

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة محمد بوضياف/المسيلة

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE

MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE

FILIERE: BIOLOGIE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Présenté par

MAGOURA Manel

MOUSSAOUI Zeyneb

**Etude comparative de l'efficacité de quelques
extraits organiques des espèces de la plante Ruta**

DEVANT LE JURY :

SELLOUM MOUNIR
GUETTOUACHE MOURAD
HARRAR NACER

Encadreur
Examinateur
Examinateur

Promotion : 2019-2020

Remerciement

Tout d'abord nous remercions le dieu qui donné la volonté, la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous remercions M^R SELLOUM Mounir pour avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses conseils et orientation aussi la confiance qui il nous accordé en réalisant ce travail.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'université de M'sila.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de répondre à notre questions durant notre recherche.

Nous remercions aussi les membres de jury pour accepter d'évaluer ce travail.

Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents (Ali et Bhidja TEBANI) qui ont toujours été pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance :

A mon père qui a donné le courage pour continuer mon trajet d'étude.

A ma Maman qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils pour toute sa assistance et sa présence dans ma vie.

A mes sœurs et à mes frères ainsi à toute ma famille, à tous mes amis pour leur aide à mon recherche scientifique.

Mon binôme Zeyneb je remercie pour votre soutien moral patience et votre dévouement à ce travail.

A toutes les personnes qui je porte dans mon cœur.

Manel

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents (Nasser et Fatiha SLAMANI) qui ont toujours été pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance :

A mon père qui donné le courage pour continue mon trajet d'étude.

A ma Maman qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils pour toute sa assistance et sa présence dans ma vie.

A mes sœurs et à mes frères ainsi à toute ma famille a tous mes amies pour leur aide à mon recherche scientifique.

Mon binôme Manel je remercie pour votre soutien moral patience et votre dévouement à ce travail.

A toutes les personnes qui je porte dans mon cœur.

Zeyneb

Résumé

Dans le cadre de valorisation des plantes médicinales nous avons mené une étude comparative sur les composés organiques des espèces du genre *Ruta* (*Ruta chalepensis*, *Ruta montana*, *Ruta graveolens*) et de mettre en évidence l'effet antioxydant et antimicrobien de ces espèces et leurs efficacité.

Les différents composés phénoliques sont dosés et concentré par des méthodes d'extractions différents (macération, soxhlet et sonication) a révélé des rendements d'ordre différent selon les solvants utilisés et leurs polarité.

L'étude de l'effet antimicrobien de *Ruta montana*, *Ruta graveolens*, *Ruta chalepensis* vis-à-vis des souches à Gram+ et Gram- et des filaments (*Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium sp* et *Aspergillus flavus*) et la levure *Candida albicans*, se fait par le test de disque et le contact direct pour les champignons ; montre qu'elle présente une activité variable en fonction des différents concentrations des extraits ; l'extrait brut de *Ruta graveolens* applique une activité inhibitrice plus élevée sur les souche Gram-.

Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (FRAP, DPPH, B-carotène) in vitro ont montré que tous les extraits étudiés présentent des propriétés anti radicalaires aux différents niveaux dépend d'espèce utilisé et leurs rendement d'extraction.

Mots clés : Composés phénoliques- *R.chalepensis*- *R.graveolens*- *R.montana*- Effet antimicrobien -activité antioxydante.

Abstract

Within the framework of medicinal plant valuation, we conducted a comparative study about the organic compounds of species of *Ruta* genus (*Ruta chalepensis*, *Ruta montana*, *Ruta graveolens*). And to highlight the antioxidant and antimicrobial effect of these species and their effectiveness.

The different phenolic compounds are dosed and concentrated by various extraction methods (maceration, soxhlet and sonication) revealed yields of different values according to the solvents used and their polarity.

The study of the antimicrobial effect of *Ruta montana* , *Ruta graveolens* , *Ruta chalepensis* against Gram+ and Gram- strains ; (*Penicillium chrysogenum* , *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* *Fusarium culmorum*, *Penicillium sp* *Aspergillus flavus*) filaments and *candida albicans* yeast , is done by disk test and direct contact for fungi ; shows that it has a variable activity according to the different concentrations of extracts and the crude extract of *Ruta graveolens* applies a higher inhibitory activity on Gram- strains .

The methods for evaluating antioxidant activity (DPPH, FRAP, B-carotene) in vitro show that all the extracts studied have anti-radical properties at different levels depending on the species used and their extraction yield.

Keywords: phenolic compounds - *R.chalepensis* - *R.graveolens* - *R.montana*- antimicrobial effect - antioxydant activity.

ملخص

في إطار تقييم النباتات الطبية اجرينا دراسة مقارنة حول المركبات العضوية لأنواع الجنس *Ruta* (*Ruta chalepensis*, *Ruta Montana*, *Ruta graveolens*) وإظهار تأثير مضادات الاكسدة والمضادات الميكروبية وفعاليتها لهذه النباتات.

مختلف المركبات الفينولية تم استخلاصها وتركيزها بواسطة طرق مختلفة (maceration, soxhlet وsonication) والتي كشفت عن محاصيل مختلفة النسب حسب المذيبات المستعملة وقطبيتها.

دراسة التأثير الميكروبي لكل من *Ruta chalepensis*, *Ruta montana*, *Ruta graveolens*

على السلالات البكتيرية -Gram+, Gram- والفطريات

(*Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium sp* *Aspergillus flavus*) والخميرة (*candida albicans*) بواسطة طريقة اختبار القرص والاحتكاك المباشر من اجل الفطريات اظهرت ان كل انواع الفيجل المدروسة لها نشاطا متغيرا بدلالة التراكيز المستعملة للمستخلصات الصافية وان المستخلص الخام ل *Ruta graveolens* طبقت نشاطا مثبطا عالي على السلالات البكتيرية -Gram

توضح طرق تقييم النشاط المضاد للأكسدة (DPPH, FRAP, B-carotene) مخبريا ان جميع

المستخلصات التي تمت دراستها تظهر خصائص مضادة للجذور الحرة على مستويات مختلفة اعتمادا على الانواع المستخدمة ومردود الاستخلاص.

الكلمات المفتاحية :

Ruta chalepensis- *Ruta graveolens*- المركبات الفينولية - التأثير المضاد للأكسدة -التأثير المضاد للميكروبات *Ruta montana*-*Ruta graveolens*.

Liste des abréviations

BHT : hydroxytoluène butylé

BHA : hydroxyanisole butylé

PG : gallate propylée

TBHQ : tétrabutylhydroquinone

O₂ : oxygène

ERO : espèces réactives de l'oxygène

NO° : monoxyde d'azote

H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène

ONOO⁻ : peroxydinitrite

DPPH : 2,2-diphényl 1-picryl-hydrazyl

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

Fe³⁺: fer ferrique

Fe²⁺ : fer ferreux

Nm : nanomètre

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthyl-sulfoxyde

MH : Muller Hinton

PDA : dextrose de pomme de terre

EBr : extrait brute

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

Mm : millimètre

Mg : milligramme

MI : millilitre

SXT : Co-trimoxazol.

EMG : extrait méthanolique des grains

EMF : extrait méthanolique des feuilles

EAERM : extrait d'acétate d'éthyle de *Ruta montana*

EBRM : extrait butanolique de *Ruta montana*

EEPRM : extrait de l'éther de pétrole de *Ruta montana*

Liste de figures

Figure 1: <i>Ruta chalepensis</i>	4
Figure 2 : <i>Ruta montana L.</i>	5
Figure 3: <i>Ruta graveolens L.</i>	6

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction	1
Chapitre1 :généralité sur les plantes.....	3
1.La famille de Rutaceae	3
1.1Caractères botanique.....	3
1.2 Genre <i>Ruta</i>	3
2.Position systématique des plantes	4
2.1position systématique de <i>Ruta chalepensis</i>	4
2.2 Position systématique de <i>Ruta montana</i>	5
3.Noms vernaculaires	6
3.1.Noms vernaculaires de <i>Ruta chalepensis</i>	6
3.2.Noms vernaculaires de <i>Ruta montana</i>	6
3.3.Noms vernaculaires de <i>Ruta graveolens</i>	7
4.Usage traditionnel et médicinal.....	7
Chapitre2 :Activité antioxydante	8
1.Les antioxydants.....	8
1.1.Types des antioxydants.....	8
1.1.1.Les séquestrants de métaux et les phagocytes de radical libre	8
1.1. 2. Antioxydants naturels	8
2. Classification des antioxydants	9
2.1. Antioxydants naturelles	9
2.1.1. Antioxydants enzymatique.....	9
2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques	10
2.2. Les antioxydants synthétiques	10
3. Stress oxydant	10
3.1. Définition.....	10
3.2. Les radicaux libres.....	11

3.2.1. Types des radicaux libres	11
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	12
4.1. Activité anti radicalaire par la méthode de diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH)	12
4.1.1. Définition	12
4.1.2. La méthode du test DPPH.....	12
4.2. Test de la réduction du fer FRAP	12
4.3. Test de B- carotène	13
Chapitre3 : Activité antimicrobienne	14
1. Les antibiotiques	14
1.1. Définition.....	14
2. les principes actifs antimicrobiens	14
2.1. Les principes actifs antibactériens	14
2.2. Les principes actifs antifongiques	15
2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	16
2.1. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes	16
2.1.1. Test d'inhibition.....	16
2.1.2. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme	16
2.1.3. Technique de micro dilution : détermination de la CMI.....	17
1. Etudes de <i>Ruta chalepensis</i>	20
1.1. Les rendements de <i>Ruta chalepensis</i>	20
1.2. Activité antioxydante de <i>Ruta chalepensis</i>	20
1.3. Activité antimicrobienne de <i>Ruta chalepensis</i>	21
2. Etude de <i>Ruta graveolens</i>	23
2.1. Les rendements de <i>Ruta graveolens</i>	23
2.2. Activité antioxydante de <i>Ruta graveolens</i>	23
2.3. Activité antimicrobienne de <i>Ruta graveolens</i>	23
3. Etude de <i>Ruta montana</i>	25
3.1. Les rendements des extraits de <i>Ruta montana</i>	25
3.2. Activité antioxydante de <i>Ruta montana</i>	26
3.3.1 Activité antibactérienne	27
3.3.2. Activité antifongique	28
4. Comparaison entre les espèces végétales.....	29
Conclusion.....	31
Les références bibliographiques	

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture et besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier, chez l'homme sont très anciennes et ont toujours été faites de façon empirique (Svoboda *et al.*, 2000). Les plantes médicinales présentent une grande diversité des substances à activité antioxydants comme les composés phénoliques, les alcaloïdes qui exercent d'autres effets biologiques dont l'effet antimicrobien (Cai *et al.*, 2004).

Le genre *Ruta* (Rutaceae) comprend plus de 1800 espèces, il se trouve principalement dans les régions tropicales et tempérées, Plusieurs espèces sont assignées au genre *Ruta* parmi lesquelles figurent *R. graveolens* L., *R. chalepensis* L., *R. montana* qui sont utilisés dans la médecine traditionnelle (Pollio *et al.*, 2008).

Le genre *Ruta* est utilisé contre l'hypertension, pour traiter l'hystérie, contre les maux d'oreille et maux de tête, appliqué extérieurement en cataplasme, contre les douleurs rhumatismales (Armando, 2005). Antiseptique (contre : *Bacillus*, *Candida*, *Escherichia*, *Microsporium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*).

L'objectif de ce travail est d'effectuer une étude comparative de l'efficacité entre quelques extraits organiques des espèces de la plante *Ruta* (*Ruta chalepensis* ; *Ruta montana* ; *Ruta graveolens*), et étudier leurs activités antioxydante et antimicrobienne.

Ce travail comporte essentiellement trois parties :

- Une synthèse bibliographique comprenant trois chapitres, dont le premier est réservé pour la présentation des plantes étudiées, le deuxième donne un aperçu général sur l'activité antioxydante, et enfin un chapitre réalisé sur l'activité antimicrobienne.
- Une partie expérimentale comporte une étude comparative de l'efficacité entre les différents extraits préparés dans des travaux récents.
- Ensuite, la présentation des résultats et leur comparaison, et enfin, Une conclusion rassemblant les différents résultats de notre étude.

Partie théorique

Chapitre1 : généralité sur les plantes

1. La famille de Rutaceae

La famille des Rutaceae comprend environ 1 500 espèces de répartition cosmopolite, mais néanmoins essentiellement tropicales et subtropicales. Celles-ci sont regroupées en 155 genres, dont les plus importants sont : *Zanthoxylum*, *Melicope*, *Agathosma*, *Boronia*, *Citrus*, *Ruta* (Botineau, 2010).

1.1 Caractères botanique

Ce sont des arbres et des arbustes, parfois lianoïdes. Plus rarement des herbes (*Dictamnus*). Les plantes sont parfois épineuses. Les feuilles, non stipulées, souvent persistantes ou coriaces, sont habituellement alternes, opposées chez le jaborandi, rarement verticillées, composées-imparipennées à trifoliées, parfois unifoliées (*Citrus*), parfois pennatiséquées (*Ruta*), ou composées palmées. Le limbe est marqué de points translucides, surtout sur les bords. Le rachis et le pétiole des feuilles unifoliées sont parfois ailes et articulés (Botineau, 2010).

1.2 Genre *Ruta*

Le nom "Ruta" vient du mot grec "reuo", qui signifie libérer, montrant sa réputation comme un libérateur des maladies (AbuHamdah, 2001).

Ce genre est constitué d'environ 60 espèces (Al-Sagair, 2004). Ces espèces sont des arbustes caractérisés par des feuilles vertes grisâtres, une forte odeur et un goût amer (Tounsi *et al.*, 2011). Certains auteurs les considèrent comme des plantes uniquement cultivées mais il existe des formes sauvages qui se distinguent légèrement de celles cultivées par leurs feuilles et tiges plus courtes et rugueuses, leur odeur et goût plus forts. *Ruta* spp, se propage par une bouture d'une branche ou d'autres parties de la plante et rarement par les graines (Pollio *et al.*, 2008). Plusieurs espèces sont assignées au genre *Ruta* parmi lesquelles figurent *Ruta graveolens* L., *R. chalepensis* L., *R. chalepensis* sous-espèce *angustifolia*, *R. montana* ou *R. corsica*. Cependant, les espèces du genre *Ruta* ne sont pas toujours définies de manière uniforme et les limites entre les espèces sont donc floues (Lièvre, 2004). Elles sont réparties dans le bassin méditerranéen. Certaines espèces sont endémiques et sont trouvées uniquement dans l'île de

Canari et la Corse et d'autres s'étendent à l'Afrique, l'Asie, et l'Amérique (Pollio *et al.*, 2008).

2. Position systématique des plantes

2.1. Position systématique de *Ruta chalepensis* (Wiart, 2006; Bonnier, 1999; Takhtajan, 2009)

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta (plantes vasculaires)*

Super division : *Spermatophyta (plantes à graine)*

Division : *Magnoliophyta (plantes à fleurs)*

Sous division : *Angiospermae*

Classe : *Magnoliopsida (dicotylédons)*

Sous classe : *Rosidae*

Super ordre : *Rutanae*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Rutaceae*

Genre : *Ruta*

Espèce : *Ruta chalepensis*L.



Figure 1: *Ruta chalepensis* (Duke *et al.*, 2008).

2.2 Position systématique de *Ruta montana*

(Bonnier, 1999 ; Wiart, 2006 ; Takhtajan, 2009)

Règne : Plante

Sous règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)

Super division : Spermatophyta (plantes à graine)

Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs)

Sous division : Angiospermae

Classe : Magnoliopsida (dicotylédons)

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : *Ruta*

Espèce : *Ruta montana*



Figure 2 : *Ruta montana* L. (19 juin 2007 par Daniel Mathieu).



Figure 3: *Ruta graveolens* L. (Hammiche et Azzouz, 2013)

3. Noms vernaculaires

3.1. Noms vernaculaires de *Ruta chalepensis*

Plusieurs appellations ont été attribuées à *Ruta chalepensis* L. Dépendant du pays et de la langue. Elle est appelée communément Rue ou Ruda (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2006). En Algérie, elle est appelée Fijel ou Fidjel en arabe (Boudjelal *et al.*, 2013), Egyptien rue en Egypte, Ruta en Italie (Leto *et al.*, 2013), Ciladami en Ethiopie (Mesfin *et al.*, 2009). Plusieurs autres noms sont utilisés pour désigner la plante : Rue d'Alep, Aleppo rue, Syrian rue, Fringed rue, Garden Rue, Herb of Grace (Cartas Heredia *et al.*, 2011).

3.2. Noms vernaculaires de *Ruta montana*

C'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq. ; *Ruta Lenuifolia* Gouan) ou bonne rue (Bonnier, 1999), appelée vulgairement en Algérie : *fidjlet el-djbel* ou *Fidjela* a une odeur fétide très intense (Baba Aissa, 1999) ou encore *Fijel* (la rue sauvage) (Lahsissen *et al.*, 2009). Autre appellations comme la Rue puante, péganion, herbe de grâce, plante de bonheur, rue de la bible (Cousin, 1999).

3.3. Noms vernaculaires de *Ruta graveolens*

Graveolens vient du latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Doerper, 2008). Appelée aussi rue officinale, rue-puante, rue fétide, rue des jardins, herbe à la belle-fille, rue des murailles (Bonnier, 1999) et également péganion (LE Moine, 2001), cette espèce est appelée vulgairement *Fidjen* (Abdulbasset et AbdeTawab, 2008).

4. Usage traditionnel et médicinal

Les plantes de genre *Ruta* sont utilisées pour favoriser la menstruation, comme contraceptif, contre l'hypertension, pour traiter l'hystérie, soulager les symptômes de Hangover, contre les maux d'oreille et maux de tête, un antiseptique pour la peau et produits anti-moustiques, appliqué extérieurement en cataplasme contre les douleurs rhumatismales. La rutine, un composé isolé de la rue, un flavonoïde, qui a été suggéré avoir les propriétés antioxydants et à réduire les niveaux de triacylglycérol. Aussi les plantes de ce genre ont des propriétés antifongiques et insecticides, contiennent des flavonoïdes qui possèdent une activité antibactérienne et des effets cytotoxiques (Armando, 2005).

R. chalepensis est utilisé dans la médecine traditionnelle dans nombreux pays pour le traitement de diverses maladies (Iauk *et al.*, 2004).

Autres activités sont citées par (Duke *et al.* (2008) ; Analgésique; Anti fertilité; Anti-inflammatoire; Antiseptique (contre : *Bacillus*, *Candida*, *Escherichia*, *Microsporium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*) ; Antispasmodique ; Bactéricide; Candidicide; Cardiotonique; Insectifuge; Molluscicide; Stomachique; Sudorifique; Vermifuge; Vulnéraire ; antipyrétique, antiparasitaire et l'extraits aqueux de la rue a une activité hypotensive par un effet direct sur le système cardiovasculaire.

Ruta montana est utilisée dans la médecine traditionnelle comme hypoglycémique, antirhumatismale, anthelminthique, antiépileptique, antispasmodique, diurétique et Antipyrétique (Hammiche et Azzouz, 2013).

Chapitre2 : Activité antioxydante

L'utilisation des molécules antioxydants de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (Tadhani *et al.*, 2007).

1. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Yanishlieva *et al.*, 1999).

1.1. Types des antioxydants

Il existe deux catégories des antioxydants :

1.1.1. Les séquestrant de métaux et les phagocytes de radical libre

Les séquestrant de métaux précipitent un métal ou suppriment sa réactivité en occupant tous les sites de coordination ; les phagocytes de radical libre comprennent l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyanisole butylé (BHA), les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C). En plus des substances propres à l'organisme (Keïta, 2002).

1.1.2. Antioxydants naturels

1.1.2.1. Les flavonoïdes

Présentes dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments poly phénoliques qui sont responsable dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie.

Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les relations structure - activités antioxydantes des flavonoïdes et des

composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor, 2002).

1.1.2.2. Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Igor, 2002).

1.1.2.3. Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydants (Igor, 2002).

1.1.2.4. Les xanthonnes

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthonnes sont essentiellement : leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase (Sidibé, 2003).

2. Classification des antioxydants

2.1. Antioxydants naturelles

2.1.1. Antioxydants enzymatique

La cellule est pourvue de systèmes de défense très efficaces. Plusieurs enzymes peuvent catalyser des réactions de détoxification des différents pro-oxydants. Les antioxydants enzymatiques sont capables d'éliminer les radicaux libres primaires de façon permanente et

efficace, en transformant l'anion OH° et le H_2O_2 en produits non toxiques : l'eau et l'oxygène moléculaire. Les antioxydants enzymatiques sont principalement trois enzymes : la superoxyde dismutase, la catalase et les peroxydases (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Divers piègeurs de radicaux libres non enzymatiques peuvent prendre en charge la détoxification d'un grand nombre de radicaux libres. Ces composés sont facilement oxydables, relativement stables et conduisent à des dismutations permettant l'arrêt des réactions radicalaires en chaîne. Ce système de protection peut être à la fois membranaire (vitamine E, A) ou cytosolique et extracellulaire (glutathion, vitamine C). Certains éléments minéraux exercent indirectement un rôle antioxydant en agissant comme des cofacteurs. Ainsi le cuivre, le zinc et le fer sont des cofacteurs pour le superoxyde dismutase, le fer est également un cofacteur pour la catalase et le sélénium est le cofacteur du glutathion-peroxydase (Delattre *et al.*, 2003).

Aussi, parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Gee et Johnson, 2001).

2.2. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 2000).

3. Stress oxydant

3.1. Définition

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydant de l'organisme (Beaudeau et Durand, 2011). La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement

prématuré (Belaïch et Boujraf, 2016). Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose.

3.2. Les radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins. (Leverve, 2009). Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde (Gambini et Granier, 2013), car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable. (Fontaine *et al.*, 2002). Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

3.2.1. Types des radicaux libres

3.2.1.1. Les radicaux libres primaires

Les radicaux libres primaires sont les plus dangereux car ils sont directement formés à partir de l'O₂ (Reichl *et al.*, 2004). L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ERO). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde (O^{•2-}), radical hydroxyle (OH[•]), monoxyde d'azote (NO[•]) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulier (½ O₂), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le peroxydinitrite (ONOO⁻) (Favier, 2003).

3.2.1.2. Les radicaux libres secondaires

Ils ne sont pas formés spontanément, ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines). Ce sont les radicaux alkoxy (RO[•])- et peroxy (ROO[•])- qui se forment lors du métabolisme d'un certain nombre de substances étrangères (xénobiotiques). Ainsi, des composés tels que le 1,2-

dibromométhane (additif présent dans l'essence), ou le paracétamol peuvent être métabolisés en radicaux libres, et être ainsi la cause de lésions dans l'organisme (Reichl *et al.*, 2004).

4. Evaluation d'activité antioxydante

4.1. Activité anti radicalaire par la méthode de diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH)

4.1.1. Définition

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. De nombreuses méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer cette activité. Le radical DPPH a été largement utilisé pour l'étude de l'activité anti radicalaire des différents extraits végétaux. Le composé 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Sous sa forme radicalaire, le DPPH \cdot absorbe à 517 nm, mais après réduction par un antioxydant (AH) ou un radical R \cdot , l'absorbance disparaît (Sanchez- Moreno, 2002).

4.1.2. La méthode du test DPPH

Cette mesure a été réalisée selon la méthode décrite par (Stéphanie *et al.*, 2009).

Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire (Rolland, 2004).

4.2. Test de la réduction du fer FRAP

La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe $^{3+}$) présent dans le complexe K $_3$ Fe(CN) $_6$ en fer ferreux (Fe $^{2+}$) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe $^{3+}$) à la couleur bleue - vert du fer ferreux (Fe $^{2+}$). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Allouni, 2018).

4.3. Test de B- carotène

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Dans ce test la capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Laguerre *et al.*, 2007).

Chapitre3 : Activité antimicrobienne

Les plantes synthétisent plus de 100000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (Tegos *et al.*, 2002 ; Lewis et Ausubel, 2006). Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées des plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons. En effet, une molécule phytochimique est considérée comme « antimicrobienne » si elle inhibe la croissance des micro-organismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 µg/ml et 1000 µg/ml. Pour les antibiotiques d'origine microbienne, des CMI, variant de 0.01 µg/ml à 10µg/ml, suffisent à générer une activité inhibitrice (Tegos *et al.*, 2002).

1. Les antibiotiques

1.1. Définition

Le terme « antibiotique » (issu des termes grecs *anti*, signifiant « contre » et *bios*, « vie ») a été créé à la fin du 19e siècle. Il désignait initialement toute substance faisant preuve « d'antagonisme », en faible concentration, envers les organismes vivants en général. Au milieu du 20e siècle, la définition a été restreinte à toute substance d'origine naturelle produite par un microorganisme (habituellement une bactérie ou une moisissure) capable d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres microorganismes. Depuis, de nombreuses molécules antibiotiques ont été synthétisées ou modifiées en laboratoire. Quelle qu'en soit l'origine, deux caractéristiques importantes sont nécessaires pour qu'une substance soit qualifiée d'antibiotique : être efficace à faible dose et avoir une toxicité spécifiquement dirigée envers un groupe de microorganismes; donc, être non toxique pour les cellules de l'hôte (Chevalier, 2012).

2. les principes actifs antimicrobiens

2.1. Les principes actifs antibactériens

Les phénols sont les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre: thymol, carvacrol et eugénol.

Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation.

Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa* (Zhiri, 2006).

Les alcools avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en terme d'activité, avec le géraniol, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol pour les plus connus. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes (Zhiri, 2006).

Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont le néral et le géraniol (des citrals), le citronnellal et le cuminal (Zhiri, 2006).

Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes. Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique (Zhiri, 2006).

De nombreuses familles de molécules ont montré in vitro une activité antivirale et, parmi elles, les monoterpénols et les monoterpénals. Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques et de nombreuses pathologies virales sévères montrent des améliorations importantes avec leur utilisation (Zhiri, 2006).

2.2. Les principes actifs antifongiques

Les polyphénols sont des composés principaux antimicrobiens des plantes, ayant des modes d'action diverses et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'une grande catégorie de microorganismes procaryotes et eucaryotes (bactéries et champignons) (Cowan, 1999).

La majorité des polyphénols ont une activité antifongique très puissante. (Orturno, 2005) a démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones de *Citrus paradisi* et de *Citrus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. Aussi, les flavonoïdes de *Conyzaaegyptica L.* ont une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses: *Microsporiumcanis*, *M.gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida zeylanoïdes* (Batawita, 2002).

2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne, in vitro : une méthode de diffusion en disque dans un milieu gélosé et les méthodes de dilution (méthode de micro-dilution en bouillon pour les bactéries et *C. albicans*, la méthode de dilution en milieu gélosé pour les champignons), selon le Comité national des normes du laboratoire clinique. Les zones d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la gentamicine et de l'amphotéricine B ont été également déterminées dans des expériences parallèles afin de contrôler la sensibilité des micro-organismes d'essai. Tous les tests ont été effectués en triple (Chaouche *et al.*, 2016).

2.1. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes

2.1.1. Test d'inhibition

Les différents extraits organiques des plantes sont solubilisés dans le DMSO, et les extraits aqueux sont dissouts dans de l'eau distillée stérile. La gélose appropriée est coulée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre et inoculée avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée. Deux boîtes sont utilisées pour chaque souche. Un disque de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre est imbibé de 30 µl d'extrait (reconstitué selon la concentration voulue) puis déposé à la surface de la gélose ensemencée, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 34 °C (Yakhlef *et al.*, 2011).

Dès l'application des disques imprégnés, l'extrait diffuse de manière uniforme, et après 24 heures d'incubation, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande plus le germe est sensible (Yakhlef *et al.*, 2011).

2.1.2. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait (Yakhlef *et al.*, 2011).

2.1.3. Technique de micro dilution : détermination de la CMI

Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations d'extrait dans le milieu de culture. D'après la méthode rapportée par (Billerbeck *et al.*, 2002), une solution mère de chaque extrait (d'une concentration finale de 10 % = 0,1 g/ml) est obtenue en DMSO, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée extemporanément en DMSO à partir de la solution mère. Deux millilitres de chaque dilution sont alors incorporés à 38 ml de milieu MH (bactéries) ou de Sabouraud (levure), maintenu en surfusion. Les mélanges sont immédiatement répartis dans deux boîtes de pétri à raison de 20 ml de milieu par boîte. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à 0,5 – 0,25 – 0,125 – 0,0625 – 0,0312 – 0,0156 – 0,0078 – 0,0039 – 0,0019 et 0,0010 %. Après solidification, l'inoculation des géloses, contenant l'extrait ou non (témoin), est effectuée en surface sous forme de dépôts de 1 μ l (réalisés à l'aide d'une micropipette). Pour les bactéries, la CMI a été déterminée seulement pour les extraits les plus actifs constatés lors de l'étude en milieu solide (dont les diamètres d'inhibition sont \geq 20 mm). Dans une boîte contenant le produit dans le milieu MH, plusieurs dépôts ont été effectués (une concentration d'extrait pour toutes les souches).

Pour la levure, un seul dépôt est réalisé par boîte contenant l'extrait dans le milieu Sabouraud. Des témoins de croissance et de stérilité du milieu sont réalisés pour chaque souche et chaque série d'essais. Tous les essais sont réalisés deux fois. Après incubation à 35 °C pendant six jours, la croissance est comparée à celle du témoin. La CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans extrait (Billerbeck *et al.*, 2002).

Pour les champignons filamenteux, les CMI ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu gélosé (Merghache, 2012). Les souches testées ont été cultivées dans l'agar de dextrose de pomme de terre (PDA), dans des boîtes de Pétri, pendant 5-7 jours. Les extraits testés, dissous dans du DMSO à 1%, ont été utilisés à différentes concentrations. Chaque concentration a été mélangée avec le milieu PDA semi-solide et stérile et ensuite versé dans des boîtes de Pétri stériles (15 ml dans chaque plaque). Un disque de 6 mm de diamètre de la gélose recouverte de mycélium a été placé sur la surface de la gélose. Les plaques ont été incubées pendant 5-7 jours à 28 °C. Deux répétitions ont été faites pour chaque test. L'amphotéricine B a été utilisée comme composé de référence (Chaouche *et al.*, 2016).

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Etudes de *Ruta chalepensis*

1.1. Les rendements de *Ruta chalepensis*

Dans les études élaborées sur *Ruta chalepensis*, l'extraction des composés phénoliques a été effectuée par des solvants de polarité différents (méthanol, éthanol, acétate d'éthyle, butanol, acétone et l'eau distillée) à l'aide de la macération et soxhlet qui donne des rendements en proportion varie selon les solvants utilisés :

L'étude de (ElhoudaCherif et Alou, 2015) a montré que la double macération permet d'obtenir un extrait brut méthanolique avec un rendement de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Ruta chalepensis* est de 20,83%.

Le protocole d'extraction des flavonoïdes utilisé par (Madani et Moukhas, 2019) montre que le rendement de la fraction en substances solubles dans le n-butanol est le plus important avec un rendement 9%. Par contre la fraction d'acétate d'éthyle est faible 5%

La recherche de (Gali, 2014) de deux variétés cultivée et sauvage montre que le rendement d'extraction est influencé par le type de solvant , L'acétone a donné le rendement faible 9.311% et 9.49% des deux variétés respectivement , par contre l'éthanol et l'eau distillée ont donnés des rendements moyen de 16,7-17,057% et 17,077-18,17% des deux variétés respectivement.

1.2. Activité antioxydante de *Ruta chalepensis*

La capacité antioxydante de différents extraits bruts est déterminée par la disparition de la couleur des réactifs utilisés (B-carotène, DPPH), cette décoloration explique la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libre qui s'exprime par IC50 (définit comme la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, plus la valeur de IC50 est petite, plus l'activité des extraits est grande).

Selon les résultats obtenu par (ElhoudaCherif et Alou, 2015) l'extrait brut de *Ruta chalepensis* est doté d'un pouvoir antioxydant intéressant, son IC50 est de $0,155 \pm 0,00115$ mg/ml 2 fois moins actif que le BHT qui présente un IC50 de 0.087 ± 0.001 mg/ml. On peut dire que l'extrait brut présente une activité antioxydante intéressante. Mais Cette activité reste

néanmoins nettement inférieure à celle de l'acide gallique, mais il s'agit d'extrait brut contenant un grand nombre des composés différents.

Le test de B-carotène a confirmé que l'extrait brut de *Ruta chalepensis* a une activité inhibitrice importante avec une activité antioxydante de 68.72 ± 1.96 % mais cette valeur d'activité reste inférieure à celle du contrôle positif BHT qui représente $92.11 \pm 7,54$ % d'activité inhibitrice. L'activité antioxydante enregistrée d'extrait brut.

La recherche de (Madani et Moukhas, 2019) a révélé les IC50 des différents extraits testés par rapport à ceux de l'acide ascorbique, nous remarquons que les deux fractions flavoniques obtenus de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* ont une activité moins importante que le contrôle positif, mais l'extrait butanolique est plus actif que celui d'acétate d'éthyle avec des IC50 de 1,193mg/ml et de 6,41mg/ml respectivement.

D'autres part, les résultats obtenus par les chercheurs (Ouerghemmi *et al.*, 2016) ont montré que l'échantillon des feuilles sauvages et des feuilles de *Ruta* cultivées et l'extrait des fleurs a une activité réductrice élevée avec des IC50 : 0.90mg/ml, 0.92mg/ml et 1.10mg/ml respectivement suivi par l'extrait des tiges de 1.96mg/ml et 2.05mg/ml pour l'échantillon sauvage et cultivée respectivement.

L'étude de (Fakhfakh *et al.*, 2012) a révélé que l'extrait aqueux et éthanolique ont des effets réductrices stables avec des valeurs des IC50 varient entre 0.12 à 0.22 mg/ml à cause de leurs richesse en composés phénoliques.

A partir de l'évaluation de l'activité scavenger du radical DPPH° exprimée en termes d'IC50, on constate que les extraits de la variété sauvage exercent une activité scavenger vis-à-vis du DPPH° plus importante que les extraits correspondant à la variété cultivée. Les extraits éthanoliques étant les plus puissants parmi les autres extraits ($51,18 \pm 1,14$ et $79,54 \pm 0,78$ µg/ml). Les extraits aqueux ont des IC50 supérieures à 100µg/ml qui montrent des pourcentages d'inhibition inférieurs à 50% à cette concentration (Gali, 2014)

1.3. Activité antimicrobienne de *Ruta chalepensis*

La méthode des disques et de contact direct permettent de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des extraits exercé sur des souches bactériennes Gram- : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et les souches Gram+ *Staphylococcus aureus* et aussi les souches fongiques *Fusarium culmorum*, *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* et la

levure *Candida albicans*. L'activité antimicrobienne de l'extrait quantifiée par la présence ou l'absence de zone d'inhibition.

On remarque d'après l'étude de (Elhouda Cherif et Alou, 2015) Le plus grand diamètre de croissance mycélienne de *F.culmorum* et *Penicillium* sp a été enregistré en absence de l'extrait (témoin) avec un diamètre de croissance de 80 mm et 22 mm respectivement. Les différentes concentrations (25, 50, 100 mg/ml) de l'extrait augmentent le pourcentage d'inhibition, où le diamètre de croissance s'est abaissé de 80 mm (témoin) à 55, 36 et 34 mm, qui sont équivalents aux taux d'inhibition de 31.25 %, 55 % et 57.5 % à l'ordre pour *F.culmorum* et de 22mm (témoin) à 15,11 et 10 mm qui sont équivalents aux taux d'inhibition de 31.81%, 50 % et 54.54 % pour *Penicillium* sp, donc cette plante a une activité antifongique intéressante.

L'application du test antimicrobien sur *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui est mentionné par (Ouerghemmi *et al.*, 2016) a présenté des résultats qui se diffèrent d'un extrait à l'autre, notant que l'extrait de l'échantillon sauvage et cultivée de *Ruta chalepensis* exerce une activité inhibitrice marquante et l'extrait de tige particulièrement efficace sur *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition de 16.3mm et 17.7mm qui est proche de l'antibiotique standard de gentamycine, d'autre part; l'extrait de *Ruta chalepensis* de tige cultivée exerce une grande inhibition sur *Escherichia coli*.

D'autres part; la recherche de (Gali, 2014) a mentionné que l'extrait éthanolique de la variété sauvage à une concentration de 50 mg/ml inhibe la croissance d'*Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 11.5mm.

Staphylococcus aureus et *Pseudomonas aeruginosa* sont très sensibles à l'extrait acétonique et l'extrait éthanolique de la variété cultivée (*Pseudomonas aeruginosa* 15mm et 11.5mm et *staphylococcus aureus* de diamètre 15mm et 9mm) respectivement. D'après les résultats de l'activité antifongique obtenus, les extraits de *Ruta chalepensis*.L sont uniquement actifs contre la levure *Candida albicans* et sont inactifs contre les souches filamenteuses *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

En ce qui concerne pour *Candida albicans* l'extrait éthanolique de la variété cultivée montre des zones d'inhibition plus importantes par rapport à l'extrait acétonique de la même variété à toutes les concentrations. Alors que, l'extrait acétonique de la variété sauvage est plus actif

que l'extrait éthanolique de la même variété de la plante à la concentration de 10mg/ml et 50mg/ml. L'extrait aqueux inactif sur ces micro-organismes.

2. Etude de *Ruta graveolens*

2.1. Les rendements de *Ruta graveolens*

D'après l'étude de (Belaid et Bellil, 2017) L'extraction des composés organiques de *Ruta graveolens* par une sonication a révélé un rendement de l'ordre de 1.86 % ; Alors que de l'extrait alcoolique a donné un rendement de 34.18% selon (Aljaiyash *et al.*, 2014)

Ces rendements sont très élevés à cause de la polarité des solvants utilisés.

2.2. Activité antioxydante de *Ruta graveolens*

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode de DPPH et B-carotène ; dans une étude faite par (Belaid et Bellil, 2017) était d'une $IC_{50}=5,61\pm 0,139$ mg/g en utilisant le test du DPPH et le résultat de B-carotène de même extrait était de $1,99\pm 0,21$ mg/g, cela est due probablement au contenu des extraits en polyphénols qui ont un pouvoir antioxydant.

2.3. Activité antimicrobienne de *Ruta graveolens*

Étude de (Sivaraj *et al.*, 2011); montre que l'activité antibactérienne de différents extraits (Extrait d'éther de pétrole, Extrait d'éthanol, Extrait aqueux) varie d'un extrait à l'autre, l'extrait éthanolique applique une activité inhibitrice plus élevée avec une zone d'inhibition de 16mm sur *E.coli* puis *Salmonella typhi* de 15mm l'extrait d'éther de pétrole est plus actif sur *Klebsiella pneumonia* et *Salmonella typhi* qui présentent des zones d'inhibition égal de 13mm. L'extrait aqueux a une activité faible (avec un diamètre varie de 6.5mm à 10 mm) par rapport à l'extrait éthanolique et d'éther de pétrole.

L'activité antibactérienne contre *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* évaluée par la méthode de disque (évaluation de zone d'inhibition) sur un milieu Muller Hinton selon (Narayan et Murthy, 2015), L'extrait de chloroforme a une activité antibactérienne plus élevée sur *E.coli* avec une zone d'inhibition de 24 mm, 18 mm pour *Bacillus subtilis*, 14 mm pour *Staphylococcus aureus* et 8mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Sur les même souches bactériennes l'activité d'extrait méthanolique exerce une inhibition de diamètre égal de 17mm sur *E. coli* et *Bacillus subtilis*, et l'extrait éthanolique applique un effet inhibiteur semblable sur ces souches ; Alors que l'extrait aqueux est inactif sur ces souches.

(Aljaiyash *et al.*, 2014) montre que *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumonia* sont très sensibles à l'extrait alcoolique de *Ruta graveolens* (16 et 17 mm respectivement). *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition égale à 14mm.

L'application des extraits d'éther de pétrole, éthanolique et l'extrait aqueux des feuilles sur *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum* montre a montré que : l'extrait aqueux des feuilles est considéré comme un fongicide naturel contre *Fusarium oxysporum* avec une zone d'inhibition de 7 ± 0.25 mm ; l'extrait d'éther de pétrole et éthanolique sont inactifs sur les filaments étudiés (Sivaraj *et al.*, 2011).

3. Etude de *Ruta montana*

3.1. Les rendements des extraits de *Ruta montana*

L'extraction des principes actifs des plantes médicinales a été faite par plusieurs méthodes macération, infusion, soxhlet et en utilisant différents solvants organiques et à différentes températures. Les rendements des extraits bruts des solvants (méthanol, acétate d'éthyle, éther de pétrole, butanol et eau) sont à des proportions variées entre eux.

Le meilleur solvant d'extraction selon (Kara, 2017) est le méthanol dû à sa polarité élevée qui permet d'extraire un pourcentage élevé de composés organiques, les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait méthanoïque est de 53.43 % par rapport au poids sec de la poudre végétale. Cependant, le rendement des extraits (fractions) issus de l'extrait méthanoïque montre que l'extrait butanolique représente le rendement le plus élevé (03,92%) qui extrait une quantité considérable des flavonoïdes, suivi par les solvants de polarité faible l'extrait éther de pétrole (02,35%), et le rendement le plus faible (0,55%) qu'est obtenu par l'extrait d'acétate d'éthyle.

Ces résultats sont vraiment confirmés par les travaux qui ont été faits par (Allouni, 2018) qui a utilisé la méthode de macération par le méthanol à partir des feuilles et des graines qui a permis d'obtenir des rendements en extraits bruts variables selon la partie de la plante où la quantité des molécules extraites est supérieure dans les feuilles (6,46%) par rapport aux graines (5,52 %).

L'extraction liquide-liquide des alcaloïdes totaux des parties aériennes de *Ruta montana* donne un rendement de 0,27%, un rendement très faible en comparaison avec les rendements en extrait brut. Cela est dû préalablement au solvant utilisé d'une part et d'autre part à la richesse de *Ruta montana* en substances solubles dans le méthanol. Donc les feuilles et les graines de *Ruta montana* sont très riches en polyphénols.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, liquide-liquide des alcaloïdes, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant.

3.2. Activité antioxydant de *Ruta montana*

Cette activité est habituellement représentée par la valeur IC₅₀, définie comme la concentration de l'antioxydant nécessaire pour récupérer 50% du DPPH présent dans la solution d'essai.

Selon (Kara, 2017); les résultats de l'activité antioxydant par le test DPPH de différents extraits montre que l'extrait d'acétate d'éthyle (EAERM) possède l'effet le plus élevé parmi les autres avec une IC₅₀ = 0.126 ± 0.002 mg/ ml, suivi par l'extrait butanolique (EBRM) IC₅₀ de 0.135 ± 0.0006 mg/ ml, et enfin l'extrait de l'éther de pétrole (EEPRM) qui est le plus faible parmi ces extraits avec une IC₅₀ d'environ 0.185± 0.002 mg/ ml, (la concentration faible à une activité réductrice élevée). Comparant avec la quercétine (molécule standard) inférieur de 13, 14 et 19 fois, respectivement.

Dans une autre étude l'extrait aqueux et l'extrait méthanoïque possède presque la même capacité réductrice de IC₅₀ = 0.945±0.15 mg/ml et 0.961±0.09 mg/ml respectivement. Ils sont comparés au standard utilisé dans notre étude celle d'acide ascorbique ou la valeur est de l'ordre de 0,16 mg/ml. Il a été montré que l'extrait aqueux (EA) et l'extrait méthanoïque(EM) de *Ruta montana* possédant presque la même capacité antioxydant. Alors, (Bahar et Bendjlidjel, 2019) ont conclu que le pouvoir antioxydant des extraits aqueux et méthanoïque sont d'un effet moyens à faibles en général par rapport l'IC₅₀ de l'acide ascorbique.

Cela est en accord avec les travaux menés par (Merghem *et al.*, 2019) ont montré que l'administration orale de l'extrait aqueuse (300 mg / ml) et de l'extrait méthanoïque (100 mg / ml) conduit à l'augmentation de la capacité antioxydant du plasma 18,13 ± 5,366% et 17,57 ± 5,869% respectivement. Cette augmentation n'est pas significatif statistiquement par rapport au groupe témoin 13,65 ± 1,46%.

À des fins comparatives, (Allouni, 2018) a trouvé que un antioxydant standard a été utilisé (l'acide ascorbique) a une activité anti radicalaire très puissante avec IC₅₀ de 4,14 ± 0,31 µg/ml, et l'extrait méthanoïque des feuilles a exprimé l'activité antioxydant la plus élevée (IC₅₀ 38,61 ± 0,9259 µg/ml) par rapport à l'extrait brut des graines (EBG), qui a donné de IC₅₀ de 44,1 ± 4,397 µg/ml, qui est bien meilleur que celui produit par l'extrait alcaloïdique qui présente une activité anti radicalaire plus au moins faible (IC₅₀ de l'ordre de 96,87 ± 0,31 µg/ml).

L'activité antioxydant a été évalué en utilisant la méthode de (FRAP) les travaux réalisés par (Allouni ,2018) mentionne que l'extrait méthanoïque des feuilles est également le plus actif avec une densité optique de 0.370nm, suivis par l'extrait des grains 0.276 nm et l'extrait alcaloïdique 0.206 nm, à une concentration de 300 µg/ml.

D'après les résultats obtenus qui expriment la capacité réductrice d'extrait méthanoïque des feuilles, des graines, et des alcaloïdes totaux par rapport à l'acide ascorbique, on a constaté que le pouvoir réducteur des extraits augmentait avec l'augmentation de leurs concentrations. Tous les extraits présentaient une activité antioxydants nettement faible par rapport à la vitamine C de référence ; ce dernier attient un pouvoir réducteur presque total à 200 µg/ml.

Ces résultats confirment ceux obtenus par le test DPPH dont les extraits méthanoïques ont des activités antioxydants puissantes en comparaison avec les alcaloïdes totaux de la plante.

3.3. Activité antimicrobienne de *Ruta montana*

3.3.1. Activité antibactérienne

Selon les travaux de (Allouni ,2018) ; l'activité antibactérienne des différents extraits de *Ruta montana* a été évaluée contre les bactéries Gram-positives (*B. cereus* et *S.aureus*) et Gram-négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*) en utilisant la méthode de diffusion sur disque, une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extraits végétaux .

L'étude de (Allouni, 2018) ; a montré que tous les extraits de *Ruta montana* ont empêché la croissance des bactéries testés avec un diamètre de zone d'inhibition qui augmente proportionnellement avec les concentrations des échantillons testés. L'inhibition obtenue sur les souches de bactéries varie de 6,5 à 34,5; de 6,5 à 34,46 et de 6,5 à 32,5 mm pour l'extrait alcaloïdique, extrait méthanoïque des graines et des feuilles respectivement. Il s'est avéré que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis des trois extraits notamment *Bacillus cereus*, tous les extraits ont empêché la croissance des bactéries testés avec une concentration CMI=3,125mg/ml qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 6,5mm. L'effet de ces extraits est plus important que ceux obtenus avec les antibiotiques standards utilisés.

Les alcaloïdes totaux de *Ruta montana* ont exercé un effet inhibiteur important de la croissance bactérienne contre *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium* à différentes concentrations et contre *S. aureus* avec la concentration de 200 mg/ml par rapport aux extraits bruts. Avec

l'extrait alcaloïdique *B. cereus* présente une extrême sensibilité ($34,5 \pm 1,5$) suivi par *E. coli*, *S. typhimurium* en suite *S. aureus* à une concentration de 200 mg/ml.

Suivi par *E. coli*, *S. typhimurium* ($24,5 \pm 0,5$ mm et $22,5 \pm 0,5$ mm respectivement) ; ces zones sont proche à ceux enregistré sous l'action de SXT ($24,2$ mm et 21 mm respectivement), cependant l'Extrait alcaloïdique inhibe également la croissance de *S. aureus* (25 ± 1 mm).

Les extraits bruts (EBF et EBG) ont montré une sensibilité extrême de *B. cereus* ($32,5 \pm 1,32$ et $34,46 \pm 0,57$) suivi par *S. typhimurium* ($21,66 \pm 2,51$ et $21,66 \pm 0,57$), *S. aureus* ($19,66 \pm 0,57$ et $19,16 \pm 0,28$) et *E. coli* ($18,66 \pm 0,57$ et $20,5 \pm 0,5$) respectivement.

3.3.2. Activité antifongique

Selon (Allouni, 2018) ; les résultats de l'étude antifongique des différents extraits de *Ruta montana*; indiquent que la sensibilité d'*Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* est accrue en fonction de l'augmentation de la concentration.

Tous les extraits de *Ruta montana* ont présenté une activité antifongique modérée contre les champignons testés. Selon les résultats *Aspergillus niger* est plus sensible aux différents extraits de *Ruta montana* avec un taux d'inhibition de 60,77 % avec l'EBG, de 57,11 % avec l'EBF et de 56% avec l'EAT à une concentration de 200 mg/ml alors que l'effet de ces extraits sur *Fusarium oxysporum* est apparu meilleur avec l'extrait des alcaloïdes totaux avec des taux d'inhibition importante 55% à une concentration de 200 mg/ml par rapport aux extraits méthanoïques EBF et EBG (43,33% et 37,55%) respectivement .Cependant aux différentes concentrations l'EBF et l'EAT inhibent mieux la croissance d'*A. niger* en comparaison avec l'EBG .

4. Comparaison entre les espèces végétales

Les études des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits organiques préparés à partir de trois genre de la plante *Ruta* ont permis de faire une comparaison entre les rendements de chaque extrait et les activités biologiques.

Ruta montana est très riche en polyphénol. Le méthanol grâce à sa polarité il permet d'extraire un pourcentage élevé des composés organiques que ce soit l'extrait des feuilles ou des grains ou la partie arienne. EMF= 6,46% ; EMG=5,52% ; l'extrait de la partie arienne égal de 53.43 % de ces espèces. Alors que les autres solvants ont permis d'avoir des rendements variables selon le degré de polarité où l'extrait aqueux est mieux que l'acétate d'éthyle et enfin l'éther de pétrole.

Chaque extrait a permis d'extraire un groupe des composants chimiques, tel que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes, on remarque que *Ruta montana* est très riche en polyphénols.

L'activité antioxydante des différents extraits bruts généralement évaluée par IC50 (la concentration fiable à une activité réductrice élevée) :

pour l'espèce de *Ruta chalepensis* on observe que l'extrait éthanolique , méthanolique et aqueux ont des IC50 plus faibles : 0.22mg/ml, 0.15mg/ml et 0.12mg/ml respectivement, donc ils ont une forte activité antioxydante , alors que des concentrations inhibitrices (IC) ont été déterminer sur d'autres extraits , IC50=5,61±0,139 mg TE/g E de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle pour *R.graveolens*. D'autre part les résultats d'activité antioxydante de test DPPH de différents extraits de *Ruta montana* montre que l'extrait d'acétate d'éthyle possède l'effet le plus puissant parmi les autres extraits de IC50= 0.126 ± 0.002 mg/ ml.

On observe : L'extrait d'acétate d'éthyle de *Ruta montana* et l'extrait aqueux de *Ruta chalepensis* ont un effet réductrice de IC50= 0.12mg/ml qui sont égales et plus faibles par apport IC50 de l'extrait de *Ruta graveolens*. Donc ces deux espèces possèdent la même efficacité réductrice. Considérablement l'activité anti radicalaire des extraits des plantes est probablement liée à leur contenu en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins.

La comparaison de l'effet antimicrobien entre les espèces a accédé que tous les souches bactériennes et *candida albicans* sont sensibles à l'extrait de *Ruta chalepensis* et *Ruta*

montana, en remarquant que l'espèce *Escherichia coli* est très sensible à l'extrait méthanolique.

Salmonella typhi, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* sont les plus sensibles aux différents extraits (extrait d'éther de pétrole, aqueux, éthanolique, chloroforme, alcoolique) de *Ruta graveolens* avec des zones d'inhibition variant entre 9mm et 24mm.

Les extraits de *Ruta graveolens* des feuilles et l'extrait de *Ruta chalepensis* sont considérés comme des fongicides naturels contre *Fusarium oxysporum* avec une zone d'inhibition de 7 ± 0.25 mm pour l'extrait de *Ruta graveolens*. *Aspergillus niger* est très sensible aux extraits de *Ruta montana*.

Conclusion

L'ensemble de ces travaux étudiés ont basé sur le pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits de *Ruta chalepensis*, *Ruta montana* et *Ruta graveolens*.

Dans un premier lieu l'extraction des polyphénols de différents parties des plantes étudiées (feuilles, tige, grain, ou bien tout la partie arienne) à partir des méthodes différentes a permis d'avoir des rendements varient entre eux. Le méthanol présente le solvant le plus utilisé dans ces études et donne des rendements plus probables. La partie arienne de ces espèces est très riche en principes actifs.

La partie de la plante étudiée, solvants d'extraction, les conditions et la durée d'extraction influence directement sur le rendement d'extrait.

L'analyse de la capacité antioxydante des différents extraits de *Ruta* (*Ruta chalepensis*, *Ruta montana*, *Ruta graveolens*) selon la méthode de réduction de fer, B-carotène et celle de piégeage du radical libre DPPH en montre que les polyphénols de ces espèces présente un bon effet antioxydant. L'activité réductrice ne dépend pas seulement sur la concentration des composés organiques, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans les extraits.

L'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée par la méthode de disque et le contact direct et selon les résultats : tous les souches microbiennes sont sensibles à ces différents extraits.

Ruta graveolens est plus active sur les bactéries Gram- (*Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*).

Finalement tous ces résultats indiquent bien que les polyphénols de ces espèces de *Ruta* pourront être utilisés comme des antioxydants ou bien pour la lutte microbienne (champignons et bactéries pathogènes).

Les références bibliographiques

- Abdul basset, M. E. S ET AbdeTawab, A. H. (2008). Medicinal herbal guide; Ed: Alfa Publishing, p: 428 - 429.
- Abu-Hamdah SM. (2001). Pharmacognostical and phytochemical identification of selected medicinal plants commonly used in Jordan. M.Sc.Thesis, University of Jordan.
- Aljaiyash, A. A., Gonaid, M. H., Islam, M., ET Chaouch, A. (2014). Antibacterial and cytotoxic activities of some Libyan medicinal plants. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 4(2), 43-51.
- Allouni, R. (2018). Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmaco toxicologiques de la plante *Ruta montana*. 126page.these de doctorat, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.
- Al-Sagair, O. (2004). Experimentally Challenged Reactivity of the Pituitary-Adrenal-Hematological Axis after *Ruta chalepensis* Administration. *Journal of Applied Research*, 4(4).
- Armando, G.S. (2005). Medicinal plants, the leaves and the flowers. México Desconocido.
- Baba aissa F. (1999) : Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA, 243 - 244.
- Bahar Fatima et bendjlidjel Hayet. (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant d'une plante médicinale *Ruta montana* collectée de la région de Mostaganem. 67page. memiore de master. Département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.
- Batawita K., Kokon K., Akpagona K., Koumaglo K. et Bouchet P., (2002) : Activité antifongique d'une espèce en voie de disparition de la flore togolaise: *Conyzaa egyptiaee*. Cité par Akroum S (2006), *mémoire de magister*, université de Constantine, 58.

- **Beaudeux J-L, durand.G., (2011). “Biochimie médicale Marqueurs actuels et perspectives (2e Ed.)” . ; médecine sciences publications / lavoisier, Année 9/2011.**
- **Belaïch, R. And boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des Maladies Métaboliques, 10(1), pp.38-42.**
- **Belaïd Ahlam et bellil Hafida Nawel(2017). Propriétés antioxydants et anti-inflammatoires des polyphénols de la rue fétide *Ruta graveolens*. 27page.memiore de master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.**
- **Billerbeck VG, Roques C, Vanière P, Marquier P (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d’huiles essentielles. Hygiènes 3(10): 248–51.**
- **Bonnier, G.1999. La Grande flore en couleur; Ed : Belin; Tome 3; p:205 - 206.**
- **Bottineau, M. (2010). Botanique, systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier, Paris, p: 772-773.**
- **Boudjelal A., Henchiri C., Sari M., Sarri D., Hendel N., Benkhaled A. and Ruberto G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M’Sila (North Algeria): An ethno pharmacology survey. *Journal of Ethno pharmacology*, 148(2): 395-402.**
- **Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., et Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184.**
- **Cartas Heredia L., Mascher D., Juarez Oropeza M.A., Farias J. and Cristina Paredes Carbajal C. (2011). Effects of the chronic ingestion of an infusion of *Ruta chalepensis* on the vasomotor responses of rat aortic rings. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10 (5): 414 – 422.**
- **Chaouche, T. M., haddouchi, F., zerhouni, K., ET Adel, S. Y. (2016). Évaluation de l’activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysumstoechassubsp. rupestre*. *Afrique SCIENCE*, 12(3), 144-150.**

- Chevalier, P. (2012). L'usage des substances antimicrobiennes en production animale position des experts et des gouvernements. Institut national de santé publique. Québec.
- Cowan M-M., 1999: Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4): 564-582.
- Delattre J., Durand G. et Jardillier J.C., (2003). Biochimie pathologique aspects moléculaires et cellulaires. 2ème édition. Ed. Médecine-science Flammarion, Paris.
- Doerper, S. (2008). Thèse Doctorat « Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens*L. par une approche de génie métabolique », p: 39-41.
- Duke A.J., Duke P.A.K. et Duce J.L.(2008). Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible; Ed: CRC PRESS; p: 394 – 397. Ed: World scientific, p: 401 - 416.
- Elhouda Cherif, N., & Alou, H. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* de la région de Bordj Bou Arreridj .32page mémoire de master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algérie.
- Fakhfakh, N., Zouari, S., Zouari, M., Loussayef, C., ET Zouari, N. (2012). Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis* L. (Rutacea). *Journal of Medicinal Plants Research*, vol.6 (4), 593-600.
- Favier A., (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. 108-115.
- Fontaine, E., barnoud, D., schwebel, C. And leverve, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. *Réanimation*, 11(6), PP.411-420.
- Gali, L., (2014). Activités antioxydants et antimicrobienne des extraits de deux variétés de *Ruta chalepensis* L.70 pages.mémoire de magstaire, *Département de la Biologie Physico-chimique Laboratoire de la Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie*.

- Gambini, J., granier, R. (2013). Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection:1-20.
- Gee J.M. & Johnson I.T., (2001). Polyphenol compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Curr. Med. Chem.* 8: 1-182.
- Gonzalez-Trujano, M.E., Carrera, D., Ventura-Martinez, R., Cedillo-Portugal, E., Navarrete, A., (2006). Neuropharmacological profile of an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. In mice. *J. Ethnopharmacol.* 106, 129–135.
- Hammiche, V., et Azzouz, M. (2013).les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité. *Phytothérapie*, 11(1) ,22-30.
- Iauk, L., Mangano, K., Rapisarda, A., Ragusa, S., Maiolino, L., Musumeci, R., Costanzo, R., Serra, A., Speciale, A. (2004). Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. *J. Ethnopharmacol.* 90, 267–272.
- Igor Passi L B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagarazanthoxylodes*Lam. (*Rutaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P.
In Hippocratic medicine and present practices. *J Ethnopharmacol.*116:469–482.
- Kara Ali, W. (2017). Effet des extraits de la plante médicinale *Ruta montana* (الفيجل) sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules cancéreuses ovarien (A2780).126page. these de Doctora, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Department de Biologie Animale, Université des Frères Mentouri ,Constantine,Algerie.
- Keïta R. (2002). Etude de l'activité antifongique et antioxydant de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie, Bamako ; 107p.
- Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. (2007).Evaluation of the ability of antioxydants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progression in Lipid Research.* 46 (5):244- 82.
- LE Moine, E. 2001. Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : Moliere (Paris), p : 92.
- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M.,(2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *Presse med.* 30(21): 1076-1081.

- Leto C., Tuttolomondo T., La Bella S. and Licata M. (2013). Ethno botanical study in the Madonie Regional Park (Central Sicily, Italy)—Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *Journal of Ethnopharmacology*, 146: 90–112.
- Leverage, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), pp.219-224.
- Lewis, K., Ausubel, F. M., (2006). Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology*, vol. 24, n° 12, pp. 1504-1507.
- Lièvre, K. (2004). *Modification de la composition en molécules pharmaceutiques (furocoumarines) de la Rue officinale (Ruta graveolens) par transformation génétique* (Doctoral dissertation).
- Madani Hafsaâ et Moukhas Fadéla. (2019). Etude phytochimique et Evaluation de l'activité Antioxydant des fractions flavoniques de la plante *Ruta chalepensis* L. de la région d'Ain Témouchent. 55 page .mémoire de master, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Universitaire Belhadj Bouchaib, Ain-Temouchent, Algérie.
- Merghache D, Boucherit-Atmani Z, Boucherit K. (2012). Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). *Phytothérapie* 10: 215–21.
- Merghem, M., Dahamna, S., et Khennouf, S. (2019). In Vivo Antioxidant Activity of *Ruta montana* L. Extracts. *Journal of Materials and Environmental Sciences* .Volume 10, Issue 5, Page 470-477.
- Mesfin F., Demissew S. and Teklehaymanot T. (2009). An ethnobotanical study of medicinal plants in Wonago Woreda, SNNPR, Ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5:28.
- Narayanappa M et SinivasaMurthy K M. (2015). Phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of *Ruta graveolens* L.-A medicinal plant grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia. *International Journal of Advanced Research* Volume 3, Issue 4, 1224-1229.
- Ouerghemmiines, Bettaiebrebeyines, rahali fatmazohra, bourgou soumaya, pistelliluisa, ksouririadh, marzouk brahim, saidanitounsi moufida (2016). Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of food and drug analysis*, 25(2), 350-359.

- Pollio A., De Natale A., Appetiti E., Aliotta G. and Touwaide A. (2008). Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *Journal of Ethnopharmacology*, 3(116): 469–482.
- Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419-424.
- Sidibé F. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de *Stereospermum kunthianum* Cham. (*Bignoniaceae*). Thèse de Pharmacie, Bamako ; 79 P.
- Sivaraj, R., Balakrishnan, A., Thenmozhi, M., ET Venckatesh, R. (2011). Antimicrobial activity of *Aeglemarmelos*, *Ruta graveolens*, *Opuntiadellini*, *Euphorbia royleena* and *Euphorbia antiquorum*. *Journal of Pharmacyresearch*, 4(5), 1507-1508.
- Stephanie D, Xavier V, Philippe C, MarionW, Jean-Michel M.,(2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, TEAC, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J.Agric. Food Chem.*, 57: 1768–1774.
- Svoboda, K., Svoboda, T. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Microscopix Publications, p: 7-12.
 - Takhtajan, A. (2009). Flowering Plants; Ed 2: Springer; p: 33 - 41, 375.
 - Tegos, G., Stermitz, F. R., Lomovskaya, O., Lewis, K., (2002). Multidrug Pump Inhibitors Uncover Remarkable Activity of Plant Antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 46, n° 10, pp. 3133-3.
- Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A., et Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial crops and products*, 33(3), 617-623.
- Wiart, C. (2006). Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 401 - 416.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., ET Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209.

- **Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H. ET Raneva V.G., (1999).Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chem. 64: 59–66.**
- **Yu R., Mandlekar S. ET Tony Kong A.N.,(2000). Molecular mechanisms of butylatedhydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. Mol. Pharmacol. 58: 431- 437**
- **Zhiri, A. (2006) ; Aromathérapie ; Nutranews ; Ed: FONDATION LIBRE CHOIX ; p: 2-16.**