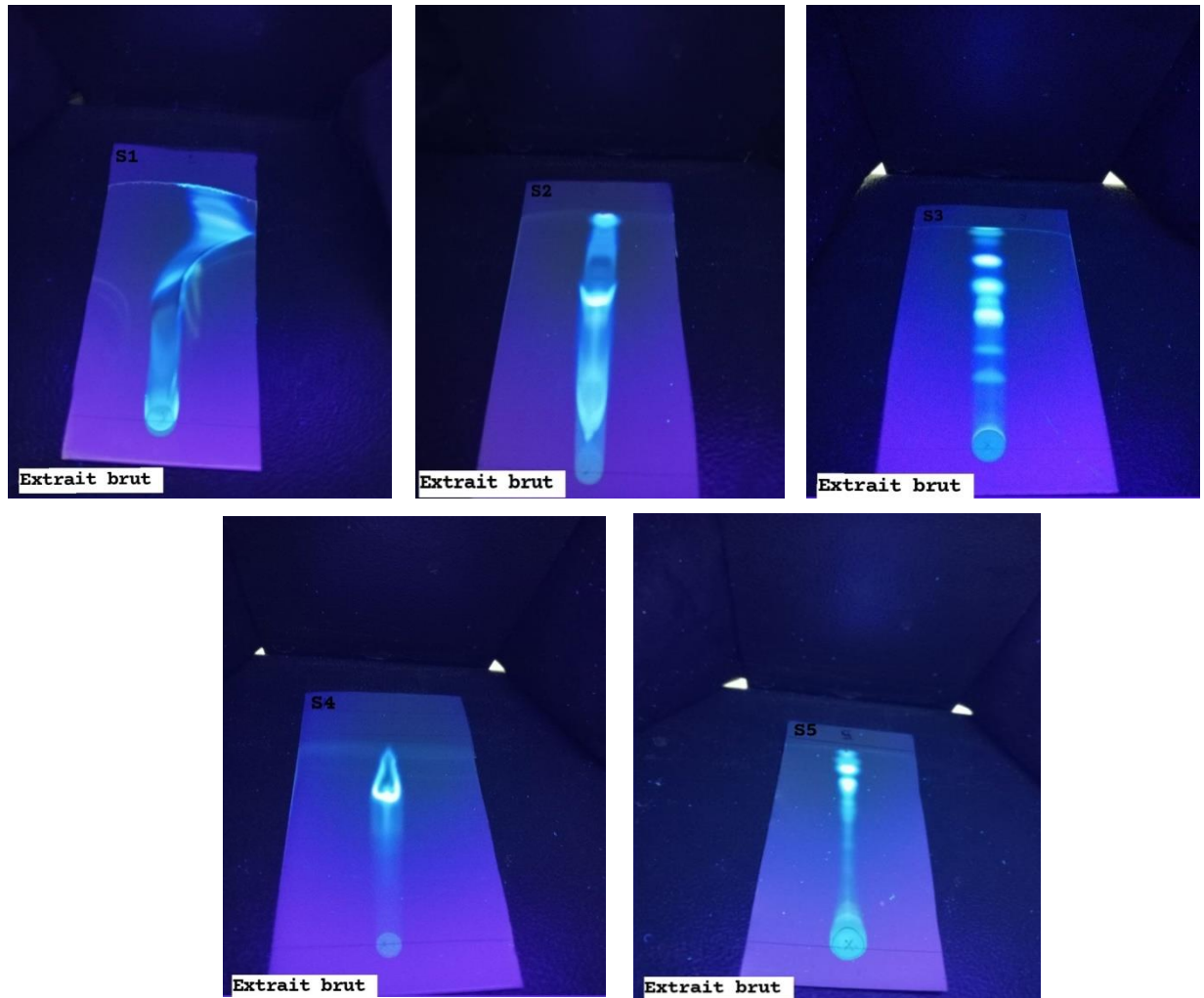
## II.2. Analyse qualitatives des extraits de la plante *Ruta montan* (Clus.) L

### II.2.1. Chromatographie sur CCM

Pour effectuer une analyse qualitative du contenu phénolique de l'extrait brut (**Ebrt**) de la plante de *Ruta montana* composé de fleurs, de tiges, de racines et de feuilles, en utilisant la technique de chromatographie sur couche mince ( **CCM** ). Cette technique permet de déplacer, de séparer et d'analyser les composés chimiques présents dans l'extrait. L'un des avantages de cette technique est sa facilité de mise en œuvre par rapport aux autres techniques de chromatographie.

#### a. Révélation(visualisation des tâches)

Dans notre étude, nous avons séparé les composés chimiques en utilisant **5** systèmes de solvants de polarité différente. Après analyse par chromatographie sur couche mince, les taches obtenues ont été identifiées par leur couleur et leur valeur **Rf** sous lumière **UV** Les résultats sont présentés dans les figures et le tableau joints.



**Figure 22** : Révélation de plaque CCM de gel de silice de Extrait brut de la plante *Ruta montana* de feuille, sous lampeUV365 nm de S1, S2, S3, S4, S5,

**Tableau 03 :** Les rapports frontaux (Rf) et les couleurs des spots obtenus dans 5 systèmes par CCM dans l'extrait brut de la plante *Ruta montana*

N° des systèmes de solvants	Extrait brut		
	<i>Ruta montana</i>		
	N° des Spots	Couleur des spots	Rf (cm)
1	0	0	0
2	1	Blanc	0.5
	2	Gris	0.575
	3	Mauve	0.637
	4	Mauve	0.675
	5	Vert	0.887
3	1	Blanc	0.212
	2	Vert	0.325
	3	Mauve	0.45
	4	Bleu	0.525
	5	Vert	0.575
	6	Gris	0.725
	7	Blanc	0.85
	8	Vert	0.925
	9	Vert	0.95
4	0	0	0
5	1	Bleu	0.387
	2	Mauve	0.537
	3	Blanc	0.587
	4	Vert	0.637
	5	Vert	0.687
	6	Mauve	0.737
	7	Bleu	0.812
	8	Gris	0.887
	9	Vert	0.925
	10	Mauve	0.95

À partir de ces résultats présents dans les tableaux nous avons observé plusieurs taches avec différent coloration dans les 5 systèmes solvants :

**Dans le système de solvants N°01:** Chloroforme / Méthanol ( 3: 1), Aucune réaction des composés.

**Dans le système de solvants N°02:** Chloroforme/ Méthanol (1: 1), l'extrait brut montre cinq taches, qui diffèrent par leurs valeurs de Rf et leurs couleurs.

**Dans le système de solvants N°03:** Chloroforme/ acétate d'éthyle (8: 2), l'extrait brut comporte neuf taches, qui varient en termes de valeurs de Rf et de couleurs.

**Dans le système de solvants N°04:** Méthanol / L'eau distillée (9: 1), Aucune réaction n'a eu lieu.

**Dans le système de solvants N°05:** n- Hexane / Chloroforme/ Méthanol ( 7: 4: 0,5), Le mélange brut se compose de dix taches, avec des variations de valeurs de Rf et de couleurs.

**Dans le système de solvants N°01:** Chloroforme / Méthanol ( 3: 1), Il n'y a eu aucune migration de composés phénoliques dans l'extrait brut, donc aucune tache ni couleur n'ont été observées, avec des valeurs de Rf non disponibles.

**Dans le système de solvants N°02:** Chloroforme/ Méthanol (1: 1), offer une séparation moindre des composés phénoliques par rapport aux systèmes 3 et 5, avec plus de cinq taches observées dans l'extrait brut. Nous avons remarqué une diversité de couleurs entre le blanc, le gris, le mauve et le vert, avec une différence dans la distance de migration. Par exemple, le Rf est faible pour la couleur blanche à 0,5, tandis que le Rf est élevé pour la couleur verte à 0,887.

**Dans le système de solvants N°03:** Chloroforme/ acétate d'éthyle (8: 2), Ce solvant offre une bonne séparation des composés phénoliques, dépassant neuf taches dans l'extrait brut. Nous avons remarqué une diversité de couleurs entre le blanc, le vert, le mauve , le bleu et le gris avec une variation dans la distance de migration, où l'Rf est faible pour la couleur blanche avec une valeur de 0.212 et élevé pour la couleur verte avec une valeur de 0.95.

**Dans le système de solvants N°04:** Méthanol / L'eau distillée (9: 1), Il n'y a eu aucune migration de composés phénoliques dans l'extrait brut, donc aucune tache ni couleur n'ont été observées, avec des valeurs de Rf non disponibles.

**Dans le système de solvants N°05:** n- Hexanne / Chloroforme/ Méthanol ( 7: 4: 0,5),Offre le plus grand nombre de taches pour les composés phénoliques, dépassant 10 taches dans l'extrait brut, où nous avons observé une diversité de couleurs entre le bleu, le mauve , le blanc, le vert et le gris avec une variation dans la distance de migration, où le Rf est petit pour la couleur bleue avec une valeur de 0,387 et grand pour la couleur mauve avec une valeur de 0,95.

### **II.3. Résultats activité biologiques de la plante *Ruta montana*(Clus.)L**

#### **II.3.1. Activité antioxydant**

#### **Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Ruta montana* par la méthode DPPH**

Les différents extraits de la plante *Ruta montana* de barbarie ont été testés en utilisant la méthode du radical libre DPPH. Pour chaque extrait et pour chaque concentration. Le radical libre présente une couleur violet foncé, et les équations obtenues sont les suivantes.

### ➤ Calcul de IC50

La valeur IC50 représente la concentration nécessaire de la substance active pour réduire l'activité du radical libre DPPH de 50%. Lorsqu'elle est basse, le extrait est plus efficace en tant qu'antioxydant (Mellekhial ,2017).

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH, représentés dans la **figure ( annex )**, illustrent de manière séquentielle l'efficacité des extraits brut et extrait d'huile essentielle.

Les résultats de l'analyse IC50 de nos extraits ont montré que l'extrait brut des différentes parties de la plante *Ruta montana*(Clus.)L - y compris les tiges, les racines, les fleurs et les feuilles - a enregistré une valeur **IC50 = 73,17µg/ml**, indiquant la meilleure activité antioxydante parmi les extraits. En revanche, l'extrait d'huile essentiel a montré une activité moindre, avec une valeur **IC50 = 56,01 µg/ml**.

Une étude menée par (Khadhri et al., 2016; Attou, 2011) ont montré que l'extrait brut alcoolique possède une activité antioxydante avec une valeur **IC50 = 12 µg/ml** ce qui est inférieur à nos résultats où la valeur **IC50 = 73,17µg/ml**.

Une étude menée par (Najibullah, 2021) ont montré que huile essentiel possède une activité antioxydante avec une valeur **IC50 = 12,19µg/ml** ce qui est inférieur à nos résultats où la valeur **IC50 = 56,01µg/ml**.

### II.3.2. Activité antibactérienne

Une étude a été réalisée pour évaluer l'effet de "extrait brut" et "extrait huile essentielle" de la plante de *Ruta montana*(Clus.)L sur 6 souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé44solide MH.

L'activité antimicrobienne contre les micro-organismes analysés dans la présente étude a été évaluée qualitativement et quantitativement en fonction de la présence ou de l'absence de zones d'inhibition, ainsi que du diamètre de la zone (DD). La méthode des disques de diffusion est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance microbienne (Ben abdallah et al., 2019).

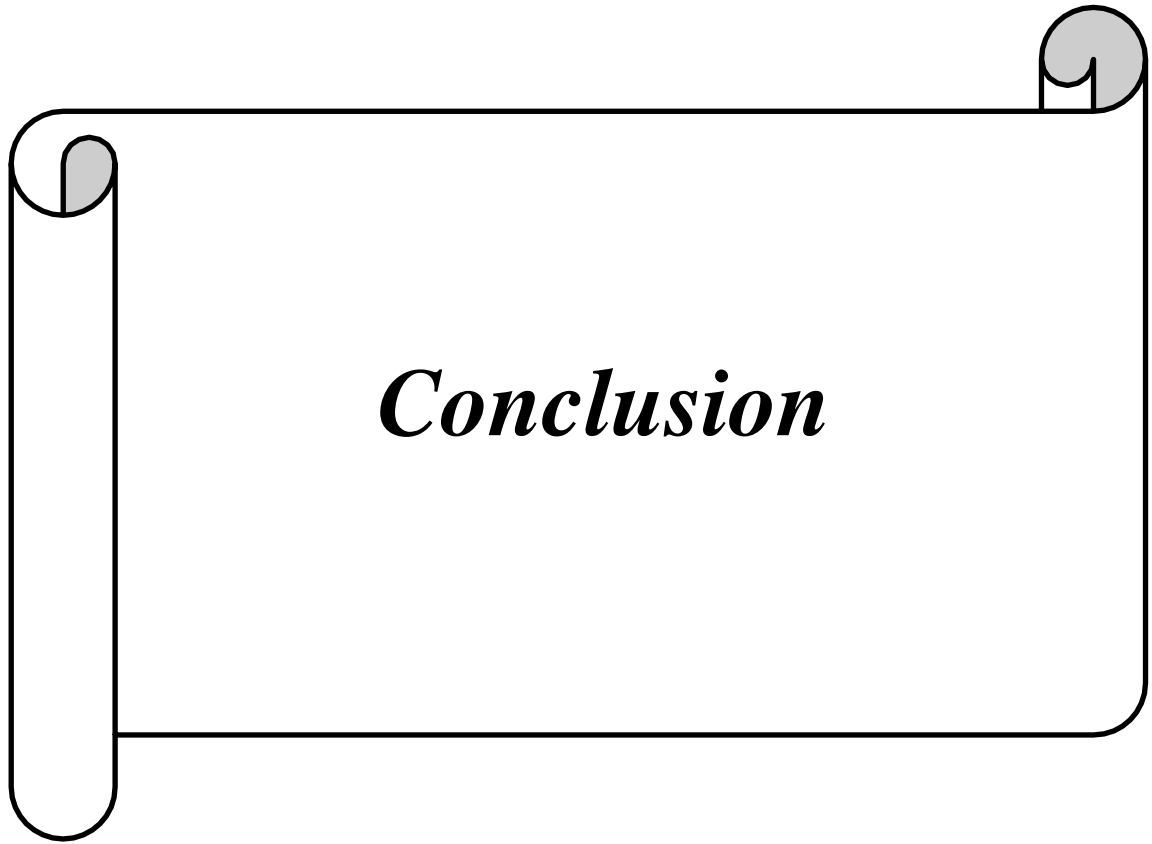
**Tableau 04** : Diamètre de zone d'inhibition de différente concentration de l'extrait brut et extrait de huile essentiel de la plante *Ruta montana* sur la croissance de 6 Souche bactériennes

Souche bactérienne	Extrait	Concentration d'extrait brut			
		8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	Sensibilité
		<b>Diamètre de zone d'inhibition en mm</b>			
<i>E.coli</i>	<b>Ebrt</b>	20	6	20	++
	<b>HE</b>	19	19	18	++
<i>Bacillus cereuse</i>	<b>Ebrt</b>	18	15	20	++
	<b>HE</b>	10	19	15	++
<i>peptidoglycan</i>	<b>Ebrt</b>	14	0	0	+
	<b>HE</b>	0	0	0	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>Ebrt</b>	20	10	10	++
	<b>HE</b>	19	10	17	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Ebrt</b>	14	14	14	+
	<b>HE</b>	13	13	15	++
<i>Agrobacterium</i>	<b>Ebrt</b>	9	9	0	+
	<b>HE</b>	0	0	0	-

Les résultats du tableau montrent que les souches bactériennes *Peptidoglycan* et *Agrobacterium* sont sensibles à l'extrait brut et non sensibles à l'extrait d'huile. En revanche, la souche *Staphylococcus aureus* présente une Très sensibilité à l'extrait d'huile essentiel par rapport à l'extrait brut. Quant aux souches *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*, elles présentent une Très sensibilité à l'extrait d'huile essentiel et à l'extrait brut.

Les résultats indiquent que l'huile **EOEB**, testée sur quatre souches bactériennes: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *K. pneumonia*, a montré une activité antibactérienne forte. La plus grande valeur d'inhibition a été enregistrée avec la bactérie *Escherichia coli*, atteignant **26,66mm** suivie par la bactérie *K. pneumonia*, puis *Staphylococcus aureus*, et enfin *Pseudomonas aeruginosa* avec la valeur la plus basse de **18mm**. ( **Belkassam et al.,2012**)

En comparaison avec nos résultats obtenus en testant l'huile de *Ruta montana*(Clus.)L. sur six souches bactériennes, les souches *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, et *Pseudomonas Aeruginosa* ont également montré une activité antibactérienne forte, avec la valeur la plus élevée enregistrée pour *Escherichia coli*, à **20mm** En revanche, les souches *Agrobacterium* et *peptidoglycane* n'ont montré aucun effet, ce qui signifie qu'elles n'ont montré aucune sensibilité à l'huile de *Ruta montana* (Clus,) L.



***Conclusion***

## Conclusion

---

Notre étude vise à analyser en détail les propriétés chimiques et biologiques de la plante *Ruta montana*(Clus.)L en analysant ses extraits provenant de différentes parties de la plante (feuilles, tiges, racines et fleurs). Nous avons obtenu un rendement tangible de l'extrait brut de 21,41 % et de l'huile extraite de 0,17 %, et les résultats ont montré que les deux contiennent des composés phénoliques actifs.

L'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) nous a permis d'identifier et de séparer les différents composés chimiques dans les extraits. Le système 5 était le plus efficace dans la séparation des particules, renforçant ainsi la précision dans l'identification des composés actifs sur le plan biologique.

Notre étude sur l'activité antioxydante DPPH des extraits de *Ruta montana*(Clus.)L montre qu'il y a un effet d'inhibition des radicaux libres DPPH. Selon les résultats obtenus, l'extrait brut présente une activité antioxydante avec une valeur  $IC_{50} = 73,17 \mu\text{g/ml}$ , tandis que l'extrait huile essentiel a une valeur  $IC_{50} = 56,01 \mu\text{g/ml}$ . Cela indique que la partie aérienne de la plante possède une bonne activité antioxydante.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les résultats ont montré que les extraits d'huile essentiel et les extraits bruts étaient efficaces contre six souches bactériennes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Peptidoglycan*, *Bacillus cereus*, et *Agrobacteriunn*. Les souches *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* se sont révélées sensibles aux extraits d'huile essentiel et aux extraits bruts, tandis que les souches *Peptidoglycan* et *Agrobacteriunn* étaient sensibles uniquement aux extraits bruts et n'ont pas été affectées par les extraits d'huile essentiel.

Ces résultats confirment le potentiel important de *Ruta montana*(Clus.)L en tant que source naturelle de composés antioxydants et antibactériens, ouvrant de nouvelles perspectives pour son utilisation dans le développement de médicaments et de compléments alimentaires. Nous recommandons la réalisation d'autres études cliniques et d'essais avancés pour déterminer les doses optimales et garantir l'efficacité et la sécurité de ces extraits pour une utilisation humaine.



*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- 1. Abdallah, R., Frikha, D., et Sassi, S. M. E. S. (2019).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*. n(31). 38-44.
- 2. Ait Youssef,(2006).** plante médicinale de Kabylie. Ed. Ibis press.
- 3. Ang-Lee, M. K., Moss, J., et Yuan, C. S. (2001).** Herbal medicines and perioperative care. *Jama*. 286(2). 208-216.
- 4. Anses. (2011).** Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: *Staphylococcus aureus* et entérotoxines *staphylococciques*.1-4.
- 5. Anses. (2019).** Escherichia coli entérohémorragiques. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments, p1.
- 6. Anthoni, J. (2007).** Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes (*Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine*).228p
- 7. Ameri, A., Shushizadeh, M. R., Nabavi, S. M. B., Espere, F., & Ahmady, A. Z. (2017).** Antibacterial evaluation and biochemical characterization of *Thais savignyi* gastropod extracts from the Persian Gulf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 12(2).
- 8. Armando, G.S. (2005).** Medicinal plants, the leaves and the flowers, *México*, 686-699.
- 9. Baba Aissa F. (1999).** encyclopedie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb ; ed; librairie moderne – Rouïba, 243 - 244.
- 10. Bahar, F., et Bendjidjetl, H. (2019).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale *Ruta montana* collectée de la région de Mostaganem. *Mémoire de fin d'études.Univ Abdelhamide Ibn Badis- Mostaganem*.69p
- 11. Bakouan, Y., Sessouma, B., Tarpaga, L., Yoda, J., Djandé, A., et Bayo, K. (2021).** 3-benzoyl-4-hydroxy-coumarine: Synthèses et caractérisation d'une série de nouveaux composés. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 50. 23-29.
- 12. Belhadi, S. (2013).** L'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits et des huiles essentielles de *Ruta Montana L.* de différents régions (Batna, Blida et Bejaia) et influence des surfactants. *Univ Saad Dahlab de Blida*.
- 13. Belkacem,A, Zellagui,A, Ghenaf,N, Lahoual,M, Rhouati,S, (2011).** Essential oil composition of Algerian « *Ruta montana* »(clus)Land antibacterial effects on microorganismes responsible for respiratory infections article.
- 14. Belkassam, A.,Zellagui,A., Belaidi, A et Gherraf,N.(2012).** Environmental impact on the chemical composition and yield of essential oils of Algerian *Ruta montana* (Clus.) L. and their

- antioxydant and antibacterial activities. *Advances in Environmental Biology*. 6(10). 2684-2688.
15. **Benedec, D., Oniga, I., Cuibus, F., Sevastre, B., Stiufiuc, G., Duma, M., et Lucaciu, C. M. (2018).** Origanum vulgare mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles simultaneously possessing plasmonic, antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal of Nanomedicine*, 1041-1058.
  16. **Benlahrache ,R et Boukerzaza, S.,(2022).** Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante Centaurea dimorpha. *Mémoire présenté du diplôme de Master. Université Frère Mentouri Constantine I*. 44p.
  17. **Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. A., et Bertelli, D. (2004).** Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of food science*. 69(3).164-169.
  18. **Bézanger-Beauquesne, L. (1958).** Les alcaloïdes dans les plantes. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 105(5-6). 266-291.
  19. **Blois, M. S. (1958).** Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617). 1199-1200.
  20. **Bonner, J. (1950).** Plant Biochemistry, *New York, Academic Press*.537p.
  21. **Bonnier G. (1999).** La Grande Flore en Couleur, Ed : BELIN ; Tome 3 :205-206.
  22. **Botineau, M., (2010),** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris, *Éditions Tec and Doc, Lavoisier [compte-rendu]* .1403p.
  23. **Bouaïssi, R. et Ouarti, R.,( 2023).** Etude phytochimique et biologique de quelques plantes médicinales de la flore de M'sila. *Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf - M'sila*. 75p.
  24. **Bouhadjer, R. et Zabar, L. (2023).** Étude bibliographique sur l'activité des flavonoïdes sur l'organisme humain. *Mémoire Présente en vue de L'obtention du diplôme de Master ,Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou*.37P.
  25. **Bouzidi, M. A., Faraoun, F., Meliani, H., Boubekour, I., Kralifa, M., et Zattal, Z. (2012).** Caractérisation des sols occupés par les espèces du genre *Ruta* dans le Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien). *Les technologies de laboratoire*, 7(28).79-84.
  26. **Brown, E. J., Khodr, H., Hider, C. R., et Rice-Evans, C. A. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*.330(3). 1173-1178.
  27. **Bruneton, J. (2005).** Plantes toxiques et végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3e éd. *Paris, France, Lavoisier*.636p.
  28. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie; phytochimie, plantes médicinales. *4ème édition Lavoisier. Paris*. 1234p

- 29. Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M. P., Hasselmann, M., et Lerverve, X. (Eds.). (2006).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *springer science et business media*.468p.
- 30. Cieśla, Ł., Kryszewski, J., Stochmal, A., Oleszek, W., et Waksmundzka-Hajnos, M. (2012).** Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 70. 126-135.
- 31. Cohn, F. (1872).** Untersuchungen über Bakterien. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen* 1(2). 127–224.
- 32. Connolly, J. D., et Hill, R. A. (1991).** Triterpenoids. In *Second Supplements to the 2nd Edition of Rodd's Chemistry of Carbon Compounds* .pp.555-596.
- 33. Cottinet, D. (2013).** Diversité phénotypique et adaptation chez *Escherichia coli* étudiées en microfluidique digitale. *Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI*.164p.
- 34. Curir, P., Galeotti, F., Dolci, M., Barile, E., et Lanzotti, V. (2007).** Pavietin, a coumarin from *Aesculus pavia* with antifungal activity. *Journal of natural products*. 70(10). 1668-1671.
- 35. Dahmani, S. et Dahmani, F. (2018).** Evaluation de l'activité biologique des différents extraits, et des huiles essentielles de la plante : *Salvia officinalis L.* *Mémoire de Master Académique en Biodiversité et Physiologie Végétale, Université Mohamed Boudiaf - M'sila*.
- 36. Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibijbijen, J., et Nassiri, L. (2016).** Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*. 7(3).685-1063.
- 37. Dasgupta, N., Arora, S. K., et Ramphal, R. (2000).** fleN, a gene that regulates flagellar number in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*.182(2). 357-364.
- 38. Dawson, F.A. (1994).** The amazing terpenes. *Naval Stores Rev. March/Aprill*. 6-12.
- 39. Defraigne, J. O., et Pincemail, J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*. 63.10-19.
- 40. Delépine, M. (1953).** I. La boutique des Morelot à Beaune. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*.41(137), 49-51.
- 41. De Pachtere. F. ( 2015).** L'intérêt santé des polyphénols de l'alimentation. *MNS2* © .
- 42. Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie (*Doctoral dissertation*).
- 43. Desmier, T. (2016).** Les antioxydants de nos jours: définition et applications (*Doctoral dissertation*). *Université de Limoges*.

- 44. Devon, T. K., and Scott, A.I. (1972).** Handbook of Naturally Occur-ring Compounds, Vol. II. *Terpenes.*, New York Academic Press.
- 45. Devon, T. K., et Scott, A. I. (1972).** the diterpenes. *Handbook of Naturally Occurring Compounds*, 185-274.
- 46. Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., et Lagarde, B. J.,(2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Bioscience*. 37(9). 2496-2507.
- 47. Djahra, A. B., Bordjiba, O.et Benkherara, S., (2012).** Activité antibactérienne des flavonoides d'une plante médicinale spontanée Marrubium vulgare L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*. 24.29-37.
- 48. Drioiche, A., Amine, S., Boutahiri, S., Saidi, S., Ailli, A., Rhafouri, R. et Zair, T., (2020).** Antioxydant and antimicrobial activity of essential oils and phenolic extracts from the aerial parts of *Ruta montana* L. of the middle atlas mountains-Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 23(5). 902-91.
- 49. Duke, J. A. (2008).** Uke's handbook of medicinal plants bible.7.
- 50. Durande, (1782).** Notions Elémentaires de Botanique, 284.
- 51. Emeraux, E. (2019).** Propriétés biologiques des flavonoïdes: étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. (*Doctoral dissertation, Université de Lorraine*).
- 52. Favier, A.(2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64.390-396.
- 53. Fella, S., Romdhane, M. et Abderraba, M., (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. l cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal-Societe Algerienne De Chimie*. 16(2). 193- 202.
- 54. Fernandez, X. et Chemat, F.( 2012).** La chimie des huiles essentielles. *Editions Vuibert* . 288p.
- 55. Ferré P,(2022).** Métabolisme : la renaissance. *médecine/sciences*.38(2). 123-124.
- 56. Ferry, T., Guillaume, C., Perpoint, T., et Laurent, F., (2012).** Chocs toxiques dans les infections à cocci à Gram positif. *Médecine Intensive Réanimation*. 21(3). 286-294.
- 57. SM, F., et WL, H. (1955).** Antibiotic sensitivity pattern of Bacteroides species. *Antibiotics annual*, 3, 794-801.
- 58. Finegold, S. M., Harada, N. E.et Miller, L. G., (1967).** Antibiotic susceptibility patterns as aids in classification and characterization of gram-negative anaerobic bacilli. *Journal of Bacteriology*. 94(5). 1443-1450.
- 59. Fouqué, A, (1974).** Espèces fruitières d'amérique tropicale. *Fruits*, 29(1), 40-50.

- 60. Frankland,G.C. et Frankland,P.F. (1887).** Studies on some new microorganism sobtaine from air. *Philos. Trans. Roy. Soc.*178.257–287.
- 61. Garnier, J., Koch, M. et Kunesch, N. (1969).** Les alcaloides “bis-indoliques” repartition essai de classification. *Phytochemistry.* 8(7). 1241-1254.
- 62. Génard, M. M., Robin, C., Gautier, H., Massot, C., Bénard, C., Larbat, R. et Bourgaud, F.,(2010).** Elaboration de la qualité du fruit: composition en métabolites primaires et secondaires. *Innovations Agronomiques.* 9. 47-57.
- 63. Glasby, J.S. (1982).** Encyclopaedia of the Terpenoids. (*Chichestar, En-gland: John Wiley and Sons*).2246p.
- 64. Gorrs, A. (1914) .** Localisation et rôle des alkaloide et de glucosides chez les végétaux. *Thèse Agrég Pari.* 448p.
- 65. Grimont, P. A. D. (1987).** Taxonomie des Escherichia. *Médecine et maladies infectieuses,* 17, 6-10.
- 66. Guignard, J.L,( 2001).** Botanique systématique moléculaire 12ème édition. *Paris.* 284p.
- 67. Guy,D, (1967).** Organisation et classification des plantes vasculaires, société d’édition d’enseignement supérieur, Pris, in Benkiki, 2006.
- 68. Guy Deysson. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires. Tome (2), deuxième partie systématique ; *Sedes.*pp. 326-331.
- 69. Haas, D. (2015).** Métabolisme secondaire de Streptomyces ambofaciens: exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane. (*Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI*).193p.
- 70. Hadjadj, K., Benaissa, M., Mahammedi, M., Ouragh, A. et Rahmone, A., (20019).** Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud ouest algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique.*(199).
- 71. Hahn, M. W., Lünsdorf, H., Wu, Q., Schauer, M., Höfle, M. G., Boenigk, J., et Stadler, P. (2003).** Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Applied and environmental microbiology,* 69(3), 1442-1451.
- 72. Halle, F. et Martin, R. (1968) .** Etude de la croissance rythmique chez Neveu brasiliensis Müll . Arg .(Euphorbiaceae - Crotonoideae) *Adansonia, sér . 2,* 8 (4), 475-503 .
- 73. Halbwirth, H. (2010).** The creation and Physiological Relevance of Divergent Hydroxylation Patterns in the Flavonoid Pathway. *International Journal of Molecular Science.* 11(2). 595-621.
- 74. Helgason, E., Tourasse, N.J., Meisal, R., Caugant, D.A. et Kolstø, A.-B., (2004).** Multilocussequence typing scheme for bacteria of the Bacillus cereus group. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(1).191–201.

- 75. Harborne, J.B. (1991).** Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. *In Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids, J.B. Harborne and F.A. Tomas-Barberan, eds (Oxford: Clarendon Press).* pp. 399-426.
- 76. Harrar, A, N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* *Diplôme de Magister. Université Ferhat abbas- Sétif.* 73p.
- 77. Haslam.E. (1989).** Plant Polyphenols – Vegetable Tannins Revisited – *Chemistry and Pharmacology of Natural Products, Cambridge University Press, Cambridge.* p. 165.
- 78. Haslam, E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products.*59(2). 205-215.
- 79. Hazzit, M., Benchabane, A., Baaliouamer, A., Alloun, K. et Kaci, M., (2015).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*Ruta montana L.*). *Recherche Agronomique, 27,* 118-129.
- 80. Iibert, H., Hoxha, V., Sahi, L., Courivaud, A. et Chailan C. (2016).** Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et stratégies économiques en Albanie et Algérie, *ciheam, Option méditerranéenne, Série B : Etudes et recherches. France.* 73.226 p.
- 81. Ishihara, K. et Nakajima, N . (2003).** Structural aspects of acylated plant pigments: stabilization of flavonoid glucosides and interpretation of their functions. *J Mol Catal B Enzym. sept.* 23(2-6). 411-7.
- 82. Jayashree, B. S., Nigam, S., Pai, A., et Chowdary, P. V. R. (2014).** Overview on the recently developed coumarinyl heterocycles as useful therapeutic agents. *Arabian Journal of Chemistry.* 7(6). 885-899.
- 83. Jazy, M. A., Haïdara, M. et Sanogo, R., (2018).** Chromatographie sur couche mince et activité antiradicalaire d'extraits de *Pupalia Lappacea (L.) Juss. Amaranthaceae.* *European Scientific Journal, ESJ.* 14(3). p140.
- 84. Jiofack, T., Ayissi, I., Fokunang, C., Guedje, N et Kemeuze V., (2009).** Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong Valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology.* 3 (4). 144-150.
- 85. Jiofack T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck.BA, Mapongmetsem, PM. et Tsabang N., ( 2010).** Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences.* 2 (3). 60-79.
- 86. Jiménez, G., Urdiain, M., Cifuentes, A., López-López, A., Blanch, A. R., Tamames, J., et Rosselló-Móra, R. (2013).** Description of *Bacillus toyonensis* sp. nov., a novel species of the *Bacillus cereus* group, and pairwise genome comparisons of the species of the group by means of ANI calculations. *Systematic and applied microbiology.* 36(6).383-391.

- 87. Johnson, I, (1999).** Antioxydants et anticancéreux. *Biofutur*.1999 (186).14-17.
- 88. Justine, O. et Carole, P. (1981).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. (*Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse*), 2005. p13-14.
- 89. Kaloustian J. et Hadji-Minaglou, F.(2012).** La connaissance des huiles essentielles. *Qualitologie et aromathérapie. Springer* . 210p.
- 90. Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., et Zingernagel, R. M. (Eds.). (2001).** *Medical Microbiology* (10th ed.). Stuttgart, Germany : Georg Thieme Verlag
- 91. Khanbabaee, K. et Van Ree, T. (2001).**Tannins: classification and definition. *Natural product reports*. 18(6). 641-649.
- 92. Khelifi, E. et Sid, M. Y., (2021).** L'importance des nutriments comme des antioxydants pour lutter contre le stress oxydatif. *Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université Frères Mentouri Constantine 1*. 79p.
- 93. Lee, K.H, (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. *J. Nat.Prod.* 67.273–283.
- 94. Le Minor, L., Popoff, M.Y. et Bockemuhl, J., (1990).** Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol.* 141. 1173-1177
- 95. Liang, N., et Kitts, D. D. (2014).** Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules.* 19(11). 19180-19208.
- 96. Liu, P. V. (1974).** Extracellular toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Infectious Diseases, 130* , p94-9.
- 97. Makris, DP.et Rossiter, JT. (2002).** An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols. *Food Chem.* 77(2). 177-85.
- 98. Mamta, M, K., Dh illon, G. S., Brar, S. K. et Verma, M., (2014).** Antioxidants. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals. 117-138.
- 99. Mansour, S., El said, M., Tariq, M.A., Al-Yahya, S. Rafatullah, O., Ginnawi T. et AGEEL, A-M., (1990).** Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditonal medicine; *Journal of Ethno pharmacology. Ed: elsevier sciencific.* 28(3)305312
- 100. Merghache, S., Hamza, M.et Tabeti, B.,(2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).67 - 81 .
- 101. Massaux, C, (2012).** Polyphénols: des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie.* 149.4p.
- 102. Mehinagic, E., Bourles, E. et Jourjon, F., (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue Suisse de*

*Viticulture Arboriculture et Horticulture*. 43(6). 364-368.

**103. Mellekhial, F., (2017).** Évaluation de l'activité antioxydante des différentes parties des fruits de *Celtis australis* (micocoulier de Provence) de Tlemcen. *Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme: Master Académique. Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen*. 25p.

**104. Méradji, B et Tebbakh, R., (2016).** Contribution à l'étude des composés phénoliques des extraits de *Ruta chalepensis* et *Achillea ligustica* et évaluation in vitro de leurs activités biologiques . *Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme: Master Académique en Biologie. Université Med-Seddik Benyahia-Jijel*. 69p.

**105. Merghache, S., Hamza, M. et Tabti, B.,(2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).67 -81.

**106. Mochizuki, M., Yamazaki, S., Kano, K. et Ikeda, T.(2002).** Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj. janv* . 1569(1-3). 35-44.

**107. McGarvey, D. J. et Croteau, R. (1995).** Terpenoid metabolism. *The plant cell*. 7(7). 1015.

**108. Mousavi , Mahta, ( 2019).** isolement de métabolites secondaires & caractérisation de composés bioactifs issus de matrices végétales.*thèse de doctorat université de lorraine – metz*. 158p.

**109. Munier, R. L., (1968).** La chromatographie sur couche mince: Principes et possibilités. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles. Article*. 16.12-34.

**110. Noudogbessi, J. P., Kossou, D., et Sohounhloué, D. C. (2008).** Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* (Miller) et de *Chromolaena odorata* (L. Robinson) Acclimatées au Bénin. *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*. 26.11-19.

**111. Nicoli, M.C., Anese, M. et Parpinel, M.,(1999).**Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables, *J. Trends Food Sci. Technol.*10.94-100.

**112. Nicolini, E. A, (1991).** Premières données sur l'architecture des genres *Citrus* et *Poncirus* (Rutaceae). *Fruits*, 46(6), 653-669.

**113. Opatowski, M. (2020).** Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé. (*Dtoral dissertatioocn, Université Paris-Saclay*).189p

**114. Ouadeh, N., Benhissen, S., Belkassam, A., Bendif, H., et Rebbas, K.,(2021).** Etude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales de la région de Dréat (M'Sila, Algérie) *Ethnobotanical study and inventory of medicinal plants in the Dréat region (M'Sila, Algeria)*. *Geo-Eco-Trop*. 45(4). 617-633.

- 115. Palumbo, S. A. (1972).** Role of iron and sulfur in pigment and slime formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 111(2), 430-436.
- 116. Penso, G. (1980).** The role of WHO in the selection and characterization of medicinal plants (vegetable drugs). *Journal of ethnopharmacology*. 2(2), 183-188.
- 117. Quézel, P. et Santa, S.( 1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Edition du CNRS, Paris, France*. 2, 1170 p.
- 118. Randriamiharisoa, P. R. (1995).** Manuel rapide et utile pour producteurs d'huiles essentielles. *Pour le compte de ABT/Associates, Conseiller Principal du Projet MAELP-USAID*.
- 119. Saijo, R., G.-I., Nonaka and I., Nishioka, Chem., Pharm. Bull., (1989).**Tannins and related compounds. Lxxiv. Isolation and characterization of five new hydrozable tannins from the bark of *Mallothus japonicas*. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* . 37(8). 2063
- 120. Salih, S. M. S.(2020).** Antioxidants and antioxidant enzymes. 1- 21.
- 121. Sanchez, S. A.L, ( 2008).** Demain, Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. *Microbial Biotechnology*. 1. 283–319. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2007.00015.x>
- 122. Savoye, F. (2011).** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. (*Doctoral dissertation, Université de Bourgogne*). 197p.
- 123. Schippmann, U., Leaman, D.J, et Cunningham, C.B., (2002).** Impact of cultivation and gathering of medicinal plants in biodiversity: global trends and issues. In: FAO ed. Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture. *forestry, and fisheries*. 1- 21.
- 124. Smith, G.J., Thomsen, S.J., Markham, K.R., Andary, C. et Cardon D., (2000).** The photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes. *J Photochem Photobiol Chem*. 136(1-2). 87-91.
- 125. Spichiger R., Stutz de Ortega L. (1987).** Flora de Paraguay:Rutaceae(Missouri botanical garden).
- 126.Stover, G. B., Drake, D. R., et Montie, T. C. (1983).** Virulence of different *Pseudomonas* species in a burned mouse model : tissue colonization by *Pseudomonas cepacia*. *Infection and Immunity*, 41(3), 1099-1104.
- 127. Tabuti, J. R., Lye, K. A., et Dhillon, S. S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of ethnopharmacology*. 88(1). 19-44.
- 128. Th Kroyer . G., (2004).** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient, *Innovat. Food Sci. Emerg.Technol*. 5. 101–105.
- 129. Tommasini, S., Raneri, D., Ficarra, R., Calabrò, M. L., Stancanelli, R.et Ficarra P.,(2004).** Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with 6-cyclodextrin. *journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 35(2). 379-387.

doi:10.1016/S0731-7085(03)00647-2.

**130. Ungar, Y., Osundahunsi, OF.et Shimoni, E.(2003).** Thermal Stability of Genistein and Daidzein and Its Effect on Their Antioxidant Activity. *J Agric Food Chem. juill.* 51(15):4394-9.

**131. Ursini, F., Maiorino, M., Morazzoni, P., Roveri, A. et Pifferi, G., (1994).** A novel antioxidant flavonoid (IdB 1031) affecting molecular mechanisms of cellular activation. *Free Radic Biol Med.* 16(5). 547-53.

**132. Uthurry, C.A., Hevia, D. et Gomez-Cordoves, C., (2011).** Role of honey polyphenols in health. *Journal of Api\_Product and ApiMedical Science.* 3(4).141-159.  
<http://www.ibra.org.uk/articles/Role-of-honey-polyphenols-in-health>.

**133. Vollmer, W., Blanot, D.et De Pedro, M. A., (2008).** Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS microbiology reviews.* 32(2). 149-167.

**134.Waglechner, N. et Wright, GD., (2017).** Antibiotic resistance: It's bad, but why isn't it worse? *BMC Biol.* 15. 1- 8.

**135. Walsh, C.(2003).** Antibiotics : actions, origins, resistance. *ASM Press.* pp335.

**136. Willcox, M. D. (2007).** Pseudomonas aeruginosa infection and inflammation during contact lens wear : a review. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry.* 84(4). 273-278

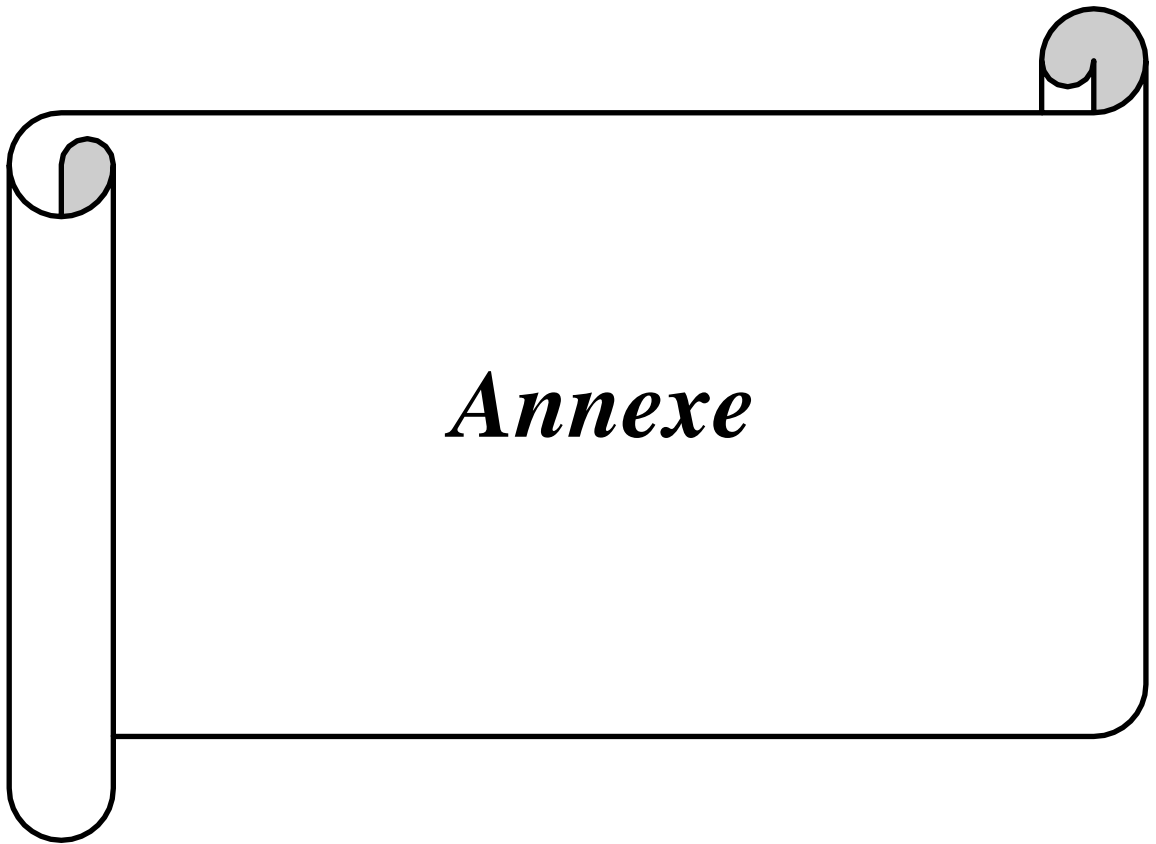
**137. Würdig, G, et Woller, R. (1989).** Chemie des Weins Eugen Ulmer GmbH & Co. *Stuttgart,* 34(61), 201.

**138. Wu, Z. Y., P. H. Raven et D. Y. Hong, eds. (2008).** Flora of China. . (Oxalidaceae through Aceraceae). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, *St. Louis . 11*

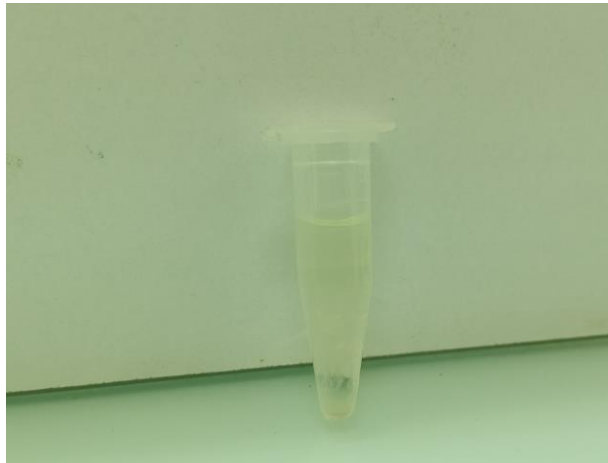
**139. Xu, J., Kjer, J., Sendker, J., Wray, V., Guan, H., Edrada, R., Muller, W.E.G., Bayer, M., Lin, W., Wu, J.et Proksch, P., (2009).** Cytosporones, coumarins, and an alkaloid from the endophytic fungus Pestalotiopsis sp. isolated from the Chinese mangrove plant Rhizophora mucronata. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 7362–7367.

**140. Yoshida, T. H., Ohbayashi, K., Ishihara, W., Ohwashi, K., Haba,Y., Okano, T., Shingu and T., Okuda, Chem., Pharm. Bull.,(1991).** Tannins and Related Polyphenols of Melastomataceous Plants. I. Hydrolyzable Tannins from Tibouchina semidecandra COGN.*Chemical and pharmaceutical bulletin,* 39(9), 2233-2240.

**141. Zahar, JR, Timsit, JF, Garrouste-Orgeas, M. et al (2011).**Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: pathogen species and infection sites are not associated with mortality. *Crit Care Med.* 39.1886–95. 20.Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM (2005) Septic shock. *Lancet* .365.63–78.



## Annexe



Figure\*: photo originale de l'huile essentielle extraite

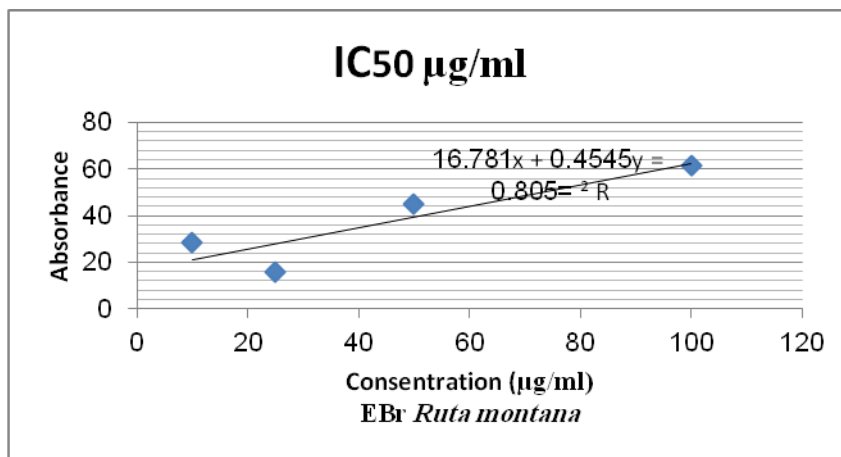
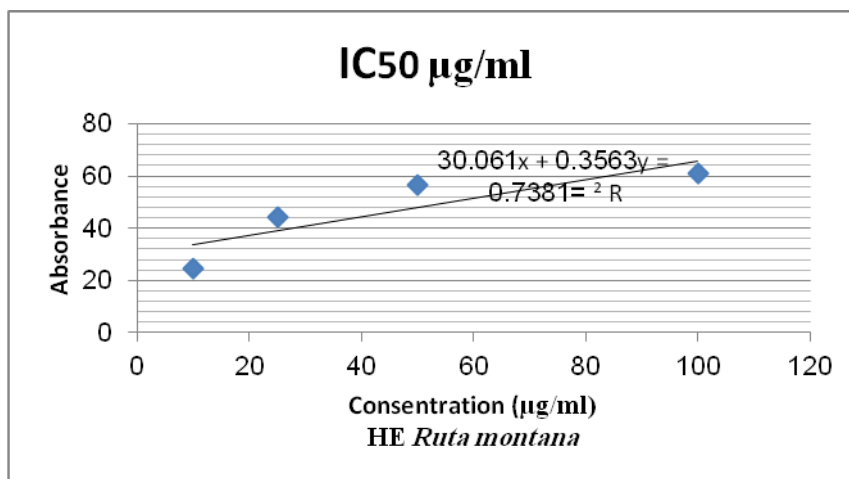
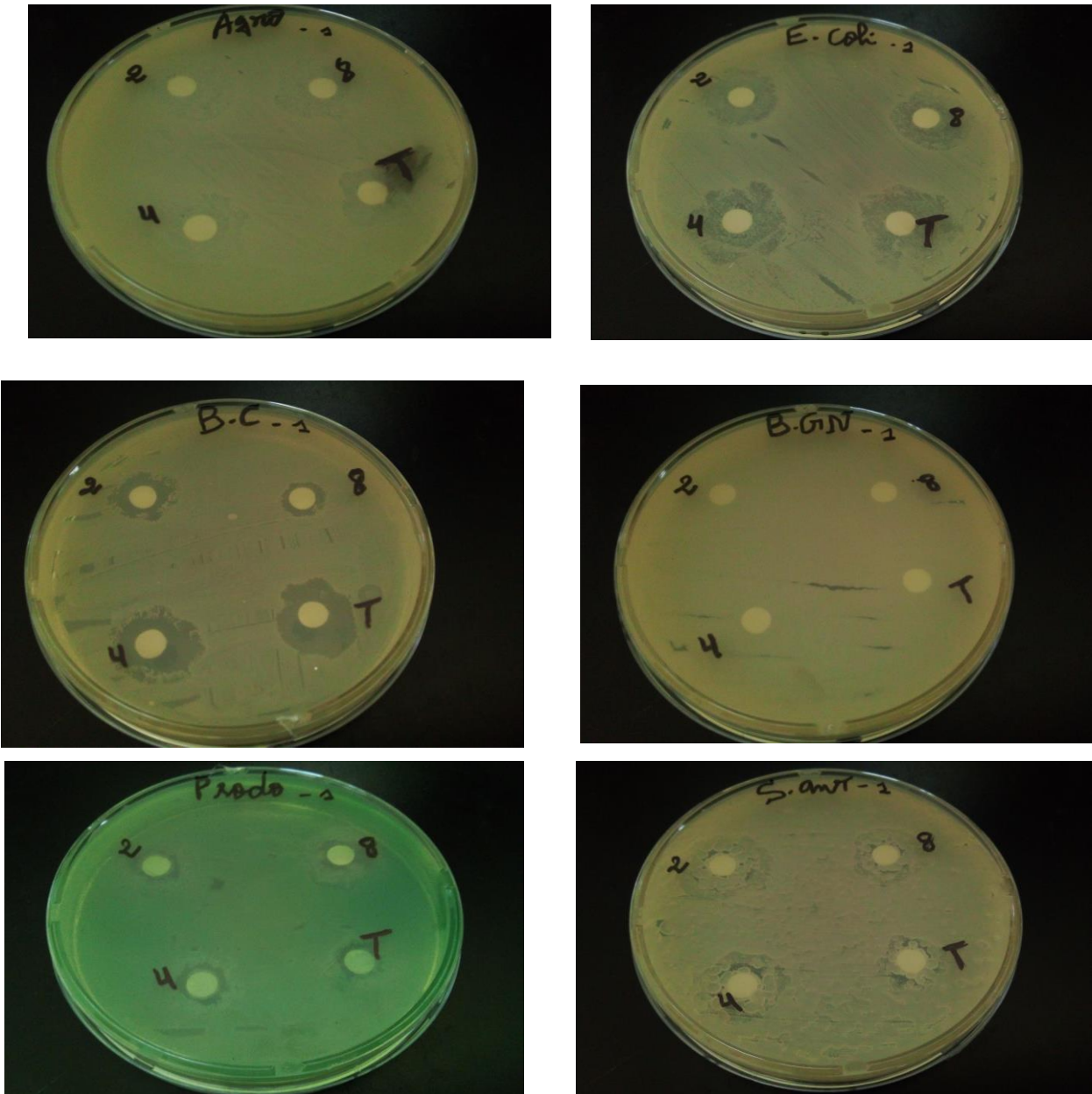


Figure \*\*: courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait brut de la plante *Ruta montana*



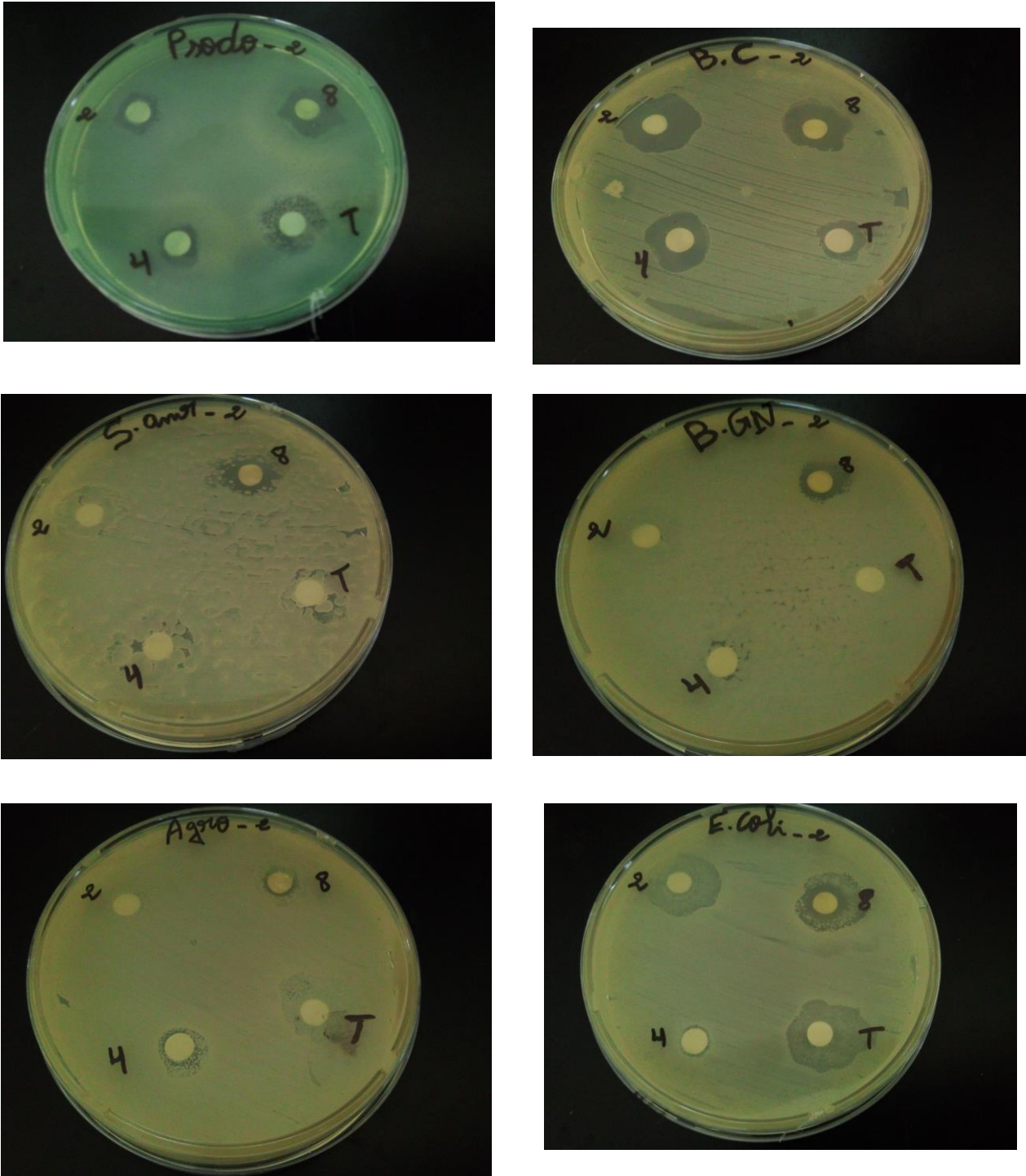
Figure\*\*\*: courbe d'étalon d'activité antioxydant d'huile essentielle de la plante *Ruta montana*

## Annexe



**Figure\*\*\*\* :** L'effet de l'extrait de l'huile essentielle de la plante *Ruta montana* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits

## Annexe



**Figure\*\*\*\*\*:** L'effet de l'extrait brut de la plante *Ruta montana* sur les souches bactériennes testée en présence différent concentration d'extraits

ترتبط دراستنا بالأبحاث المتعلقة بالنباتات الطبية، حيث قمنا بإجراء دراسة على نوع محدد من عائلة Rutaceae وهو *Ruta montana*. أظهرت دراستنا أن *Ruta montana* له خصائص كيميائية وبيولوجية كثيرة، حيث تحتوي المستخلصات الخام والزيتية على مركبات فينولية نشطة. أتاح استخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة تحديد المركبات النشطة ذات التأثيرات المضادة للأوكسدة والبكتيريا. أظهرت المستخلصات الخام نشاطاً مضاداً للأوكسدة أعلى (IC50 من 73.17 مكغ/مل) مقارنة بمستخلصات الزيوت العطرية (IC50 من 56.01 مكغ/مل). أظهر كلا النوعين من المستخلصات فعالية ضد العديد من السلالات البكتيرية، على الرغم من أن بعض السلالات حساسة فقط للمستخلصات الخام. وتسلط هذه النتائج الضوء على إمكانات *Ruta montana* في تطوير الأدوية والمكملات الغذائية، مع ضرورة إجراء دراسات سريرية إضافية للتحقق من فعاليتها وسلامتها للاستخدام البشري.

**الكلمات المفتاحية:** *Ruta montana* ، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأوكسدة، CCM، Rutaceae.

## Résumé

Notre étude est liée à la recherche sur les plantes médicinales, où nous avons mené une étude sur une espèce spécifique de la famille des Rutaceae, la *Ruta montana*. Notre étude a montré que la *Ruta montana* possède des propriétés chimiques et biologiques importantes, avec des extraits bruts et huileux contenant des composés phénoliques actifs. L'utilisation de la chromatographie sur couche mince a permis d'identifier les composés actifs ayant des effets antioxydants et antibactériens. Les extraits bruts ont montré une activité antioxydante supérieure (IC50 = 73,17 µg/ml) par rapport aux extraits huile essentiel (IC50 = 56,01 µg/ml). Les deux types d'extraits ont montré une efficacité contre plusieurs souches bactériennes, bien que certaines souches ne soient sensibles qu'aux extraits bruts. Ces résultats mettent en lumière le potentiel de la *Ruta montana* dans le développement de médicaments et de compléments alimentaires, avec la nécessité de mener des études cliniques supplémentaires pour vérifier leur efficacité et leur sécurité pour l'usage humain

**Mots clés:** *Ruta montana*, activité antibactérienne, activité Antioxydants, CCM, Rutaceae.

## Abstract

Our study is related to research on medicinal plants, where we conducted a study on a specific species of the Rutaceae family, *Ruta montana*. Our study has shown that *Ruta montana* possesses significant chemical and biological properties, with both crude and oily extracts containing active phenolic compounds. The use of thin-layer chromatography allowed for the identification of active compounds with antioxidant and antibacterial effects. Crude extracts exhibited higher antioxidant activity (IC50 = 73.17 µg/ml) compared to essential oil extracts (IC50 = 56.01 µg/ml). Both types of extracts demonstrated efficacy against multiple bacterial strains, although some strains were only sensitive to crude extracts. These findings highlight the potential of *Ruta*

*montana* in the development of pharmaceuticals and dietary supplements, with the need for further clinical studies to verify their efficacy and safety for human use .

**Keywords:** *Ruta montana*, antibacterial activity, antioxidant activity, CCM, Rutaceae.