



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi – Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie appliquée

N° d'ordre :.....

N° de série :.....

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADÉMIQUE

Filière : Sciences biologiques

Option : pharmaco-Toxicologie

Thème

Evaluation de l'activité antimicrobienne, antioxydant et antidiabétique des extraits de *Ruta graveolens (L.)*, de la région de Constantine

Présenté et soutenu par :

Douaa GOABI

Nadjette MEBARKIA

Radia AOUABED

Devant le jury composé de :

Président : Rachid ROUABHI Professeur Université Larbi Tébessi-Tébessa

Promotrice : Nadia DJERMANE MCB Université Larbi Tébessi-Tébessa

Examinatrice : Nassima AZZIZI MAA Université Larbi Tébessi-Tébessa

Année universitaire 2022 /2023

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

Remerciements

A vant tout, louange à Dieu qui nous a guidées sur le droit chemin tout au long du travail et Nous avons inspiré les bons pas et les justes reflexes.

Sans sa miséricorde, ce travail n’aura pas abouti.

Nous tenons à présenter nos très sincères remerciements à notre encadreur de mémoire

Dr .Djermane Nadia pour avoir accepté de nous encadrer dans ce travail.

Son soutien, son encouragement, sa bienveillance et les critiques pertinentes qui nous ont été

Précieuses tout au long de ce travail.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury d’avoir accepté de juger ce travail.

Pr.Rouabhi Rachid , et *Dr.Azzizi Nassima*

Sans oublier à exprimer tous nos reconnaissances et remerciements à :

Tous les professeurs qui ont ménagé des efforts pour mener à bien notre formation. Vos

Qualités d'éducateurs et votre amour du métier font de vous de précieux guides.

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, Je dédie ce travail Aux êtres les plus chers : Mes parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A mon paradis, à la prunelle de mes yeux à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma source de vie d'amour et d'affection, ma moitié
maman

A mon support qui était toujours à mes coté pour mes soutenir et m'encourager à mon prince *Papa* Toute l'encre, du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher ; Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence,

A ma chère frère *Nadjib* pour l'amour qu'il me réserve

A ma chère sœur *Noussaïba* pour son encouragement permanent, et leur soutien moral

A ma grande sœur *Bassma* qui n'ont pas cessé de me conseiller

A mon adorable petite sœur *Rihab* qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille

A mes chères tantes *Djadla , Naïma et Saïda*

Aux âmes de mon grand-père *Cheïkh Allama mohamed Al-Eid Lemita* et ma chère oncle *el Arbi* dieu accord la paix à son âme

Sans oublié mes chères amis *Radia, Najette, Chaïma , Hana*

A tout ce qui ont participé à ma réussite et a tous qui m'aiment.

Douaa Goabi

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu aboutir et voir la lumière sans l'aide de dieu le tout puissant.

À la mémoire de mon père *MEBARKIA SADDEK* qui nous a quitté pour pas Longtemps, qui aurait été si fier me voir réussir....

A toi *ma mère*, toi qui me comble d'amour et d'affection, Ensemble vous avez su m'encourager et me soutenir tout au long de mes études. Que dieu vous protège

A vous mes chers frères : *WALID, LOTFI*

A vous tous mes chères sœurs : *AHLAM, NAWAL, NOURA.*

A vous mes adorables amis (es) : *DOUAA, RADIA*

Et à toute sa famille *MEBARKIA*

Nadjette Mebarkia

Dédicace

En exprimant ma gratitude, je dédie cet humble travail qui n'aurait pas abouti et vu le jour sans l'aide du Dieu Tout-Puissant à ceux à qui, quels que soient les termes adoptés, je ne pourrai jamais exprimer mon amour sincère.

A mon père, que Dieu ait pitié de lui *Rabeh* Qui nous a quitté pour pas longtemps, qui aurait été si fier me voir réussir...

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit Non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre Heureuse : mon adorable mère *Merieme*

A mon cher frère : *Aymen*

A mes chères sœurs : *Ahlem , Nour EL Houda*

A Tous ma famille de ma mère

A Ma famille de mon père : *AOUABED Hama, AZIZI Kamel, Nouredine ,
BOUALAG Youcef*

Aux amis de mon père : *Dr. Kamel , Abd El Aziz*

A mes adorables amis (es) : *Hana , Riheb , Samia, Yasmine*

Sans oublier mon Trinôme *Douaa , Nadjette* pour leur soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Merci pour votre soutien et vos encouragements

Radia Aouabed

Résumé

Résumé

Dans la présente étude, *in vitro*, l'activité antimicrobienne, l'activité antioxydante, et l'activité antidiabétique des différents extraits (EChL, EAcE, EBUOH et EMeOH) préparés à partir de *Ruta graveolans* (L.) de Constantine ont été étudiés. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre six souches bactériennes, il s'agit de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27853), *Serratia marcescens* (ATCC 14756), et la méthode de contact direct contre deux souches fongiques, il s'agit de *Fusarium oxysporum* et *Botrytus sp.* L'effet antioxydant a été déterminé par le test du DPPH, le test d'ABTS, la méthode de FRAP, et la méthode de Phenanthroline. L'activité antidiabétique a été évaluée vis-à-vis l'enzyme alpha-amylase. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a montré que les extraits sont peu actifs pour l'ensemble des souches bactériennes testées, les souches les plus sensibles sont *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Serratia marcescens* (Gram négatif) en présence de l'extrait d'acétate éthylique et l'extrait chloroformique. Cependant, tous les extraits ont révélé une bonne activité d'inhibition de la croissance mycélienne de deux souches fongiques testées. En ce qui concerne, l'activité antioxydante, les extraits méthanolique ont montré une grande capacité à inhiber les radicaux DPPH et ABTS (70,90 et 68,25 mg ET/g d'extrait respectivement), suivi par les extraits butanolique (57,85 et 55,86 mg ET/g d'extrait respectivement). Cependant, la méthode de FRAP a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus actif (29,14 et mg ET/g d'extrait), et la méthode de phenanthroline a montré que l'extrait méthanolique est le plus actif (16,46 mg ET/g d'extrait). L'activité antidiabétique a montré un effet inhibiteur remarquable contre alpha-amylase dont l'extrait méthanolique était le plus actif avec un pourcentage d'inhibition de $69,74 \pm 0,69$ % à 400 µg/ml comparable à celle de l'acarbose ($53,05 \pm 1,59$ % à la même concentration). En conclusion, ces résultats peuvent être considérés comme très prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antimicrobiens et antioxydants et antidiabétiques dans les extraits actifs.

Mots clés : *Ruta graveolans* (L.), extraits organiques, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité antidiabétique.

Abstract

In this study, the antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of different extracts (EChL, EAce, EBUOH, and EMeOH) prepared from *Ruta graveolens* (L.) from Constantine were investigated in vitro. The antimicrobial activity was evaluated by the agar diffusion method against six bacterial strains, including *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27853), and *Serratia marcescens* (ATCC 14756), and by the direct contact method against two fungal strains, *Fusarium oxysporum* and *Botrytus sp.* The antioxidant effect was determined using the DPPH test, ABTS test, FRAP method, and Phenanthroline method. The antidiabetic activity was evaluated against the alpha-amylase enzyme. The evaluation of antimicrobial activity showed that the extracts were moderately active against all tested bacterial strains, with *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and *Serratia marcescens* (Gram-negative) being the most sensitive strains in the presence of ethyl acetate and chloroform extracts. However, all extracts exhibited good inhibition activity against the mycelial growth of the two tested fungal strains. Regarding antioxidant activity, methanol extracts showed a high capacity to inhibit DPPH and ABTS radicals (70.90 and 68.25 mg TE/g of extract, respectively), followed by butanol extracts (57.85 and 55.86 mg TE/g of extract, respectively). However, the FRAP method showed that the ethyl acetate extract was the most active (29.14 mg TE/g of extract), and the Phenanthroline method showed that the methanol extract was the most active (16.46 mg TE/g of extract). The antidiabetic activity showed a remarkable inhibitory effect against alpha-amylase, with the methanol extract being the most active, exhibiting an inhibition percentage of $69.74 \pm 0.69\%$ at 400 $\mu\text{g/ml}$, comparable to that of acarbose ($53.05 \pm 1.59\%$ at the same concentration). In conclusion, these results can be considered very promising and justify further research, including the identification of antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic components in the active extracts.

Keywords: *Ruta graveolans* (L.), organic extracts, antimicrobial activity, antioxidant activity, antidiabetic activity.

المخلص

في هذا العمل، تمت دراسة النشاط المضاد للميكروبات والنشاط المضاد للأوكسدة والنشاط المضاد للسكري للمستخلصات المختلفة (الكلوروفورم ، الميثانول ، البيتانول ، الاسيتات ايثيل .) المحضرة من نبات *Ruta graveolens* (L.) من قسنطينة. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار في وسط الأفار ضد ست سلالات بكتيرية وهي (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ، *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990) ، *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27853) ، *Escherichia coli* (ATCC 25922) ، *Serratia marcescens* (ATCC 14756) ، وبإستخدام طريقة الاتصال المباشر ضد سلالتين فطريتين وهما *Fusarium oxysporum* و *Botrytus sp.* . كما تم تحديد النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام الاختبارات : DPPH , ABTS, FRAP, Phenanthroline. تم تقييم النشاط المضاد للسكري مقابل إنزيم Alpha amylases. أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات أن المستخلصات غير فعالة بشكل عام ضد جميع سلالات البكتيريا المختبرة، وأن السلالات الأكثر حساسية هي *Staphylococcus aureus* (موجبة الغرام) و *Serratia marcescens* (سالبة الغرام) في وجود مستخلص الاسيتات الإيثيلي والكلوروفورم. ومع ذلك، أظهرت جميع المستخلصات نشاطاً جيداً في منع نمو الفطرين المختبرين. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأوكسدة، أظهرت المستخلصات الميثانولية قدرة كبيرة على منع الجذور الحرة DPPH بقيمة (70.90mg ET/g) ABTS (68.25mg ET/g) على التوالي، تليها المستخلص البيتانولي (57.8 mgET/g) و (55.86mg/gET) على التوالي . (ومع ذلك، أظهرت طريقة FRAP أن مستخلص الاسيتات الإيثيلي هو الأكثر فعالية (29.14mgET/g)) من المستخلص (، وأظهرت طريقة Phenanthroline أن المستخلص الميثانولي هو الأكثر فعالية (16.46mgET/g) من المستخلص .(أظهر النشاط المضاد للسكري تأثيراً مثبطاً ملحوظاً ضد إنزيم Alpha amylases، وكان المستخلص الميثانولي الأكثر فعالية مع نسبة تثبيط قدرها $0.69 \pm 69.74\%$ في تركيز 400 ميكروغرام/مل، وهذا مقارنة بالأكاربوز ($1.59 \pm 53.05\%$ في نفس التركيز). في الختام، يمكن اعتبار هذه النتائج واعدة جداً وتبرر استمرار البحث، يمكن اختبار المستخلصات لتحديد المضادات للميكروبات والأوكسدة والسكري في المستخلصات الفعالة.

الكلمات المفتاحية (L.) *Ruta graveolens* : المستخلصات العضوية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد

للأوكسدة، النشاط المضاد للسكري

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction général.....1

PREMIERE PARTIE SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:Etude de la plante selectionnée

I.1. La famille <i>Rutaceae</i>	4
I.1.1.Généralité.....	4
I.1.1.1.Description botanique	4
a. Les feuille.....	4
b. Les fleurs.....	4
c. Les carpelles.....	5
d. Les Fruits.....	5
e. Les Graines.....	5
I.1.1.2. Position systématique.....	5
I.1.1.3. Distribution géographique	6
I.1.1.4. Les principaux genres de <i>Rutacées</i>	7
I.1.1.5. Utilisation pharmacologique	8
I.1.1.6. Toxicité	9
I.1.1.7. Le genre d'espèce <i>Ruta</i>	9
I.1.1.7.1. Position systématique	13
I.1.8. L'espèce de <i>ruta graveolens</i>	13
I.1.8.1. L'origine de nom	13
I.1.8.2. Description botanique	14

a. feuilles	14
b. Les fleurs	14
c. Les fruits	14
I.1.8.3. Distribution géographique	14
I.1.8.4. Utilisation et intérêt économique	15
I.1.8.5. Toxicité de <i>Ruta graveolens</i>	16
I.1.8.6. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	16

CHAPITRE II : Substances bioactives et activités biologiques

II.1. Les substances bioactives.....	17
II.1.1. Généralités	17
II.1.2. Rôle de métabolites secondaire	17
II.1.3. Classification	18
II.1.3.1. Les composés phénoliques	18
a. L'origine	19
b. les aliments riches en polyphénol	19
c. Fonction de polyphénol chez les plantes	19
d. Propriété	19
e. Classification	20
II.1.3.3. Les huiles essentielles.....	27
a. Définition	27
b. Composition chimique	27
c. Les propriétés physique et chimique de l'huile essentielle	30
d. Utilisation pharmacologique	31
e. Toxicité des huiles essentielles	31
f. Extraction des huiles essentielles	32
II. 2. Les activités biologiques étudiées	34
II.2.1. Activité antimicrobienne	34
II. 2.1.1 Les micro-organismes étudiés	34
II.2.1.2. Les antimicrobiens.....	40
II.2.2. Activité antioxydant	41
II.2.2.1. Généralité	41
II.2.2.2. Définition de stress oxydant	41
II.2.2.4. Les conséquences du stress oxydant.....	42

II.2.2.5. Les radicaux libres.....	42
a. Définition	42
b. Principe source de production des radicaux libre.....	42
c. Les différents types des ROS	43
d. Rôle de radicaux libre	44
II. 2.2.6. Les systèmes antioxydants	45
II. 2.2.6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques	45
a. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes.....	45
b. Les Systèmes antioxydants non enzymatiques	46
II.2.3. Activité antidiabétique.....	46
II.2.3.1. Généralité	46
II.2.3.2. Le diabète sucré.....	47
II.2.3.3. Diabète gestationnel	48
II.2.3.4. Diabète secondaire (spécifique)	48
II.2.3.5. Diagnostic du diabète sucré.....	49
II.2.3.6. Traitement du diabète sucré.....	49

DEUXIEME PARTIE

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel et méthodes

III Matériel et Méthodes	54
III.1. Matériel.....	54
III.1.1. Matériel végétal.....	54
III.1.2. Matériel du test de l'activité antimicrobienne.....	54
III.1.2.1. Les souches microbiennes et les milieux de cultures	54
III.2. Méthodes.....	55
III.2.1. Extraction par des solvants organiques	55
III.2.2. Calcul de rendement des extraits.....	56
III.2.3. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimicrobienne.....	56
III.2.3.1. Détermination de l'activité antibactérienne	56
III.2.3.2. Détermination de l'activité antifongique	56
III.2.4. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydant.....	57
III.2.4.1. Test de DPPH.....	57

III.2.4.2. Test de l'ABTS	58
III.2.4.3. Test de FRAP	59
III.2.4.3. Test du Phenantroline.....	60
III.2.5. Activité anti alpha-amylase.....	61

Chapitres IV : Résultats et discussion

IV Résultats et discussion.....	68
IV.1. Rendement d'extraction	68
IV.2. Activité antimicrobienne.....	69
IV.2.1. Activité antibactérienne	69
IV.2.2. Activité antifongique	72
IV.3. Activité antioxydante	75
IV.3.1. Test de DPPH.....	75
IV.3.2. Test d'ABTS	77
IV.3.3. Test de FRAP.....	78
IV.3.4. Test de phenanthroline.....	80
V.4. Activité antidiabétique	81

Conclusion générale

Liste des références

Listes d'abréviation

> : Supérieur

± : Plus ou moins

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µg ET/mg : Microgramme d'équivalent de Trolox par milligramme d'extrait sec

µg/ml : Microgramme par milliliter

µl : Micro litre

1O2 : Oxygène singulet

ABTS : L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ADN : L'Acide désoxyribonucléique

AMPc : L'Adénosine MonoPhosphate Cyclique

AO : Agents Oxydants

ARN : L'acide ribonucléique

ATCC : American type culture collection

ATPase : Adénosine triphosphatases

Ca⁺⁺ : Calcium

CAT : Catalase

CCl₃COOH : Acide trichloracétique

CMB : La concentration minimale bactericide

CMI : La concentration minimale inhibitrice

CRBt : Centre de recherche en biotechnologie

DL50 : La dose létale médiane

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : Diphényl picryl-hydrazyl

DT1 : Le diabète de type 1

EACE : Extrait d'acétate d'éthyle

EBuOH : Extrait n-butanolique

EChL : Extrait chloroformique

EMeOH : Extrait méthanolique

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

Fe²⁺ : Fer Ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

FeCl₃/K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

FRAP : Ferrique réduire pouvoir antioxydant

GI : Gastro-intestinal

GPP : Géranyl-pyrophosphate

GPx : La glutathione peroxidase

H₂O : Eau²

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HE : Huile Essentielle

HGPO : L'hyperglycémie provoquée par voie orale

HOO: Radical hydroperoxyde

HSV: L'herpès simplex virus

HV : Hypervirulentes

Mg : Milligramme

MI : Milli Litre

Mm : Milli mètre

NADPH : Nicotinamide d'Adénosine Dinucléotide Phosphate

Nm : Nanomètre

NO• : Monoxyde d'azote

O₂• : L'anion superoxide

OH• : Le radical Hydroxyle

OMS : Organisation Mondial de la Santé

PCR : Polymérase Chaîne Réaction

PDA : Potato-Dextrose-Agar

Prx : Peroxyrédoxines

R : Radical

RE : Le réticulum Endoplasmique

RL : Radicaux Libres

RO : Radical alkoxyde

ROO: Radical peroxide

ROOH: Hydro peroxide

SO : Stress Oxydatif

SOD : La superoxyde dismutase

Trx : Thio rédoxine

TrxR : Thiorédoxine reductase

UV : Ultraviolet

VIH : Le Virus de l'immuno déficience humaine

VRS: Le Virus Respiratoire Syncytial

Listes des figures

Figure 1 : les caractéristiques morphologique de <i>rutacées</i>	5
Figure 2 : diagramme traduire la nouvelle classification des <i>rutacées</i>	6
Figure 3 : répartition géographique de la famille <i>rutaceae</i>	7
Figure 4 : Dessin de quelque espèces de genre <i>Ruta</i>	9
Figure 5 : <i>Ruta graveolens</i>	14
Figure 6 : L'aire de répartition de la rue commune (<i>Ruta graveolens</i>).....	15
Figure 7 : Structure chimique de flavonoïde	20
Figure 8 : Structure chimique des tanins hydrolysables et des tanins condensés	22
Figure 9 : Structure chimique de acide phénol.....	23
Figure 10 : structure chimique de coumarine.....	24
Figure 11 : Structure chimique de stilbene.....	25
Figure 12 : structure chimique de lignane	26
Figure 13 : structure chimique des alcaloïdes : théine	27
Figure 14 : Structure de l'unité isoprénique.	28
Figure 15 : Structures chimiques de quelques composés monoterpéniques	29
Figure 16 : Structures chimiques de quelques composés.....	29
Figure 17 : Structures chimiques de quelques composés.....	30
Figure 18 : <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Figure 19 : <i>Escherichia coli</i>	35
Figure 21 : <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
Figure 22 : <i>Serratia marcescens</i>	37
Figure 23 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	38
Figure 24 : <i>Fusarium oxysporum</i>	39
Figure 25 : <i>Botrytis</i>	40
Figure 26 : l'origine et les conséquences biologiques du stress oxydant.....	42
Figure 27 : Plan de la partie expérimentale.....	53
Figure 28 : Représentation photographique de la plante <i>Ruta graveolens L.</i> et localisation de sa région de récolte.....	54
Figure 29 : Protocole de préparation de différents extraits bruts de <i>Ruta graveolens</i>	55
Figure 30 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test DPPH.....	58
Figure 31 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test ABTs	59
Figure 32 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test Frappe.....	60
Figure 33 : Courbe d'étalonnage Trolox phenantroline	61
Figure 34 : Rendements des divers extraits bruts en pourcentage Par rapport au poids total ...	68
Figure 35 : Diamètres des zones d'inhibitions de différents types d'extraits de la partie aérienne de <i>R.graveolens</i>	70
Figure 36 : Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées	70
Figure 37 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de S.g sur la roissance de champignon <i>F.oxysporum</i>	73

Figure 38 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>Ruta.graveolans</i> sur la croissance de champignon <i>Botrytis sp.</i>	74
Figure 39 : Test de DPPH sur microplaque.....	76
Figure 40 : Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de <i>R.graveolans</i> vis-à-vis du radical DPPH.....	76
Figure 41 : Test d'ABTS sur microplaque.....	77
Figure 42 : Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de <i>Ruta.graveolans</i> vis-à-vis du radical ABTS.....	78
Figure 43 : Test de FRAP sur microplaque.....	79
Figure 44 : Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de <i>Ruta.graveolans</i> par le test FRAP.....	79
Figure 45 : Test de phenanthroline sur microplaque.....	80
Figure 46 : Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de <i>Ruta.graveolans</i> par le test de phenanthroline.....	80
Figure 47 : Aspect de microplaque correspondant au test d'inhibition d'alpha-amylase	81

Liste des tableaux

Tableau 1 : la classification classique de la famille <i>rutaceae</i>	5
Tableau 2 : Les principaux genres de <i>rutacées</i>	7
Tableau 3 : Quelques utilisations des espèces de la famille <i>Rutaceae</i>	8
Tableau 4 : Quelques Usages et caractéristiques du <i>Ruta</i>	10
Tableau 5 : Classification taxonomique du genre <i>Ruta</i>	13
Tableau 6 : Toxicité et principes actifs des plantes.....	16
Tableau 7 : Composition chimique de <i>Ruta graveolens L.</i>	16
Tableau 8 : Classification des terpènes	28
Tableau 9 : principales sources des radicaux libres.	43
Tableau 10 : Les principales espèces réactives de l'oxygène.	44
Tableau 11 : les antidiabétiques oraux et leurs modes d'actions	50
Tableau 12 : Rendements des huiles essentielles et des divers extraits bruts en pourcentage Par rapport au poids total.	68
Tableau 13 : Sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis les extraits de <i>Ruta.graveolans L.</i> , la gentamycine et le DMSO.....	71
Tableau 14 : Pourcentages d'inhibitions de la croissance fongique induite par différents extraits de la partie aérienne de <i>Ruta.graveolans</i>	73
Tableau 15 : Effet des différents extraits de <i>Ruta graveolans</i> vis-à-vis l'enzyme α -amylase .	82

INTRODUCTION

GENERALE

La résistance aux antibiotiques est devenue un grand problème dans la santé publique. Elle cause une crise dans beaucoup d'hôpitaux partout dans le monde. La recherche des médicaments anti-infectieux s'avère un besoin inéluctable (**Cushnie et Lamb, 2011**).

En outre, les effets nuisibles du stress oxydant sur la santé publique sont devenus un problème grave. Les antioxydants de synthèse, tels que le BHA et le BHT ont été utilisés couramment comme antioxydants dans l'industrie alimentaire et peuvent être responsables des dommages du foie et de la carcinogénèse (**Djeridane et al., 2010**). Cela conduit les chercheurs à recouvrir des nouveaux médicaments à base de produits naturels aux propriétés antioxydants souvent moins ou sans effets indésirables.

Plusieurs recherches antérieures ont examiné le rôle du stress oxydatif sur l'apparition et le développement de la maladie du diabète. En effet, les radicaux libres sont susceptibles de provoquer des changements métaboliques et contribuent le plus souvent à un dommage oxydatif des composants cellulaires tels que les protéines, les lipides et les acides nucléiques, en stimulant alors l'apparition de cette maladie chronique. (**Ihara et al., 1999 ; Noguchi, 2007, Evans et al., 2002, Naziroğlu et Butterworth, 2005**).

Dans certaines parties du monde en particulier les pays pauvres, avant l'avènement des injections d'insuline et d'autres préparations pharmaceutiques, les populations orientaient vers les remèdes traditionnels considérées comme antidiabétiques. Dans ce contexte, plus de 1200 plantes ont été répertoriées pour être expérimentalement utilisées dans le traitement du diabète. (**Kambouche et al., 2009**).

La flore algérienne regroupe de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques. C'est pourquoi nous sommes intéressés à effectuer une étude pharmacologique d'une plante médicinale locale d'intérêt thérapeutique.

La présente étude a pour objectif la valorisation de la plante *Ruta graveolans* (L.) de la région d'Elkhroub (Constantine, Algérie) afin de développer de nouvelles substances bioactives à intérêts thérapeutiques. De ce fait les points suivants sont étudiés :

- ❖ Préparation de différents extraits bruts en utilisant des solvants à polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle, butanol et Méthanol
- ❖ Evaluation de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide.
- ❖ Evaluation de l'activité antifongique en utilisant la méthode de contact direct

- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante en utilisant quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, FRAP, et Phenanthroline.
- ❖ Evaluation de l'activité antidiabétique vis-à-vis l'enzyme alpha-amylase

PREMIERE PARTIE
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Etude de la plante sélectionnée

I La famille rutacées

I.1.1.Généralité

La famille des rutacées est une famille de plantes dicotylédones à l'ordre spindal aujourd'hui la famille est plus grand. Selon Watson et Dallwitz, elle comprend 900 espèces réparties en 150genres. (**Techno-Science.**)

Ce sont des arbres, des arbustes, parfois des vignes ligneuses ou herbe qui ont souvent des épines sur leurs troncs qui produise la plupart des huiles essentielles libèrent des fortes odeurs agréables et souvent retrouvées (**Taylor & Francis**)

Sont des plantes à la chimie très riche et variée, par enchainement n'offrant qu'un petit nombre de caractères constant (**plantes botanique**). les Rutacées ont une importance dans plusieurs domaine ; économique, alimentaire, ornementales, médicinales et cosmétique (**judd et al., 2002**). La plupart des plantes de cette familles sont toxique (**bounasla, 2008**)

I.1.1.1.Description botanique

La plupart des espèces appartenant à la famille des Rutacées possèdent des feuilles ponctuées de poches sécrétrices et souvent aromatique visibles a l'œil nu. Ce sont des poches dites schizolysigènes dans lesquelles sont élaborées les huiles essentielles (**Chaaibkouri, 2004**)

Rutacées parfois à épines ou aiguillon à composés amers triterpénique Alcaloïdiques et composé phénoliques à lacunes sécrétrices disséminées contenant des huiles essentielles aromatique (**wiart, 2006**)

a. Les feuille

Simple ou composées sans stipules alternes ou opposées ; trifoliées ou unifoliées ; un de leurs caractères communs est la présence sur les feuilles de glandes oléifères qui apparaissent par transparence comme des points translucides (**Xiang et al., 2004**)

Les feuilles dégagent une forte vapeur aromatique qui peut être enflammée (**britannica**)

b. Les fleurs

Cyclique, hétérochiamyde, dialypétale, pentamère, actinomorphe, discifere généralement obdiplostémone, hypogyne, dialycarpellée partielle, bisexuée, parfois unisexuée. Sépales et pétales parfois soudées par la base (**Spichiger et al., 2004**).

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

c. Les carpelles

Sont soudées en un gynécée à ovaire supère, parfois infère ; un à plusieurs ovules par loge placentation axile et rarement pariétale (Xiang et al., 2004).

d. Les Fruits

Sont des baies, des drupes, des samares, des capsules ou des follicules (Xiang et al., 2004).

e. Les Graines

Avec un embryon relativement grand ; endosperme présent et souvent charnu (Xiang et al., 2004).

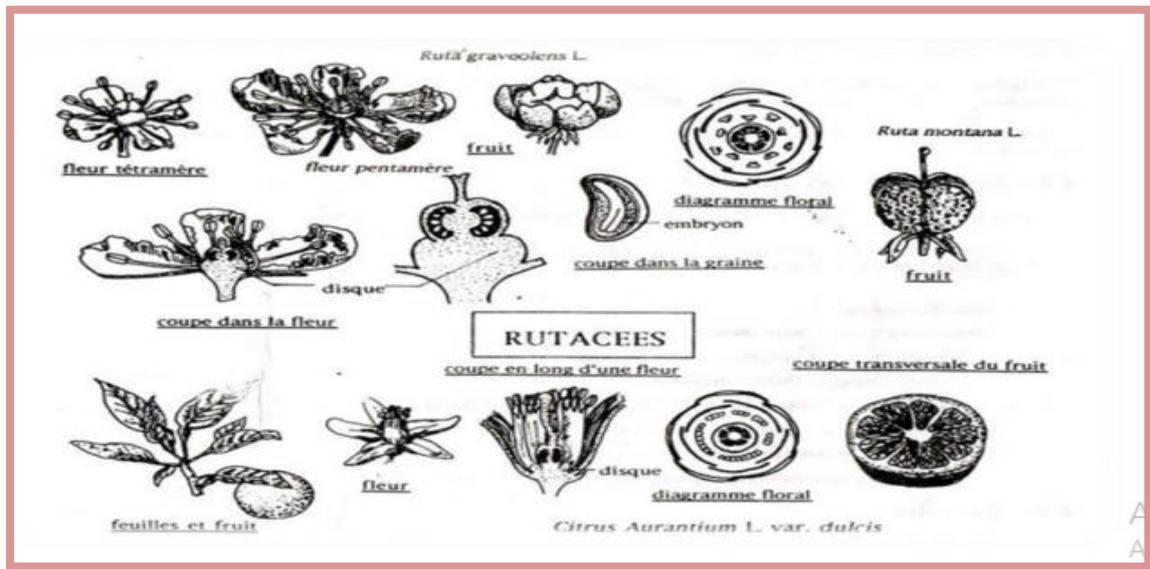


Figure 1 : les caractéristiques morphologique de rutacées

I.1.2. Position systématique

La classification peut être devise en deux catégories

A. Classification classique

Tableau 1 : la classification classique de la famille rutacée

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Sous classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae

B. Classification phylogénétique

Depuis une dizaine d'années grâce aux études de la biologie moléculaire, les botanistes détiennent une nouvelle méthode d'études permettant une meilleure comparaison entre genre, famille et ordre. Elle est basée sur la biologie moléculaire et particulièrement sur l'amplification des gènes par PCR (polymérase chaîne réaction). En travaillant sur le gène *Rubis Co* situé dans les chloroplastes l'équipe de Marc Chase (botaniste anglais) du jardin botanique de Kew, a donné en 1998, une nouvelle classification des angiospermes ne repose plus sur le nombre de feuilles primordiales (cotylédons) de l'embryon, mais sur un nouveau critère : le nombre de pores présents sur le grain de pollen ; trois pores ou plus pour les plus évoluées qui portent alors le nom d'eudicotylédones (dicotylédones vraies)

En distinguant la classification de Rutaceae comme suite :

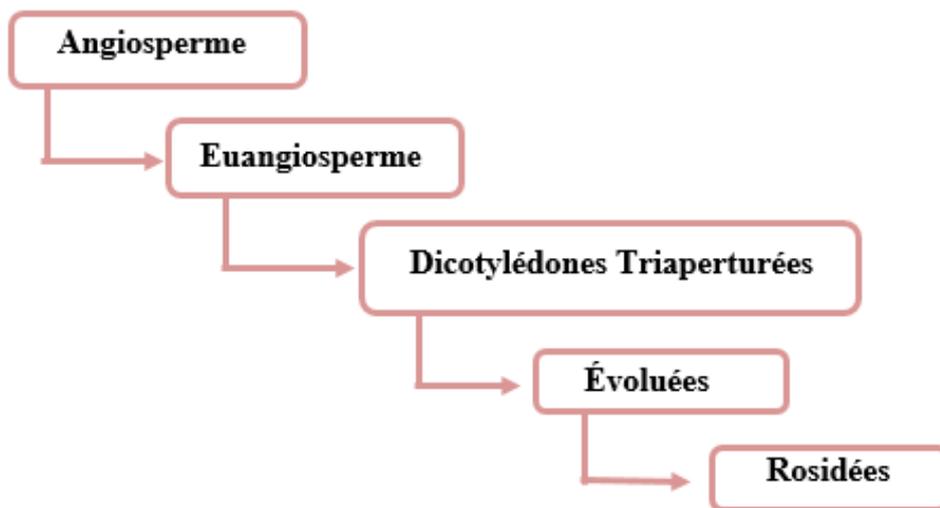


Figure 2 : diagramme traduire la nouvelle classification des rutaceae (HAMMA, S., et al.)

I.1.3. Distribution géographique

La répartition géographique caractérise assez bien celles-ci : Les Ruteés, *Ruta*, *Dictamnus* sont propres à nos régions tempérées et manquent sous les tropiques ; Alors que les diosméés sont localisées dans les régions désertiques de l'Afrique australe et possèdent le port éricoïde des plantes de cette zone ; les Boroniées sont Australiennes et ont les feuilles à limbe verticale qui caractérisent beaucoup de plantes de ce continent.

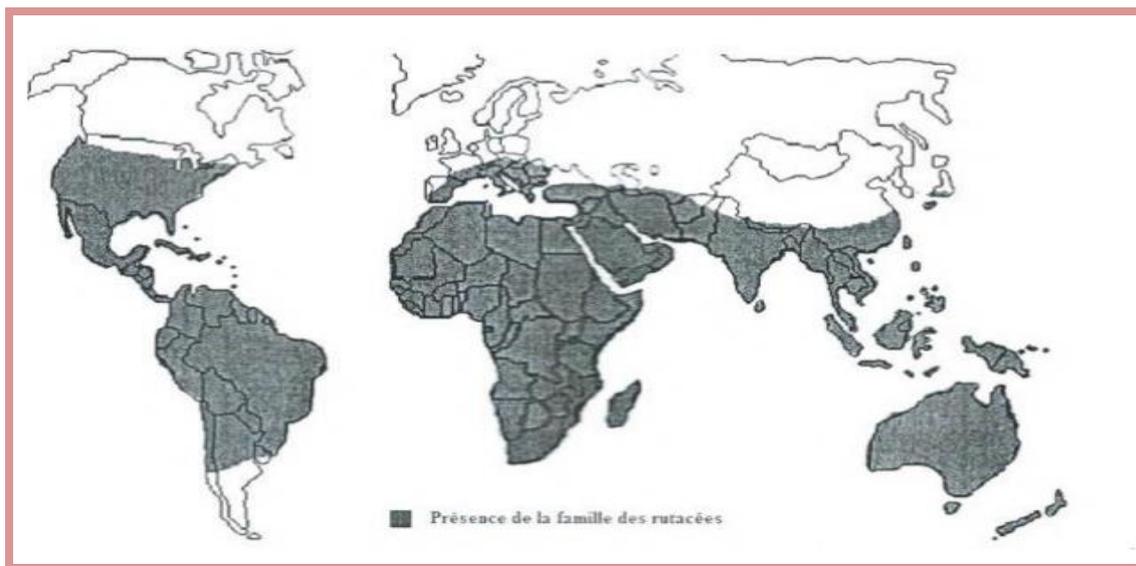


Figure 3 : répartition géographique de la famille rutacée (Gausson et al., 1982)

I.1.4. Les principaux genres de rutacées :

Selon Angiosperme Phylogénie Web site

Tableau 2 : Les principaux genres de rutacées

Genre	Espèce
Citrus limon	Citronnier
Citrus aurantium	Orage amer ou orange séville
Citrus bergamia	Bergamotier
Les Choisyas	Le CHOISYA ternate
Ruta L	Ruta graveolens
Boronia	Boroniaheterophylla
Casimiroa	Casimiroaedulis
Murraya L	MurrayacaloxylonRidl.
Agathosma	Capensis(promesse de fleurs)

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

I.1.5. Utilisation pharmacologique

Le tableau suivant représente quelques utilisations des espèces de cette famille

Tableau 3 : Quelques utilisations des espèces de la famille Rutacée.

Espèce	Utilisation
Citrus aurantium	il est censé dissiper les maux de tête , calmer les palpitations et faire baisser la fièvre
Citrus bergamia (bergamotier)	arbre à fruits à l'écorce aromatique (10m de haut) la bergamote est assez peu utilisée en médecine, sauf dans un but de relaxation
Citrus limon (citronnier, limon)	Le citron est un remède naturel major à une propriété antibactérienne, antiseptique et antioxydant aussi c'est tonique du foie et du pancréas .En gargarismes, il traite les maux de gorge
Zanthoxylum	atténuer les douleurs provoquées par les arthrites, les névralgies dentaires et les polyarthrites
Dictamnus	Elle est bien indiquée contre l'atonie digestive, les douleurs nerveuses de l'estomac, la gastralgie ou en cas d'acidité gastrique, d'indigestion et de coliques. Elle est utilisée pour soigner la diarrhée aiguë ou la diarrhée provoquée par des bactéries.
Murraya	sont utilisées dans l'aménagement paysager. Certaines espèces peuvent être greffées sur des porte-greffes d'agrumes

I.1.6. Toxicité

Beaucoup de plantes de la famille des Rutaceae sont toxiques et peuvent provoquer des troubles dermatologiques. (**Boutique Végétale**)

I.1.7. Le genre d'espèce *Ruta*

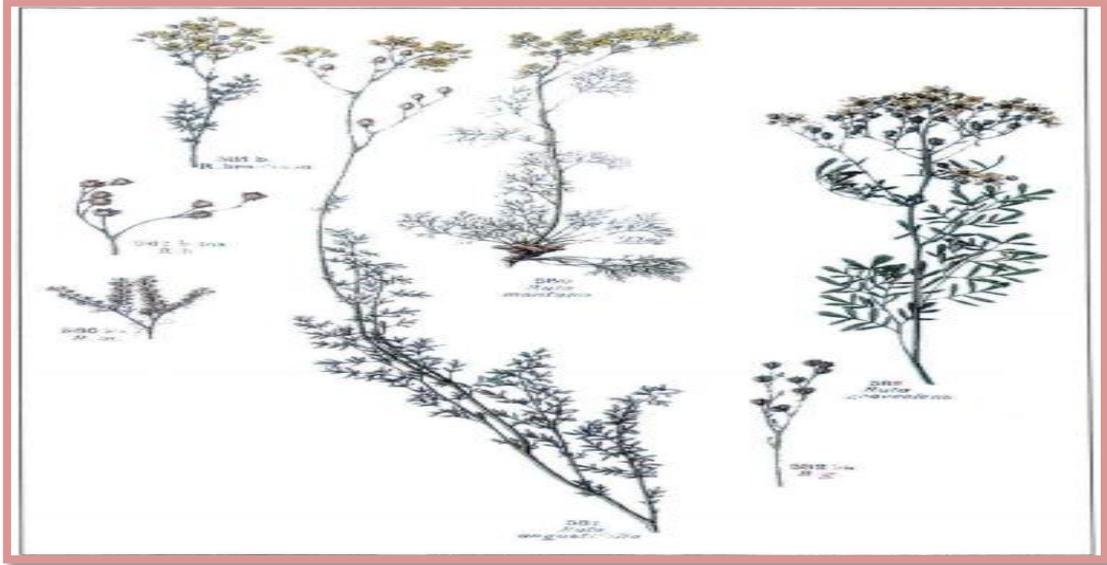


Figure 4 : Dessin de quelque espèces de genre *Ruta* (flore bonnier)

I.1.7.1. Description botanique

Les espèces diffèrent entre elles par l'allure des feuilles , de grappe fructifère , des bractées et des sépales (**Boussard et cuisance , 1981 ;Quezel et santa 1963**)

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

Tableau 4 : Quelques Usages et caractéristiques du Ruta

Espèce	pays	Partie utilisée	Voie	Usages	Caractéristique
R.angustifolia 	Tunisie	Feuilles	Orales	Gastrique , hypertension , aménorrhée , diarrhées , vermifuge .	Ses feuilles sont découpées en segments étroits dont les terminaux sont larges de 1,5 à 3,5 mm. Cette plante dégage une odeur très désagréable. Elle se rencontre dans les pelouses sèches
		Feuille	Externe	Fièvre	
		Feuille	Orales	Aérophagie du nourrisson, toux	
		Feuille	Cataplasme	Céphalées Rhinites	
		Feuille	Gouttes	Otite , otalgie	
		Feuille Racines	Externe	Rhumatisme	
R.chalépisensis 	Palestine	Plante entière	Externe gouttes	Rhumatisme , Otite	Plante herbacée à tige ligneuse à la base pouvant atteindre 1 m. Les feuilles de 6 à 12 cm de long, sont aromatique, ovales, larges, pennatiséquées, bleu-vert , elles présentent de nombreux lobes oblongs , lancéolés ou aborales. En été s'épanouissent des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre, en coupe, de couleur jaune foncé, portant quatre ou cinq pétales frangés de longs poils Elles sont réunies en cymes lâches.
		Feuilles	Orale	Abortif , Tonique (estomac)	
		Graines	Orale	Otite Cure-dents Contrepoison	
	Amérique centrale (guatémala Mexique)	Entière		La rougeole Fièvre, maux de tête , cœur	
	Egypte	Plane entière	Orale	Coliques intestinales Aménorrhée , rhumatisme	
	Maroc	Plante entière Fleuries	Externe	Vitiligo , rhumatisme	
			Gouttes	Bourdonnement d'oreilles , otites , épilepsie	
			Inhalation	Fièvre	
			Orale, Injection	Abortive , toxique	

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

			Orale	Affection du foie , de l'appareil respiratoire , goutte , oedèmes , l'oligurie , paralysies , règles douloureuses	
			Tampons	L'épistaxis	
			Cataplasme	Migraine	
			Orale	Coliques, contre les vers intestinaux et les morsures de serpent	
	Arabie saoudite	Parties aériennes		Laxative , anti-inflammatoire , antispasmodique , abortive , épilepsie , emménagogue , colique , maux de tête , rhumatisme , leucoderma , aphrodisiaque	
R.montana 	Espagne	Parties entières	Orale	Fièvre emménagogue abortive, antispasmodique Contre les vers intestinaux	Plante herbacée vivace, d'environ 1m de long. Les feuilles sont glauques finement découpées en segments linéaire.
	Algérie	Parties aériennes		Emménagogue Antispasmodique Rubéfiant, poudre écharrotique	Les capsules sont globuleuses 3.5×4 mm à loges obtuses très brièvement pédicellées. Les fleurs petites 5-6 mm à pétales denticulés sur les marges.

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

<p>R.sylvestris</p> 	France		Externe	Désordres veineux	
<p>R.graveolens</p> 	France	Feuilles , plante entière	Inhalation	Digestive, sédative, abortive, emménagogue, anti-rhumatismal, antivirale Antihelminthique	<p>Espèces herbacée, c'est une plante méditerranéenne semi arbustive, d'un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base. Ses feuilles d'un vert terme, semi persistantes, sont alternes, pennatiséquées (souvent trilobées) et de consistance un peu charme. La floraison s'étend de mai à août. Ses fleurs, regroupées en corymbe, sont composées de 4 à 5 pétales jaunes verdâtres soudés à la base, du même nombre de sépales et de 8-10 étamines. La plante est hermaphrodite Les fruits sont des capsules déhiscentes libérant à maturité de petites graines noirâtres.</p>
	Grand Bretagne, Europe du sud	Plante entière	Orale	Emménagogue, Antispasmodique	
	Chine Canada	Feuilles		Phlébites, varices, épilepsie, problèmes nerveux, maladies de l'utérus	
	Suisse	Fleurs et feuille		Stupéfiant antiseptique Emménagogue abortive	
	Plante entière	Orale	Antispasmodique, Protection des vaisseaux sanguins, digestion, stimulation des muscles, emménagogue		

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

	Turquie, Chine	Racines	Externe	Rubéfiant de peau
			Orale	Fertilité
	Maroc	Graines Plante fleurie, Racines	Orale Gouttes Orale	Douleurs gastro-intestinales, conjonctivite, abortive
Inde	Plante entière	Oral Externe	Antiseptique, stimulant (utérus et système nerveux), contre-poison, emménagogue, abortive, hystérie Rhumatisme, douleurs coliques, atonique, aménorrhée, ménorragie	

I.1.7.2. Position systématique (wiart, 2000)

Tableau 5 : Classification taxonomique du genre Ruta

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Super division	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliopsida</i>
Classe	<i>Rosida</i>
Sous classe	<i>Rutanae</i>
Super ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta graveolens</i>

I.1.8. L'espèce de ruta graveolens

I.1.8.1. L'origine de nom

Son nom vient du grec : une plante « rhyté » qui signifie sauver ,prévenir .. ou de' reo' faisant référence aux vertus emménagogues de cette plante – quand à « graveolens » cela provient du latin « gravis » qui signifie « forte » et « dolere » qui veut dire sentir – donc une odeur forte (**psore**).appelé aussi rue officinale , rue-puante , rue fétide , rue des jardins , herbe à la belle-fille , rue de murailles (**Bonnier G.1999**)

I.1.8.2. Description botanique

C'est un sous- arbrisseau de 0,5 à 1 m de haut, très ramifié et ligneux à la base dure, ferme, rameuse et verdâtre. (Spichiger R et *al.*,1987.)

a. feuilles

Découpées en segments oblongs, pétiolées, alternées et persistantes de couleur vert glauque.

b. Les fleurs

Sont terminales petites de couleur jaune. Elles sont distribuées en cymes avec la fleur terminale pentamère et les autres fleurs tétramères qui apparaissent entre la période s'étalant entre mai et août

c. Les fruits

Sont des follicules à graines noires



Figure 5 : *Ruta graveolens* (techno-science)

I.1.8.3. Distribution géographique

Elle pousse à l'état sauvage dans le sud de l'Europe. En France, il est assez fréquent de la voir dans les endroits secs, pierreux, arides et ensoleillés, de la mer aux régions montagneuses (**touvert**). La rue est aussi largement répandue en Amérique du sud. (**techno-science**)

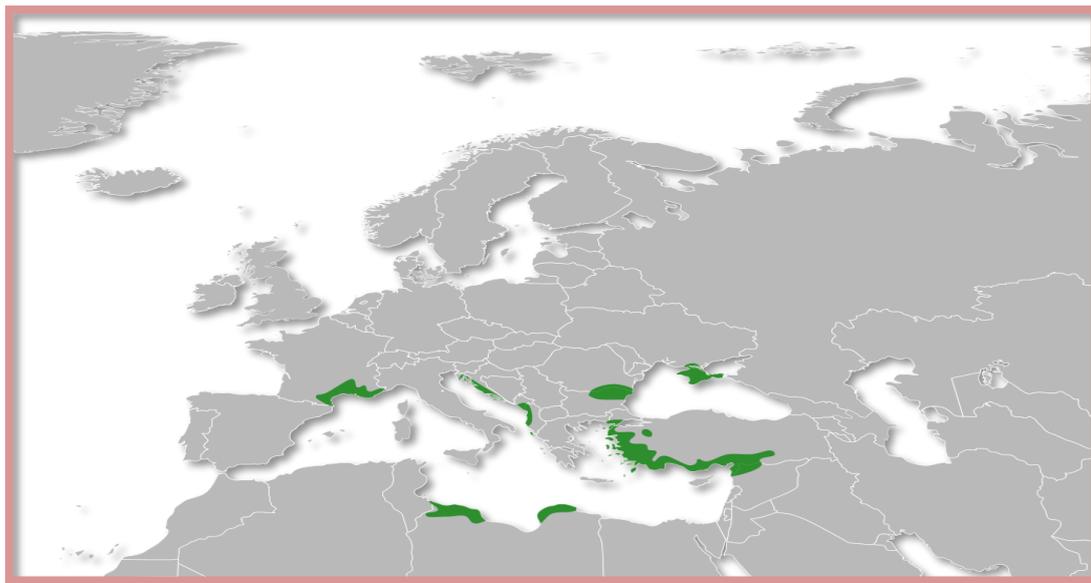


Figure 6 : L'aire de répartition de la rue commune (*Ruta graveolens*)

I.1.8.4. Utilisation et intérêt économique

Différentes variétés de *Ruta graveolens* (Rue) en Afrique et sur d'autres continents entrent dans la composition de plusieurs préparations médicinales utilisées en médecine traditionnelle. Souvent les différentes parties de la plante sont utilisées comme abortifs, laxatifs, antirhumatismaux, antispasmodiques, antiparasitaires et antalgiques.

- Traitement des diverses infections, notamment cutanées.
- Utilisée pour ouvrir l'appétit.
- Aborder les douleurs et l'inflammation des amygdales et de la congestion et générer de l'urine et débarrassent le corps de l'excès de liquide.
- Résister à la fièvre.
- L'extrait de la Rue en huile essentielle est utilisé en parfumerie
- Aborder les troubles menstruels, les douleurs et les crampes. 2
- Trouble du sommeil : sursauts au moindre contact (**passport sante**)
- Ophtalmologie : trouble de l'accommodation après travaux fins en éclairage insuffisant (**passport sante**)

CHAPITRE I : Etude de la plante sélectionnée

I.1.8.5. Toxicité de *Ruta graveolens*

Tableau 6 : Toxicité et principes actifs des plantes. (Hammiche, V., et al., 2013)

Nom français	Nom scientifique (famille)	Intoxication (signes)	Principes actifs
Rue commune	<i>Ruta graveolens</i> (Rutaceae)	L. digestive, neurologique, phototoxicité (emmenagogue), (abortive)	Coumarines Furocoumarines Alcaloïdes

I.1.8.6. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta graveolens*

Tableau 7 : Composition chimique de *Ruta graveolens* L. (Reddy, D. N., & Al-Rajab, A. J. 2016).

Chemical constituent	M.F : Molecular formula
2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O
2-Decanone	C ₁₀ H ₂₀ O
2-Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O
2-Undecanol	C ₁₁ H ₂₄ O
2-Acetoxy tetradecane	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
1-Methyl-5,6-divinyl-1-cyclohexene	C ₁₁ H ₁₆
2-Dodecanone	C ₁₂ H ₂₄ O
2-Tridecanone	C ₁₃ H ₂₆ O
Nonylcyclopropanecarboxylate	C ₁₃ H ₂₄ O ₂
2,7-Dimethyl-3,6-dimethylene-1,7-octadiene	C ₁₂ H ₁₈
Ethylpiperonylacetate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄
1,5-Isobutyl-1,3-benzodioxole	C ₁₁ H ₁₄ O ₂
Methyl-3-methylene-1,2,3,3a,4,4a,4b,5,6,10b-decahydrocyclopropa[3,4]cyclohepta[1,2a]naphthalen-8-yl ether	C ₁₈ H ₂₂ O

**CHAPITRE II : Substances
Bioactives et Activités
Biologiques**

II Les substances bioactives

II.1.1. Généralités

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces (**hal theses**)

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de bases (croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, reproduction), contrairement aux métabolites primaires. Les métabolites secondaires vont avoir des fonctions spécifiques en réponse à une adaptation à un environnement (**red horticulture**)

Les métabolites secondaire sont produit en très faible quantité il existe plus de 200000 métabolites secondaire classe selon leur appartenance chimique (**gurndet M .,1999**) (**vermerris W ., 2006**)

Les métabolites secondaire sont des substances dont les fonctions ne sont pas indispensables à la plante la plus part de ces métabolites jouent un rôle dans la défense contre la prédateurs et les pathogènes (**Bahorun, T 1997**)

II.1.2. Rôle de métabolites secondaire

➤ Pour la plante

- Défense de la plante contre les virus, les microorganismes, les insectes, les herbivores et les autres plantes pour éliminer la concurrence (**Bernard P 1974**)
- Guides à nectar en lumière visible (**UV Pell A N. , 2002**)

➤ En médecine

- En urologie, dermatologie , gastrites aigues , toux ulcères d'estomac , laxatifs , sommeil et désordres nerveux
- Système cardiovasculaire ; ex : flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine est utile dans le traitement et l'athérosclérose
- Drogues immunostimulantes, antispasmodique, anti-inflammatoire (**Mohammedi .,Z 2006**)
- Les maladies de stress ces métabolites en une activité antioxydant Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire : depuis des périodes très anciennes ces substances naturelles ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutique(**Cyril,T.2001**)

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

➤ **En alimentation**

- Les épices et les herbes aromatiques contenant des divers métabolites sont utilisées dans l'alimentation pour une bonne part responsables des plaisirs de la table (**Cyril, T.2001**)

➤ **En cosmétique**

- Des produits de beauté, parfums et articles de toilettes, produits d'hygiène (**Cyril, T.2001**)

II.1.3. Classification

Les métabolites secondaires sont composés de trois principales catégories qui sont : **Barthe, S. (2005)**.

- les terpènes,
- les composés phénoliques
- les alcaloïdes (ou composés azotés)

Ils peuvent être divisés aussi en deux catégories :

- **Les substances non volatiles** : Alcaloïdes, Anthocyanes, Polyphénols, Flavonoïdes, Tannins. Connus pour leurs activités pharmacologiques ou leurs propriétés pigmentaires.
- **Les substances volatiles** : Terpènes et composés aromatiques, qui constituent les huiles essentielles utilisées en parfumerie, aromathérapie (**Lutge U., 2002**)

II.1.3.1. Les composés phénoliques

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux, (**Muanda, F. N. 2010**)

Un polyphénol est un composé phénolique, une molécule comportant plusieurs phénols. Les polyphénols forment un groupe de substances chimiques naturellement présentes dans les plantes, caractérisées par la présence de plus d'un groupe phénol par molécule. Ils sont largement synthétisés dans l'industrie. (**aquaportail**). Ils regroupent plus de 8000 substances chimiques (**Bam Forth, 1999**)

Les polyphénols sont une série de composés qui n'agissent pas comme des nutriments, mais qui remplissent des fonctions bénéfiques pour le corps. On les trouve dans les aliments d'origine végétale et ces dernières années, ils gagnent beaucoup d'importance. Leur consommation est associée à un meilleur état de santé. (**Muysalud**)

a. L'origine

Les polyphénols sont des alcools aromatiques qui proviennent des végétaux. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les phénols simples, déchets du métabolisme végétal, sont assemblés en polyphénols comme la lignine. . (Bruneton *et al*, 1987 ; 1999)

b. les aliments riches en polyphénol

b.1. Les fruits

Les myrtilles noires – 1756 mg

Les sureaux noirs – 1359 mg

Les bleuets à feuilles étroites – 836 mg

Les cassis – 758 mg

Les myrtilles arbustives ou américaines – 560 mg

b.2. Les légumes

Les olives noires – 569 mg

Les olives vertes – 346 mg

Les artichauts – 260 mg

Les chicorées rouges – 235 mg

L'oignon rouge – 168 mg

Les chicorées vertes – 166 mg

Les épinards – 119 mg (natural athlete club)

c. Fonction de polyphénol chez les plantes

Dans la nature, les polyphénols ont une fonction bien définie :

Défendre la plante contre les agressions (UV, insectes, champignons, maladies...) et lui donner une couleur "appétissante". Une façon brillante de se reproduire, en dispersant les graines via les animaux qui la mange. Et paradoxalement, ce système de défense est profitable aussi à nous les Hommes. (Fondation Luis Bonduelle)

d. Propriété

Les polyphénols représentent une grande famille de molécules majoritairement issues des végétaux. Ils présentent des propriétés antioxydants et limitent le vieillissement cellulaire. Les polyphénols sont utilisés en prévention des maladies cardiovasculaires, inflammatoires et neurodégénératives. (therascience)

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

De multiples recherches ont aujourd'hui démontré l'utilité du polyphénol dans la prévention contre le cancer. Les chercheurs affirment en effet que son activité antioxydant aide à protéger l'ADN contre les radicaux libres qui peuvent déclencher le développement des tumeurs. Les polyphénols permettraient également de réduire la croissance des cellules cancéreuses en inversant les marqueurs épigénétiques de l'ADN.

Les polyphénols flavonoïdes en particulier aident à réduire l'agglutination des plaquettes dans le sang et à améliorer le fonctionnement des cellules.

Les polyphénols peuvent jouer le rôle important de prébiotique en augmentant le nombre de bactéries bénéfiques dans les intestins. (**Natural athlete**)

e. Classification

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs familles selon le nombre et La position des atomes de carbone du composé, la nature de leur squelette carbone' et La longueur de la chaîne aliphatique attachée au noyau aromatique (**Chira et al., 2008**).

e.1. Flavonoïde

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes (**Muanda, F. N. (2010)**). En 2019, plus de 8000 composés flavonoïdes étaient connus (**Creapharma ch**)

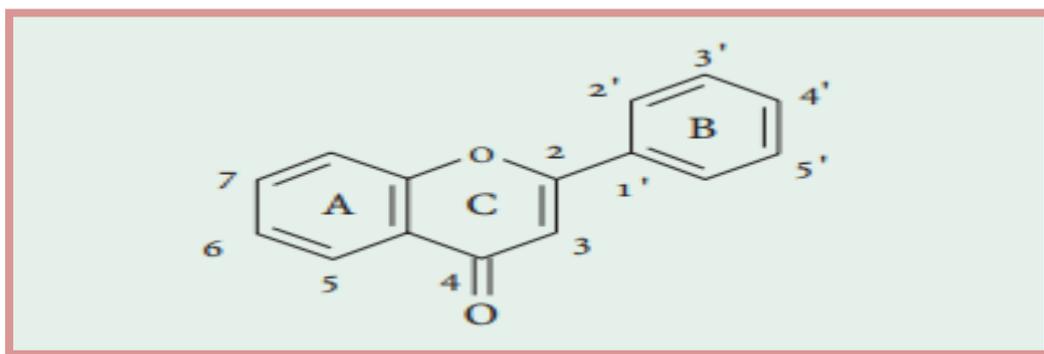


Figure 7 : Structure chimique de flavonoïde (Di Carlo G, et al., 1999)

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydant et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxylipidiques selon la réaction suivante :



➤ Propriétés inhibitrices d'enzymes

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation : la cyclooxygénase et la lipooxygénase. (Ghedira, K. 2005).

➤ Effets protecteurs vasculaires

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique « P ». Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (Ghedira, K. 2005).

➤ Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase (Ghedira, K. 2005).

➤ Des propriétés antibactériennes et antivirales

Flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence. Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (Ghedira, K. 2005).

➤ Toxicité

Une étude clinique menée par **Knekt et al.**, portant sur 9 959 patients des deux sexes, suivis pendant vingt-quatre ans, a montré l'existence d'une corrélation inverse entre la prise de flavonoïdes (quercétine) et le développement de cancer du poumon. Une des explications de ces données contradictoires réside dans le fait que les flavonoïdes sont toxiques vis-à-vis des cellules cancéreuses mais ne sont pas toxiques ou moins toxiques à l'encontre des cellules normales. (Knekt P, et al., 1997)

e.2. Les tanins

On peut trouver des tanins principalement dans les cortex, racines, fruits ou feuilles. (creapharma ch)

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsque "ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux . On distingue: les tanins hydrolysables et condensés. (Muanda, F. N. 2010)

➤ Les tanins hydrolysables

Ils sont constitués de composés qui s'hydrolysent facilement à l'aide d'acides ou de Bases, notamment par traitement enzymatique. Ce sont des composés phénoliques simples comme le pyrogallol, l'acide gallique, digallique , ellagique et divers monosaccharides tels que le glucose. Certains de ces tanins sont aussi utilisés pour le tannage mais ne sont que faiblement utilisés pour les résines à cause de leur faible réactivité avec le formaldéhyde. Letellier, M. (2015).

➤ les tanins condensés

Les tanins condensés, ceux utilisés dans cette étude, sont les plus utilisés et produits (90% de la production mondiale s'élevant à 220 000 tonnes par an pour le mimosa). Ces tanins peuvent être utilisés en remplacement du phénol dans les résines thermodurcissables phénol-formaldéhyde .Ce sont des oligomères présentant différents types de flavonoïdes et degrés de polymérisation. Cependant, d'autres composés sont aussi présents dans les extraits de tanins comme divers carbohydrates et acides aminés et iminés . (Letellier, M. (2015).

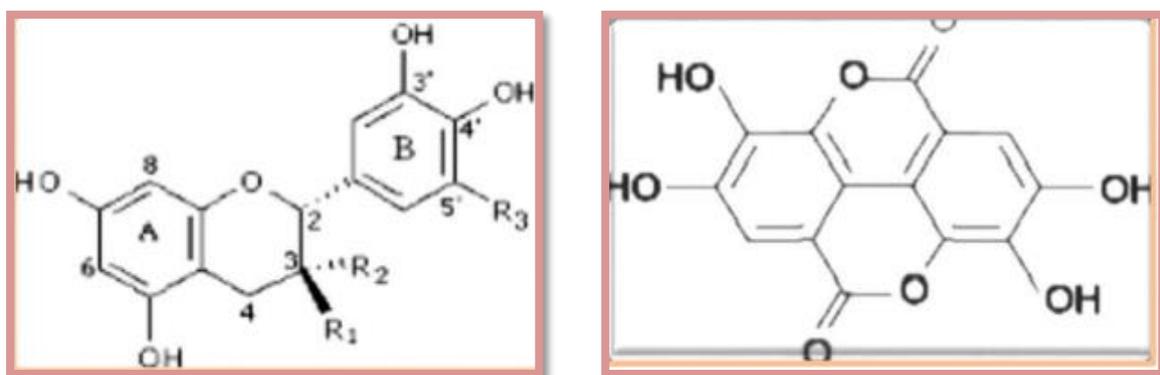


Figure 8 : Structure chimique des tanins hydrolysables et des tanins condensés

(Okuda et Ito, 2011; Adamczyk *et al.*, 2013).

Les tanins sont principalement utilisés en usage externe en particulier contre des blessures, plaies ou hémorroïdes. En usage interne on les utilise aussi contre la diarrhée et la gastro-entérite. Il faut savoir qu'en usage interne les tanins ne sont pas absorbés par l'organisme. Ils peuvent toutefois se fixer à des substances toxiques et les "neutraliser" au niveau du tractus gastro-intestinal puis sont éliminés ensemble (tanins-agents toxiques) par les

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

selles, Les tanins présentent des propriétés antioxydants, antibactériennes et parfois calmantes . (creapharma ch)

➤ Toxicité (Peronny, S. 2005)

Les composés secondaires peuvent agir de deux manières, comme inhibiteurs de la digestion ou comme toxines. Les toxines agissent de manière spécifique après avoir traversé les membranes, ce qui permet une toxicité importante pour des quantités ingérées très faible. Les inhibiteurs de digestion agissent directement dans l'intestin et perturbent les processus digestifs de différentes manières (Waterman, 1984). Pourtant dans la majorité des cas, les tannins entrent dans la catégorie des inhibiteurs de digestion. Ils sont peu toxiques mais abondants : efficaces à forte dose, ils se lient aux protéines et en diminuent la digestibilité en formant des complexes insolubles.

e.3. Les acides phénoliques

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. (Esprit santé)

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová et al., 2003). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire , Leur toxicité est faible et considéré non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique. Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris alors que l'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien (agronomie)

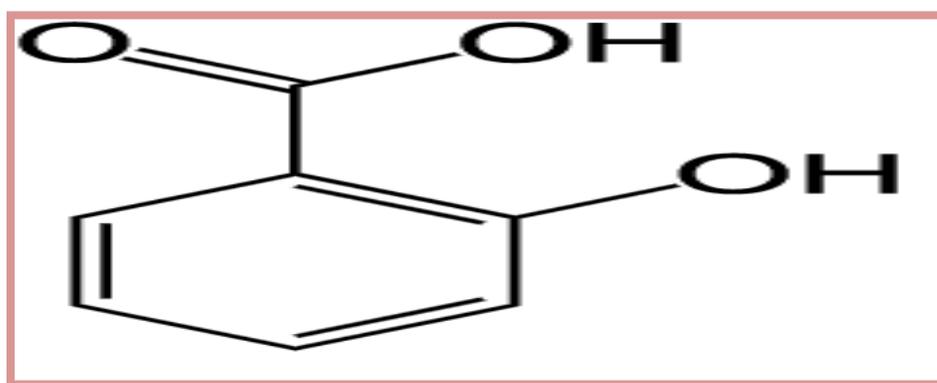


Figure 9 : Structure chimique de acide phénol

e.4. Les coumarines

La coumarine est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyrane-2-one. Dans son état normal (standard), elle est caractérisée par une structure cristalline et incolore. Différents résidus peuvent être ajoutés à ce squelette formant la famille des coumarines. Les coumarines sont considérées comme un groupe de métabolites secondaires des plantes.

Les coumarines ont montré qu'elles exercent de nombreuses activités biologiques, bien qu'elles ne soient approuvées que pour certains usages médicaux tels que les produits pharmaceutiques. L'activité enregistrée de la coumarine et de ses dérivés est, entre autres, anti-tumorale, anti-arythmique, anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique (soulagement de la douleur) et contre l'hypertension, l'ostéoporose et le VIH. Ils sont également utilisés dans les traitements contre l'asthme, et ont été utilisés contre le lymphoedème.

La coumarine est modérément toxique pour le foie et les reins, avec une dose létale moyenne DL50 de 275 mg /kg, ce qui est faible par rapport à celle d'autres composés similaires. Bien qu'elle ne soit dangereuse que dans certains cas pour l'homme L'administration américaine de la sécurité et de la santé au travail considère que la coumarine ne devrait pas être classée comme cancérigène pour l'homme.(aquaportail

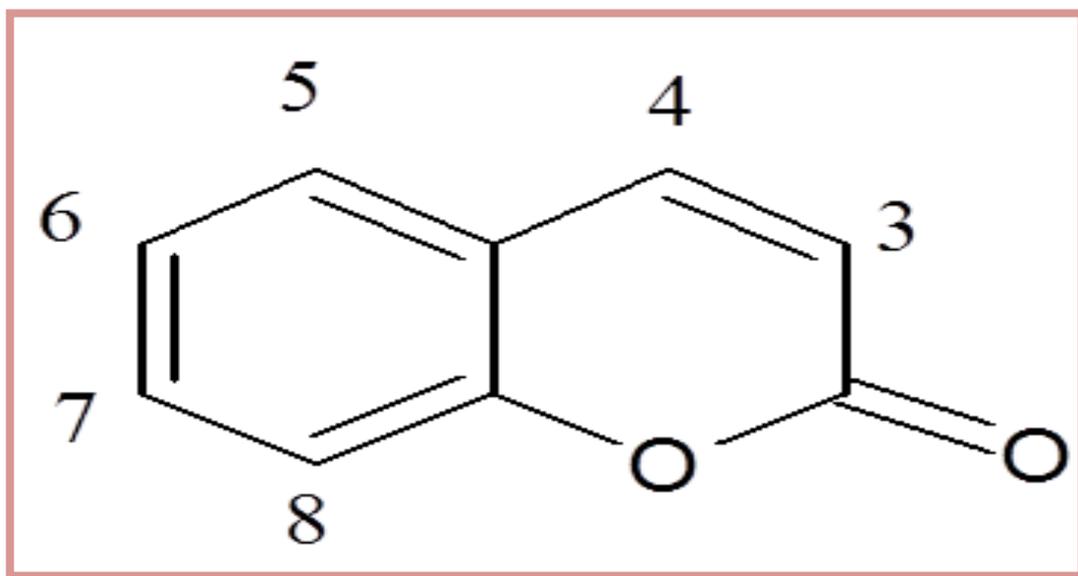


Figure 10 : structure chimique de coumarine

e.5. Les stilbènes

Cette famille de polyphénols naturels est constituée de dérivés hydroxy-, méthoxy- du stilbène simple, ainsi que leurs formes hétérosidiques ou polymériques. On les trouve chez de nombreuses plantes supérieures. En réponse à des attaques de pathogènes extérieurs (insectes, micro-organismes), les plantes se protègent en produisant des composés toxiques contribuant au blocage local des attaquants, C'est un perturbateur endocrinien.

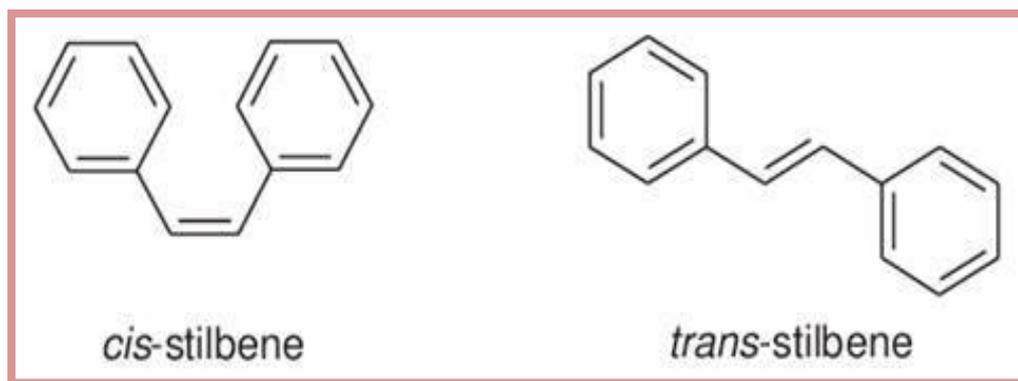


Figure 11 : Structure chimique de stilbene

e.6. Les lignanes

Le terme de lignane désigne habituellement des composés en C18 dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les Carbones β des chaînes latérales de deux unités du 1-phénylpropane. Les lignanes possèdent des propriétés antimitotiques, seuls les dérivés hémisynthétiques de la podophyllotoxine sont exploités en thérapeutique. Certains lignanes possèdent les propriétés suivantes :

- Inhibiteurs enzymatiques
- Propriétés antioxydantes
- Antiagrégants plaquettaires
- Anti hypertenseurs
- Activité antifongique, antiprotozoaires et antivirales (**sahraoui w**)

Lignane peuvent modifier le métabolisme des œstrogènes. Chez les femmes ménopausées, lignanes peut amener le corps à produire des formes moins actives d'œstrogène. On pense que cela réduit potentiellement le risque de cancer du sein. (**Lizengo**)

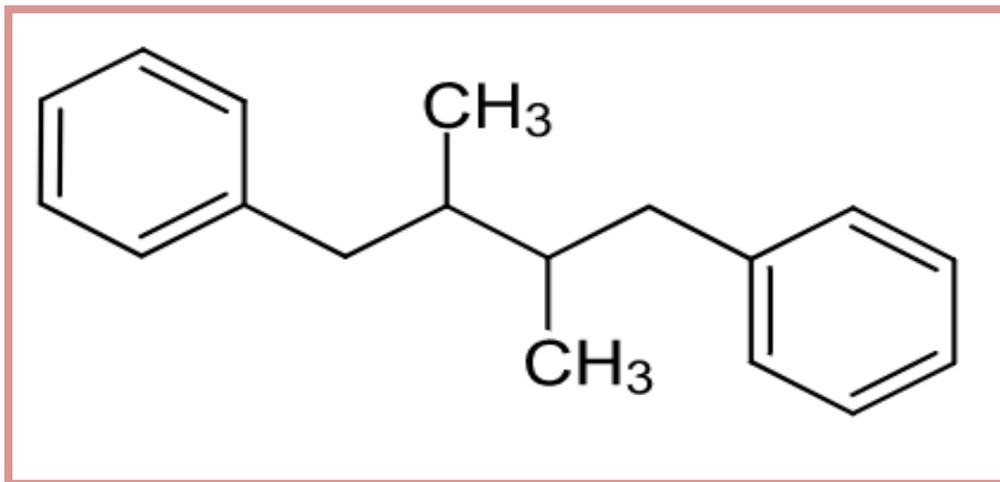


Figure 12 : structure chimique de lignane

e.7. Les alcaloïdes

Le mot alcaloïde est un terme générique pour désigner des composés plus ou moins complexes d'origine végétale dont les principales caractéristiques sont la présence d'azote dans la molécule et une alcalinité plus ou moins prononcée. À faible dose, ils ont des propriétés physiologiques et pharmaceutiques, mais présentent une forte toxicité à des doses élevées. (**blog.soin-et-nature**)

Sont employés dans la médecine pour, par exemple, leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie) souvent accompagnés d'hypnotiques, ou comme agent antipaludéen (quinine, chloroquinine) ou agent anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine).(**techno science**)

La forte activité biologique des alcaloïdes en fait parfois des toxiques puissants qui ont été impliqués dans des accidents et des affaires criminelles. On les retrouve comme principes actifs de préparations utilisées dans des cérémonies rituelles ou comme poisons d'épreuve dans des ordalies. Par ailleurs, les alcaloïdes sont responsables d'intoxications du bétail, et un des plus curieux, à cet égard, est la cyclopatamine, apparentée aux stéroïdes, qui provoque chez les agneaux en gestation une malformation caractérisée par un œil de cyclope (**Jacques E**).

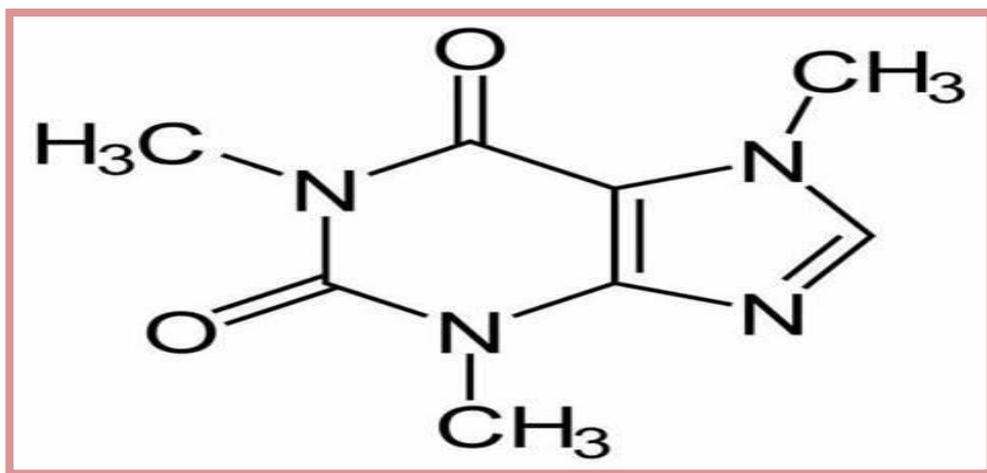


Figure 13 : structure chimique des alcaloïdes : théine

II .1.3.3. Les huiles essentielles

a. Définition

On appelle huile essentielle (ou parfois essence végétale) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante (**techno -science**)

Les huiles essentielles issues de différentes plantes possèdent donc des propriétés différentes, dépendantes de la composition d'origine. (**Futura**)

Contrairement à son nom, l'huile essentielle (HE) ne contient aucun corps gras. Elle est le résultat de la distillation des plantes aromatiques à la vapeur d'eau, ils sont peut-être extraite : des feuilles, des racines, des fleurs, ou encore des écorces et des tiges de la plante ou de l'arbre. D'un point de vue scientifique, les huiles essentielles sont des composés organiques riches de nombreuses molécules (**santé journal de femme**)

b. Composition chimique

- **Hydrocarbures** : Au sein de ce groupe, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques (C₁₀H₁₆) et ses qui terpéniques (C₁₅H₂₄) et plus rarement diterpéniques (C₂₀). Quelques fois on rencontre des hydrocarbures saturés (heptane, octane, nonane,).
- **Composés oxygénés** : A l'intérieur de ce groupe on rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des éthers oxydes, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes -phénols, des lactones, des composés sulfurés (**KERBOUCHE, Lamia 2010**)

A composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables :

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

b.1. terpène

Les terpènes sont les molécules les plus répandues dans les huiles essentielles. Ils sont produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes ont des propriétés odoriférantes chez les végétaux. Ils leur servent de défense contre les insectes prédateurs ou pour les attirer pour leur pollinisation. (**huiles-et-sens**) , Ils sont issus du couplage d'au moins 2 sous-unités isopréniques à 5 carbones (**lorraine ,2006**)

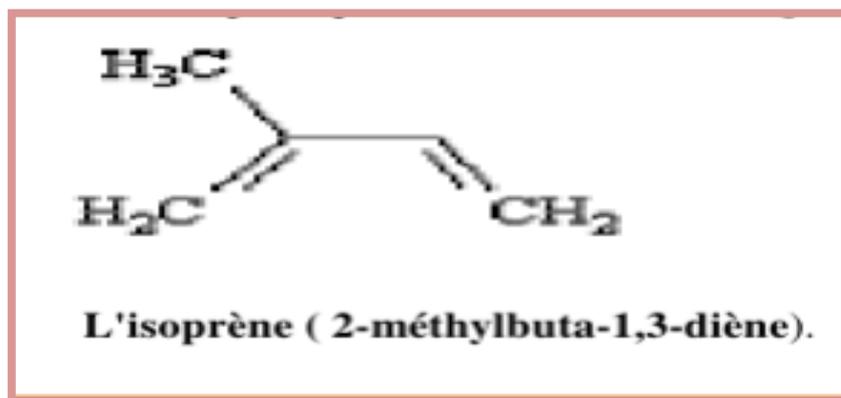


Figure 14 : Structure de l'unité isoprénique.

En fonction du nombre d'atomes de carbones, les terpènes sont classés en différentes **Catégories :**

Tableau 8 : Classification des terpènes (Rebstein et Soerensen, 2011).

Classe	Nombre de atome C	Nombre de unité iso
Hémiterpènes	5	1
Monoterpènes	10	2
Sesquiterpènes	15	3
Diterpènes	20	4
Triterpènes	30	6
Tétraterpènes	40	8
Polyterpène	> 500	> 100

b.1.1.Les monoterpènes

Le monoterpène (C₁₀H₁₆) est un terpène comme un dimère d'isoprène. Il peut être divisé en composés acycliques, monocycliques, bicycliques et tricycliques. Les monoterpènes (et monoterpénoïdes) sont une classe d'isoprénoïdes produits à partir de géranyl-

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

pyrophosphate (GPP) par diverses synthèses monoterpéniques.ils utilise comme Décongestionnants respiratoires, lymphotonique.

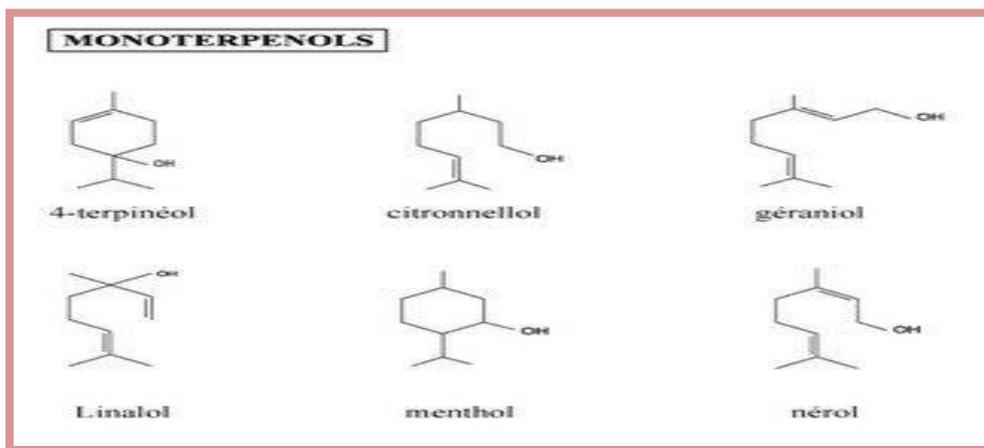


Figure 15 : Structures chimiques de quelques composés monoterpéniques (aromante)

b.1.2. Les Sesquiterpènes

Les Sesquiterpènes sont présents en faible quantité dans les plantes, sauf dans le bois des arbres. Ils sont intéressants pour traiter les pathologies artérielles. Ils sont utilisés dans les pathologies inflammatoires ou allergiques. Il est un propriété Anti-inflammatoires, Calmants, Décongestionnants veineux et lymphatiques ...

b.1.3. Les di terpènes

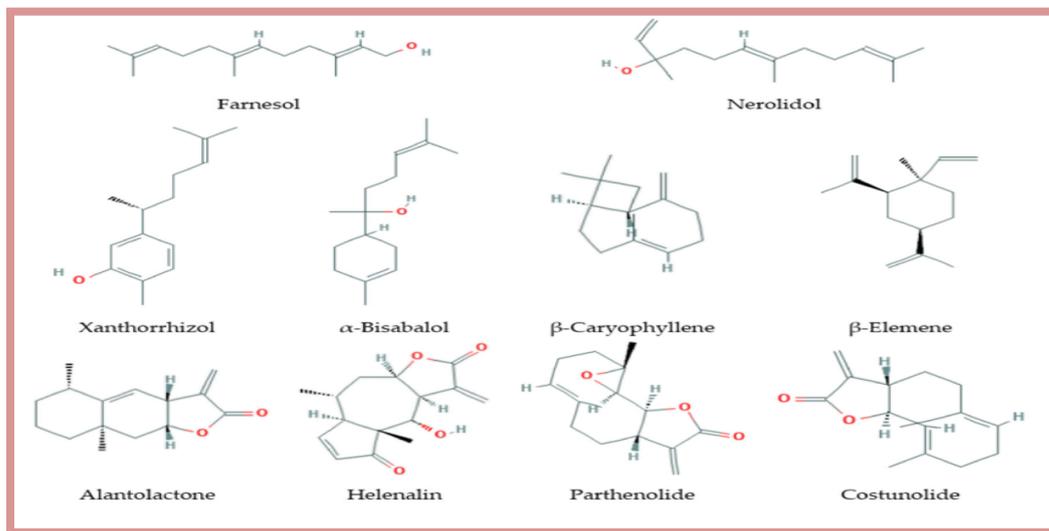


Figure 16 : Structures chimiques de quelques composés (researchgate)

Le diterpène est un terpène composé de quatre groupes isoprène et a un point d'ébullition plus élevé. Les diterpènes sont les métabolites végétaux les plus importants dérivés du géranyle (géranyl-pyrophosphate, GPP). Ils sont classés en plusieurs catégories. Les différentes activités biologiques, notamment l'activité antimicrobienne, ont suscité

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

l'intérêt pour l'identification de nouveaux composés antibiotiques à partir de cette classe de composés diterpéniques. (**Aquaportail**)

Molécules assez rares dans les huiles essentielles et présentes en faible quantité (**huile et sens**)

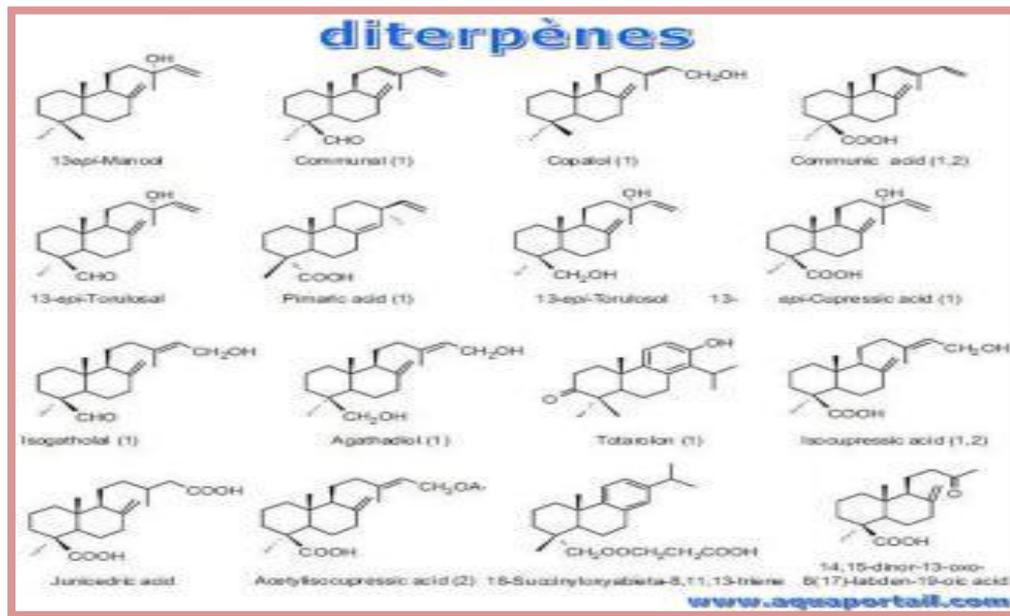


Figure 17 : Structures chimiques de quelques composés

b.2. Les composés aromatiques

Un composé aromatique est une molécule chimique ayant une odeur caractéristique et dont les atomes forment au moins un cercle, un composé cyclique. Les composés aromatiques, par opposition aux composés aliphatiques, les plus courants sont des dérivés de benzène, un hydrocarbure aromatique commun dans le pétrole et ses distillats. (**aquaportail**), ont stocké dans certains organes de la plante (**F. Chemat et al., 2007**).

c. Les propriétés physique et chimique de l'huile essentielle

Selon **Duraffourd et al., (1978)**, **Bruneton (1999)** les propriétés physiques des huiles essentielles sont résumées comme suit: (**au-bonheur-dessences**)

- Généralement liquides extrêmement volatiles et perdent rapidement leurs propriétés.
- La plus parte incolores
- Elles ont une odeur forte
- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont insolubles dans l'eau.
- Leur point d'ébullition se situe entre 60° et 240 °C.

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

- Les huiles essentielles sont sensibles à l'oxydation, ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux.
- Elles ont une densité inférieure à l'unité.
- Elles possèdent un indice de réfraction élevé et ont souvent un pouvoir rotatoire.

(Agronomie)

d. Utilisation pharmacologique

Par définition, toujours très concentrées en substances actives, les huiles essentielles possèdent des activités pharmacologiques diverses, dont des propriétés antiseptiques spasmolytiques, sédatives, antalgique, dérmacostique , anti-inflammatoire, anti-hépatotoxique , (Académie nationale de pharmacie) ,

Par exemple : (aroma zone)

- **menthe poivrée** : Tonique et stimulant digestif, pancréatique et nerveux
Anesthésique et antalgique, calme les démangeaisons.
- **Clous de girofle** : Anti-infectieuse puissante à large spectre : antibactérienne, antivirale, antifongique et antiparasitaire ,Stimulant digestif et antifermentaire
Stimulante immunitaire.
- **Camomille allemande** : Riche en actifs anti-inflammatoires puissants Anti-allergique, anti-prurigineuse, elle calme les démangeaisons Toxicité des huiles essentiel, favorise et régularise les règles
- **ANIS** : Mimétique des œstrogènes, emménagogue (favorise la venue des règles), galactogène (active les montées de lait) , Apéritive, aide à digérer et facilite l'élimination des gaz , Stomachique, carminatif (lutte contre les fermentations intestinales),
- **Saro** : antivirale ,Anticatarrhale, expectorante ,Antibactérienne , Antifongique
Immunomodulante, favorise une bonne immunité , Antiparasitaire

e. Toxicité des huiles essentielles

Selon Ngamo (2004) les huiles essentielles sont considérées comme des neurotoxines à toxicité aiguë vis-à-vis des arthropodes, elle est par contre peu toxique pour les animaux à sang chaud et les oiseaux. Chez l'Homme ces huiles peuvent être très toxiques à des doses élevées ainsi, l'huile de romarin est cholérétique, diurétique et provoque une action spasmolytique (MEZERKET, Amina 2010)

➤ **Contact oculaire**

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

En cas de contact oculaire, des troubles de la vision et des atteintes de la cornée sont possibles. Ces lésions sont réversibles. (**Centre antipoison**)

➤ **Voie cutané**

Cette voie d'utilisation expose aux risques d'irritation, et de brûlure encore appelée DERMOCAUSTICITE, ou bien aussi d'allergie.

➤ **Voie respiratoire**

Cette voie d'utilisation expose au risque de brûlure des muqueuses ainsi qu'au risque neurotoxique.

➤ **Voie orale**

C'est la voie la plus à risque en terme de hépatotoxicité et de neurotoxicité. Par voie orale, un surdosage ou une fragilité particulière des voies digestives pourra amener des gastralgies (**aude-maillard aromathérapie**)

f. Extraction des huiles essentielles

L'obtention des huiles essentielles se fait par divers procédés :

➤ **Extraction par hydrodistillation** : l'appareil utilise est de type clevenger , il est constitué d'une chauffe ballon , un ballon en verre pyrex ou l'on place des fleurs sèches et d'eau distillée , un réfrigérant et un collecteur . Le matériel végétal sec

Est broyé, pesé et introduit dans le ballon avec une quantité d'eau 3 fois celle du matériel pesé, et le mélange est porté à ébullition. Les vapeurs se condensent au niveau du réfrigérant et le distillat recueilli se décante dans le séparateur en deux phases. La phase supérieure est constituée de l'huile essentielle tandis que la phase aqueuse inférieure est recyclée dans le réacteur pendant toute la durée de la distillation. (**Dubey, 2003 ; Lamarti., 1994**). L'Huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun ferme hermétiquement à 4°C. (**Laib, I., &Barkat,M. 2011**)

➤ **L'extraction par entrainement à la vapeur d'eau** : elle consiste à placer les plantes à essence sur une grille perforée à une certaine distance au-dessus du fond d'un alambic dont la partie inférieure est remplie d'eau. Les principes volatiles sont séparés du distillat par décantation.

Cette technique est rapide, elle est utilisée pour obtenir une grande quantité d'huile essentielle mais elle est limitée par les problèmes d'altération de constituants des huiles essentielles et de conserve d'énergie. (**MEZERKET, Amina 2010**)

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

- **Expression à froid** : La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. (BOUKHATEM, M. N., et al., 2019)

Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la superficie de l'écorce de ces fruits renfermant l'HE. L'huile libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau. (Herzi, N. 2013).

- **L'extraction au solvant**

C'est le procédé d'usage pour l'extraction des concrètes, résinoïdes et absolues .il consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant, dans la plupart des cas à la température ambiante. (Zouache, F., & Ay, F. (2007)

- **La Macération** : La macération est un procédé qui consiste à tremper la matière dans de l'huile préalablement chauffée. Sous l'effet de la température, les membranes cellulaires du végétal rompent, ce qui en libère la quintessence. A l'issue de cet éclatement, l'huile est clarifiée puis on procède à sa décantation. (Ivy 2022)
- **L'enfleurage** : On parle d'enfleurage pour désigner une méthode par laquelle les pétales de fleurs sont disposées sur de la matière grasse purifiée (d'origine animale ou végétale). Ce contact doit être maintenu pendant plusieurs jours, après quoi le mélange de graisse et de pétales est pressé. A ce stade, on obtient une substance huileuse fortement concentrée en arômes. Elle est rincée à l'alcool qui va progressivement s'évaporer, ne laissant que l'huile essentielle. (Ivy 2022)
- **Extraction au CO₂** : Caractérisée par l'utilisation des gazes liquéfiés, dans des conditions de température et de pression données, l'emploi de CO₂ améliore le rendement et s'évapore sans laissant aucune trace toxique dans l'huile essentiel. (Bouafia, W., et al., 2007)

II. 2. Les activités biologiques étudiées

II.2.1. Activité antimicrobienne

II. 2.1.1 Les micro-organismes étudiés

a. Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires microscopiques. Elles font partie des premières formes de vie connues sur Terre. Il en existe des milliers de types différents, et elles vivent dans tous les environnements possibles, partout dans le monde. Elles vivent dans la terre, dans la mer et dans les profondeurs de la croûte terrestre. On a même rapporté que certaines bactéries vivaient dans les déchets radioactifs (**femme actuel**)

a.1. *Staphylococcus aureus*

Les *staphylocoques* sont des Cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas. L'espèce, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), aussi appelé (*Staphylocoque doré*), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Staphylococcus aureus est l'espèce majeure, qui peut être d'origine humaine, animal (volaille, bovin, ovin, caprin...), environnementale ou non spécifique (**Delarras, 2007**).

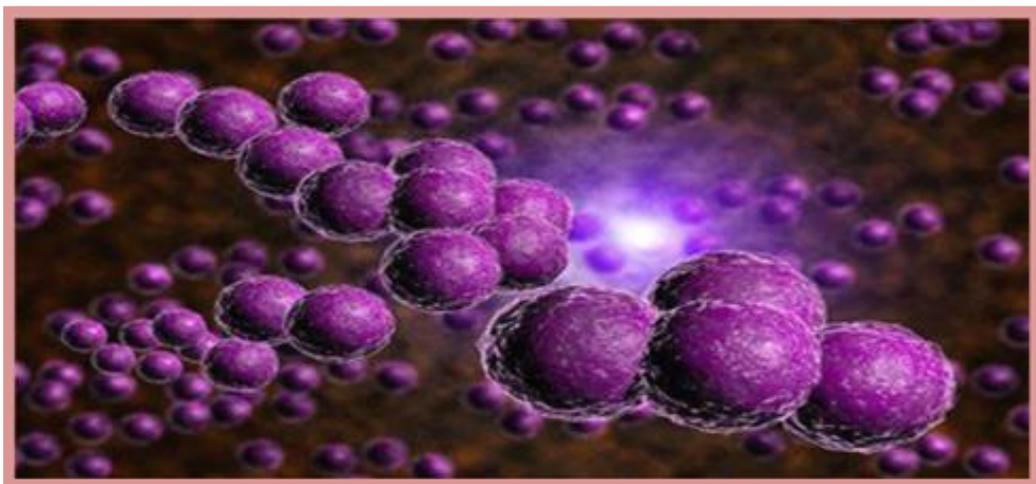


Figure 18 : *Staphylococcus aureus* (Murray Brown Labs)

a.2. *Escherichia coli*

L'*Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie qu'on retrouve naturellement au sein de la flore intestinale, elle en constitue même 80 %. Toutefois, il existe plusieurs souches différentes d'*E. coli* et, si certaines sont sans danger et nécessaires au bon fonctionnement du

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

microbiote intestinal (elles empêchent le développement d'autres bactéries et interviennent dans la production de vitamine K), d'autres, quoique moins nombreuses, sont plus nocives. Ainsi, plusieurs types d'*Escherichia coli* sont susceptibles de provoquer des infections (notamment intestinales) de gravité variable. **(Top santé)**



Figure 19 : Escherichia coli

a.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie environnementale omniprésente qui provoque des infections humaines opportunistes. Un grand nombre de voies métaboliques et de gènes régulateurs rendent cette bactérie hautement adaptative à diverses conditions de croissance. Sa polyvalence nutritionnelle, son grand nombre de facteurs de virulence et sa haute résistance aux antibiotiques rendent cette bactérie extrêmement difficile à éradiquer des individus infectés, en particulier des infections pulmonaires des patients atteints de mucoviscidose. Les principales caractéristiques de la bactérie liées à ses gènes de virulence et leur régulation, la résistance aux antibiotiques et les tendances futures des approches anti-Pseudom (Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. 2015).

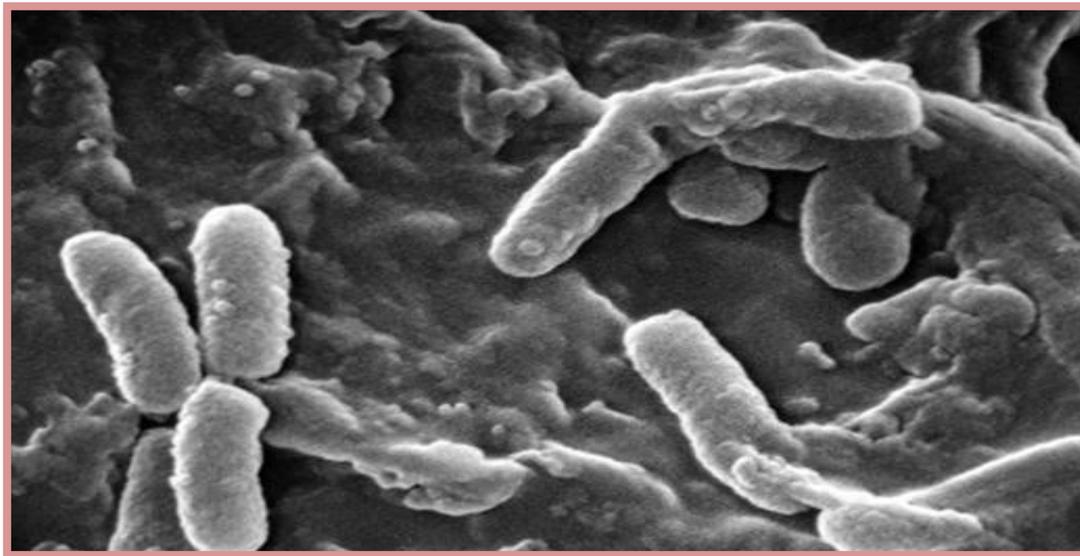


Figure 20 : *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter, 1872) Migula, 1900

a.4 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène multirésistant important (MDR) affectant les humains et une source majeure d'infections hospitalières associées à une morbidité et une mortalité élevées en raison des options de traitement limitées (Navon-Venezia, S., et al 2017). Ces circonstances préoccupantes sont dues à l'émergence de souches de *K. pneumoniae* qui ont acquis des traits génétiques supplémentaires et sont devenues soit hypervirulentes (HV) soit résistantes aux antibiotiques. Il s'agit d'une bactérie Gram-négative, encapsulée et non mobile qui réside dans l'environnement, y compris dans le sol et les eaux de surface et sur les dispositifs médicaux. Il est important de noter que *K. pneumoniae* colonise facilement les surfaces muqueuses humaines, y compris le tractus gastro-intestinal (GI) et l'oropharynx, où les effets de sa colonisation semblent bénins. À partir de ces sites, les souches de *K. pneumoniae* peuvent pénétrer dans d'autres tissus et provoquer de graves infections chez l'homme. (Paczosa, M. K. et al 2016)



Figure 20 : *Klebsiella pneumoniae* (Katherine, K.)

a.5. *Serratia marcescens*

Serratia marcescens appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, que l'on trouve couramment dans l'eau, le sol, les animaux, les insectes, les plantes. Le site d'infection le plus fréquent est la circulation sanguine, suivie de l'appareil respiratoire et du tractus gastro-intestinal. (Cristina, M. et al., 2019)

Serratia marcescens, un bacille à Gram négatif classé parmi les *Enterobacteriaceae*, est reconnu comme une cause d'infection nosocomiale depuis deux décennies. C'est une bactérie saprophyte largement distribuée, et a été trouvée dans les aliments, en particulier dans les variantes féculentes qui fournissent un excellent environnement de croissance. (Hejazi, A., et al ; 1997) Ce micro-organisme a une histoire romantique remontant à l'Antiquité, lorsque, à cause de la production d'un pigment rouge, il se faisait passer pour du sang. Au cours de ce siècle, cette pigmentation particulière, combinée à son apparente faible virulence, a conduit à son utilisation comme marqueur biologique. (Yu, V. L. 1979)



Figure 21 : *Serratia marcescens* (Sinhyu et al.,)

a.6. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis est un membre commun de la microflore épithéliale humaine et l'un des agents pathogènes nosocomiaux les plus fréquents. *S. epidermidis* est principalement impliqué dans les infections internes associées aux dispositifs médicaux. La prévalence de *S. epidermidis* dans ce type d'infection est probablement due à son abondance sur la peau humaine et à sa capacité à adhérer aux surfaces des cathéters et à former des biofilms. (Otto, M. 2009).

La bactérie gram-positif *Staphylococcus epidermidis* est la cause la plus fréquente d'infections associées aux cathéters et autres dispositifs médicaux à demeure. (Kaplan, J. et al., 2004)

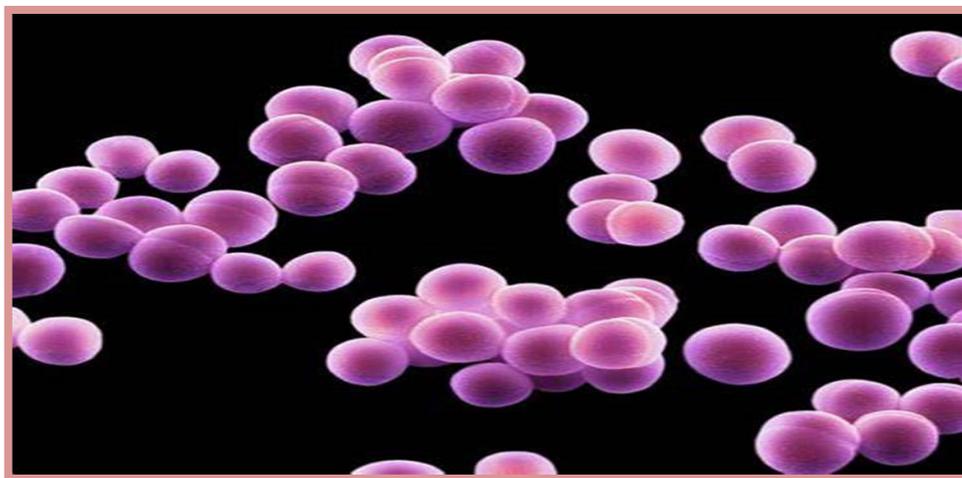


Figure 22 : *Staphylococcus epidermidis* (Gschmeissner, S).

b. champignon

Un champignon est un eucaryote hétérotrophe, le corps fructifère charnu et sporulé d'un mycète. Il est formé d'une tige (pied) surmontée d'un chapeau (piléus), présent au-dessus du sol ou de sa source de nourriture. Certains champignons sont comestibles mais d'autres sont toxiques. (Aquaportail)

b.1. *Fusarium oxysporum*

L'espèce *Fusarium oxysporum* est bien représentée parmi les communautés de champignons du sol, dans tous les types de sols du monde entier (Burgess, 1981). Cette espèce est également considérée comme un constituant normal des communautés fongiques de la rhizosphère des plantes (Gordon et Martyn, 1997). Toutes les souches de *F.oxysporum* sont saprophytes et capables de croître et de survivre pendant de longues périodes sur la matière organique dans le sol et dans la rhizosphère de nombreuses espèces végétales (Garrett, 1970). De plus, certaines souches de *F. oxysporum* sont pathogènes pour différentes espèces végétales ; Ils pénètrent dans les racines induisant soit la pourriture des racines, soit la trachéomycose lorsqu'ils envahissent le système vasculaire. De nombreuses autres souches peuvent pénétrer dans les racines, mais n'envahissent pas le système vasculaire et ne causent pas de maladie (Olivain et Alabouvette, 1997).

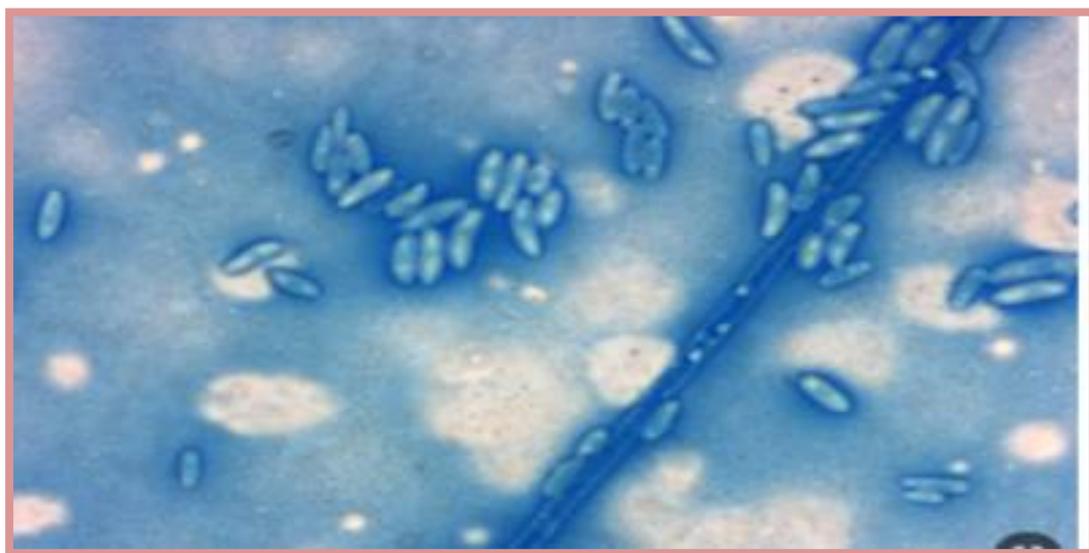


Figure 23 : *Fusarium oxysporum*

b.2. *Botrytis*

Le *botrytis* ou pourriture grise est une infection provoquée par le champignon *Botrytis cinerea*. Ce dernier se développe aussi bien à l'air libre que sous serre. Le champignon *Botrytis* peut s'attaquer à n'importe quel tissu végétal : feuilles, tiges, fruits, légumes. En règle générale, il profite des plaies liées aux travaux horticoles tels que l'effeuillage, la coupe, l'ébourgeonnage, etc. Les pics de propagation et de croissance du *botrytis* ont surtout lieu lorsque l'air a un taux d'humidité élevé et que les températures sont importantes (entre 17 et 23 °C). Ces conditions le rendent donc particulièrement virulent lors des pluies estivales, ainsi

que pour les cultures sous serre. La propagation de la maladie y est d'ailleurs beaucoup plus rapide à cause de la proximité des plantes. (**jardiner-malin**)



Figure 24 :Botrytis

II.2.1.2. Les antimicrobiens

a. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des médicaments qui ont la capacité de tuer ou d'inhiber la croissance de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les parasites. Ils sont utilisés pour traiter les infections bactériennes chez les humains et les animaux. Les antibiotiques sont également utilisés en médecine vétérinaire pour prévenir les maladies chez les animaux d'élevage. (**Mandell, G. L., Bennett, J. E., & Dolin, R. 2015**).

b. Phytomolécules antimicrobiennes

Les phytomolécules antibactériennes sont des composés naturels extraits de plantes qui ont des propriétés antimicrobiennes et sont capables d'inhiber la croissance ou de tuer les bactéries pathogènes. Ces molécules peuvent agir de différentes manières pour lutter contre les bactéries, comme la perturbation de la membrane cellulaire, l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, l'altération de l'ADN ou l'inhibition de la synthèse des protéines bactériennes.

Les phytomolécules antibactériennes ont suscité un intérêt croissant dans la recherche de nouveaux agents antimicrobiens en raison de leur potentiel thérapeutique et de leur sécurité relative par rapport aux antibiotiques synthétiques. Ils sont également considérés comme une

alternative naturelle aux antibiotiques pour éviter le développement de la résistance bactérienne (Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. 2011)

II.2.2. Activité antioxydant

II.2.2.1. Généralité

L'oxygène est au centre d'un paradoxe car d'une part, il est un élément essentiel pour la vie et, d'autre part, il génère des composés, les espèces réactives de l'oxygène (ROS= stress oxydatif) . (Démarchez, M. 2012)

Le stress oxydatif est un phénomène biologique. Sans rapport avec le sens communément reconnu au stress dans cette expression. (Bara, F., et al 2012). Tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser.

Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas des ressources antioxydants (docteur clic)

Le stress oxydant a été incriminé dans le vieillissement et la physiopathologie de nombreuses maladies (Baudin, B. 2020)

II.2.2.2. Définition de stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. (Migdal, C. and Serres, M. 2011) Au niveau de l'organisme, appelée stress oxydant (HAMMA, S. 2019)

II 2.2.3. Origine de stress oxydatif

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présente normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable, mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. (Abidellah Nadia Dib Nadjet, K. N. (2011))

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines : déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. Pour y faire face l'organisme dispose d'enzymes antioxydants codés par un

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

génomique permettant une adaptation à une dose raisonnable de radicaux de l'oxygène (Favier, A. 1997)

II.2.2.4. Les conséquences du stress oxydant

Les ERO peuvent provenir de différents compartiments cellulaires : la mitochondrie, même en cas d'hypoxie (chaîne respiratoire), le réticulum endoplasmique (RE) (mono-oxygénases), la membrane plasmique (oxydases), les peroxysomes et le cytoplasme. Ils peuvent être produits directement par des rayonnements, des molécules endogènes ou des xénobiotiques. Ils exercent des effets sur les acides nucléiques, ARN, ADN nucléaire et mitochondrial (génétoxicité), sur les lipides membranaires, conduisant à des intermédiaires toxiques, sur les protéines à des niveaux différents allant jusqu'à la carbonylation et la dénaturation, et sur d'autres composants cellulaires. (Barouki, R. 2006) , il réduit les quantités de collagène et engendre l'apparition de rides (supernutrition)

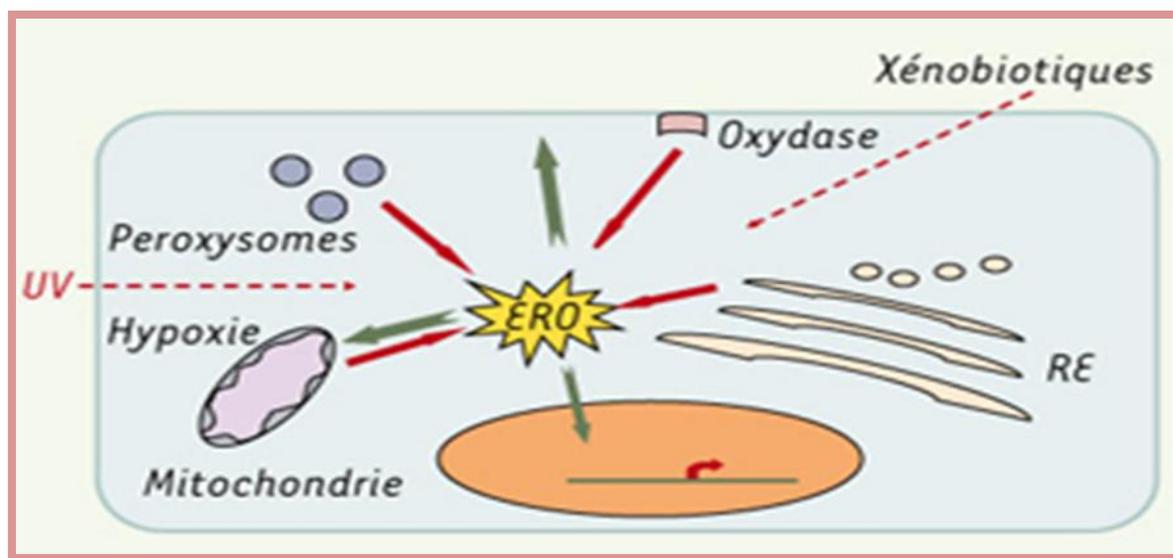


Figure 25 : l'origine et les conséquences biologiques du stress oxydant

II.2.2.5. Les radicaux libres

a. Définition

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. (Fontaine, E. et al., 2007) centrés sur l'oxygène (Gardès-Albert, et al., 2003)

C'est Sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

cellulaires. Ils se forment de façon inévitable en parallèle au métabolisme énergétique et par une multitude d'autres voies. (Aurousseau, B. 2002)

Les radicaux libres sont naturellement produits et éliminés dans l'organisme. Mais, sur le long terme, une production excessive use les mécanismes de défense. (Aurousseau, B. 2002).

b. Principe source de productions des radicaux libre

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. (I.Hininger-Favier.).

Tableau 9 : principales sources des radicaux libres (Marwa, R., & BENOUDINA, M. 2019).

Sources des radicaux libres	
Endogène	Exogène
Mitochondrie (La chaîne respiratoire mitochondriale)	L'exposition aux rayons UV,
Peroxisomes	L'exposition aux métaux toxiques
Réticulum endoplasmique	Des agents cancérogènes
L'autooxydation de molécules	Le tabagisme et l'alcool
Xanthine oxydase	Le stress intellectuel ou émotionnel
NADPH oxydase	La pollution

b.1. Production endogène (interne)

La principale source endogène de production d'EROs in vivo est la respiration cellulaire (la chaîne respiratoire mitochondriale). Ainsi, les peroxysomes, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO. (Saada, T. 2022)

b.2. Source exogène (externes)

L'environnement dans lequel nous vivons tout comme notre mode de vie sont à l'origine d'une augmentation de la production de ERO dans notre organisme et sont générateurs du stress oxydant. Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds toxiques ou certaines carences nutritionnelles. (Chayma, L., & Djihane, M. 2021).

c. Les différents types des ROS

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes (Favier, 2003)

Les radicaux primaires, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

dériverent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion super oxyde $O_2\bullet$, et le radical Hydroxyle $OH\bullet$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO\bullet$. Ils jouent un rôle particulier en physiologie.

- ✓ Les radicaux secondaires sont formés par la réaction de radicaux sur des substances biochimiques composés de la cellule.

D'autres espèces dérivées de l'oxygène appelées espèces à oxygène actif, telles que l'oxygène simple, le peroxyde d'hydrogène ou le nitroperoxyde, ne sont pas des radicaux libres, mais sont réactives et peuvent être des précurseurs d'origine.

Tableau 10 : Les principales espèces réactives de l'oxygène. (Hanot, M. 2008.)

Oxygène	$3O_2$
Oxygène singulet	$1O_2$
Anion superoxyde	O_2^-
Radical hydroxyle	$HO\bullet$
Radical hydroperoxyle	$HOO\bullet$
Radical peroxyde	$ROO\bullet$
Hydroperoxyde	$ROOH$
Radical alkoxyde	$RO\bullet$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Oxyde nitrique	NO
Peroxyde nitrique	$ONOO^-$
Hypochlorite	ClO^-
Pouvoir oxydant	$HO\bullet \geq RO\bullet \geq HOO\bullet \geq ROO\bullet \geq NO\bullet$

d. Rôle de radicaux libre

Alors que dans le cadre d'une réponse à un stress biotique les ERO ont un rôle de défense car ils sont toxiques pour l'organisme agresseur, ces molécules jouent un rôle de second messager dans la réponse à un stress abiotique. Très peu de senseurs de ces ERO sont connus chez les plantes. Ce rôle de détection est assuré chez les procaryotes et les champignons par certaines histidines kinases.

Les ERO jouent un rôle dans l'activation de facteurs de transcription. Cette régulation de la transcription s'opérerait grâce à des interactions entre des facteurs de transcription et des éléments cis spécifiquement sensibles au stress oxydatif situés dans la région promotrice de certains gènes.

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes qui jouent un rôle dans la défense immunitaire contre les agents pathogènes. Les ERO sont des produits essentiels au fonctionnement cellulaire ainsi, ils seraient impliqués dans la prolifération cellulaire la mort cellulaire programmée et agiraient comme second messager. (Bougherra, S., et al., 2009.)

II. 2.2.6. Les systèmes antioxydants

II. 2.2.6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

a. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de l'organisme contre les ERO (Khithar, 2020). Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), (Chayma, L., & Djihane, M. 2021) et le système thio rédoxine et peroxirédoxine (Trx).

- **Superoxyde dismutases :** Les SOD représentent une des premières lignes de défense antioxydante. Ce sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation mono-électronique du $O_2^{\bullet-}$ en dioxygène et H_2O_2 .
- **Les GPx :** sont des sélénoprotéines qui catalysent la réduction de l' H_2O_2 et des hydroperoxydes de lipides en H_2O et en alcools lipidiques respectivement en une réaction utilisant le glutathion (glutamyl-cystéinyl-glycine) réduit (GSH) comme co-substrat.
- **La catalase :** est une enzyme hémique essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les hématies. Elle catalyse la dismutation d' H_2O_2 .
- **Système thiorédoxine et peroxirédoxine :**

L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine (Trx) qui est régénérée par le NADPH sous l'action d'une séléno-enzyme, la thiorédoxine réductase (TrxR). La Trx intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène. Les peroxirédoxines (Prx) constituent un groupe de séléniothiol peroxydases non spécifiques qui contribuent également au contrôle redox cellulaire par l'intermédiaire de leur capacité à éliminer les hydroperoxydes organiques et l' H_2O_2 . (HAMMA, S., et al.,)

b. Les Systèmes antioxydants non enzymatiques

➤ Systèmes antioxydants endogènes

Ce groupe de systèmes anti-oxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) . La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires. (MEZITI, A. 2009)

➤ Systèmes antioxydants exogènes

Les substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piègeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. A titre d'exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases . Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les phytates, huiles essentielles. Flavonoïdes apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de piégeurs de radicaux libres. (MEZITI, A. 2009).

II.2.3. Activité antidiabétique

II.2.3.1. Généralité

La définition du diabète est fondée sur le seuil glycémique à risque de microangiopathie en particulier de rétinopathie (Midoun ., 2015). Le diabète se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (7 mmol/l) à deux reprises (Midoun ., 2015). Cette définition repose en fait sur plusieurs études épidémiologiques prospectives qui ont montré de façon convergente que lorsque la glycémie à la deuxième heure de l'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) est supérieure ou égale à 2 g/l, il existe un risque de survenue, dans les 10 à 15 ans suivants, d'une rétinopathie diabétique. Dans la mesure où une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l correspond à une glycémie à la 2ème heure de l'HGPO supérieure ou égale à 2 g/l, on n'a plus besoin de recourir à « l'étalon or » de l'HGPO (Midoun ., 2015).

Le diabète est une maladie grave, dont les complications peuvent être dévastatrices, et qui frappe à tout âge partout dans le monde (**Association canadienne du diabète, 2008, p. S1**)

II.2.3.2. Le diabète sucré

Le diabète sucré est la conséquence d'une diminution de la sécrétion d'insuline, associée à des degrés variables à une résistance des tissus périphériques à l'insuline aboutissant à une hyperglycémie. Les premiers symptômes sont liés à l'hyperglycémie et comportent polydipsie, polyurie et vision floue. Les complications tardives comprennent des anomalies vasculaires, une neuropathie périphérique, une néphropathie et une prédisposition à l'infection (le manuel MSD) L'insuline est une hormone sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Chez une personne non diabétique, l'insuline est sécrétée de manière continue et elle régule notamment le taux de glucose (ou glycémie) dans le sang. (**federation des diabetiques**)

Il existe 2 catégories principales de diabète sucré :

➤ **Type 1**

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune multifactorielle caractérisée par la destruction des cellules β -pancréatiques qui produisent l'insuline. L'activation pathologique du système immunitaire entraîne une inflammation du pancréas, la production d'anticorps anti-îlots et l'infiltration des îlots par des cellules cytotoxiques. (**Science direct**)

Réduction d'insuline absente à cause de la destruction auto-immune de la cellule bêta du pancréas.

Dans le diabète de type 1 (anciennement appelé juvénile ou insulino-dépendant), la production d'insuline est insuffisante ou absente en raison d'une atteinte auto-immune du pancréas avec destruction des cellules bêta, probablement déclenchée par une exposition environnementale chez des personnes génétiquement sensibles. La destruction progresse de façon infraclinique pendant des mois ou des années jusqu'à ce que la masse cellulaire bêta diminue en dessous d'un seuil où la concentration d'insuline n'est plus suffisante pour contrôler les glycémies plasmatiques. Le diabète de type 1 se développe généralement au cours de l'enfance ou de l'adolescence et était, jusqu'à récemment, la forme de diabète la plus fréquente avant l'âge de 30 ans ; cependant, il peut aussi se développer chez l'adulte (diabète latent auto-immun de l'adulte, qui, souvent, semble à première vue être de type 2). Certains cas de diabète de type 1 ne semblent pas être de nature auto-immune et sont considérés

comme idiopathiques. Le diabète de type 1 représente < 10% des cas de diabète. (**Manuel MSD**)

➤ **Type 2**

Résistance à l'insuline

Dans le diabète de type 2 (antérieurement dénommé de l'adulte ou non insulino-dépendant), la sécrétion d'insuline est inappropriée car les patients ont développé une résistance à l'insuline. La résistance hépatique à l'insuline conduit à une incapacité à supprimer la production de glucose hépatique et la résistance périphérique à l'insuline compromet la captation périphérique du glucose. Cette association donne lieu à des hypoglycémies à jeun et postprandiales. Les taux insuline sont souvent très élevés, surtout au début de la maladie. Plus tard au cours de la maladie, la production d'insuline peut diminuer progressivement, ce qui se traduit par une majoration de l'hyperglycémie.

Le diabète de type 2 est de plus en plus fréquent chez l'enfant car l'obésité infantile est devenue épidémique. (**Manuel MSD**)

II.2.3.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel apparaît pendant la grossesse chez la femme n'ayant jamais eu de diabète auparavant. Il présente un risque pour la mère et l'enfant car il augmente pour les deux la probabilité de développer un diabète de type 2 par la suite, Il est le plus souvent détecté lors d'un dépistage prénatal et non pas parce les symptômes (**novonordisk**)

II.2.3.4. Diabète secondaire (spécifique)

Les étiologies sont multiples. On peut citer : (**Tournant F et al**) , (**Perlemuter L et al**) , (**Collin G et al**)

- **Maladies pancréatiques** : le diabète se déclare à la suite d'une atteinte du pancréas exocrine lorsque plus de 80 % des îlots pancréatiques ont été détruites (Alvin CP) Il peut s'agir de : pancréatite chronique calcifiante, cancer du pancréas, pancréatectomie partielle ou totale, hémochromatose, pancréatite fibrocalcifiante tropicale ou nutritionnelle, mucoviscidose.
- **Maladies endocriniennes** : De nombreuses endocrinopathies peuvent entraîner un diabète, lié à l'hypersécrétion d'hormones qui s'opposent à l'action de l'insuline. Parmi elles on peut citer : acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, syndrome de Conn, phéochromocytome, glucagonome, somatostatine, tumeurs carcinoïdes.

- **Diabètes iatrogènes** : dus soient aux médicaments (corticoïdes, progestatifs norstéroïdes, diurétiques thiazidiques, ethinyl estradiol, β bloquants, β agonistes, antirétroviraux, pantamidine, diazoxide), soient aux toxiques (vacor).
- **Les autres diabètes** relativement rares sont dus à la cirrhose du foie, à l'insuffisance rénale terminale, au diabète avec acanthosis nigricans sans obésité, au diabète mitochondrial.

II.2.3.5. Diagnostic du diabète sucré

Le diagnostic positif de diabète sucré est porté sur une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l, à partir de laquelle apparaît un risque de rétinopathie. L'hyperglycémie peut être liée à de multiples mécanismes de perturbations de l'homéostasie glucidique, et l'étape diagnostique importante est celle du type de diabète. Quelques minutes d'interrogatoire suffisent en général pour diagnostiquer les deux formes les plus fréquentes, les diabètes de type 1 et 2, dont les présentations habituelles sont bien distinctes : l'âge, les circonstances de découverte, l'histoire pondérale, les antécédents familiaux et obstétricaux sont en règle différents. Lorsque le tableau n'y correspond pas, il faut savoir évoquer d'autres types : diabètes pancréatiques, médicamenteux, génétiques, endocriniens. Le contexte et l'examen clinique sont essentiels pour cette orientation. Il faut aussi connaître la possibilité de présentations particulières pour les diabètes de type 1 et 2. (**Rigalleau, V., et al**)

II.2.3.6. Traitement du diabète sucré

a. Traitement par médicaments

a.1.L'insulinothérapie

L'insuline en injection est utilisée comme traitement du diabète pour les diabétiques de type 1 insulino-dépendants : le pancréas ne produit pas d'insuline. C'est pourquoi, elle doit s'injecter de l'insuline plusieurs fois par jour afin d'imiter le fonctionnement normal du pancréas (CEED). Et les diabétiques de type 2 insulino-requérants. C'est ce qu'on appelle l'insulinothérapie : le pancréas produit encore de l'insuline, mais celle-ci n'est pas bien utilisée par le corps. La personne a donc souvent besoin de médication antidiabétique. Il peut arriver qu'une injection d'insuline soit nécessaire (CEED). Elle peut également être prescrite, dans certains cas et de façon temporaire, aux femmes atteintes de diabète gestationnel. (**federation des diabetiques**)

a.2.Les antidiabétiques oraux

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

Les antidiabétiques oraux sont des médicaments utilisés dans la prise en charge du diabète de type 2. Ils permettent de réduire la concentration de glucose dans le sang. Leur administration s'effectue par voie orale.

Tableau 11 : les antidiabétiques oraux et leurs modes d'actions

Les antibiotiques oraux	Mode d'action
<p>Les biguanides Metformine :</p> <p>Glucophage®</p> <p>Stagid®</p>	<p>Traitement de 1ère intention dans le diabète de type 2, après échec des règles hygiéno-diététique (Borma et al., 2012 P .schwartz et al., 2013). Il agit pour la:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diminution de l'insulinorésistance ; de la glycogénolyse et de l'absorption intestinale du glucose. • Augmentation de la captation cellulaire de glucose. • Effet hypocholestérolémiant sur le long terme.
<p>Sulfamide hypoglycémiant</p> <p>Glibenclamide</p> <p>Doanil®.</p> <p>Gliclazide, Diamicron®</p>	<p>Traitement de 2ème intention (schwartz et al .,2013)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ils stimulent l'insulinosécrétion en potentialisant les effets du glucose sur la cellule β.
<p>Glinide</p> <p>RepaglinideNovonorm®</p>	<p>Traitement de 2 ème intention (Borma et al 2012, P schwartz et al ., 2013)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Stimulation de la sécrétion pancréatique d'insuline
<p>Inhibéteur de</p> <p>Dipeptidyle-iptidase</p> <p>4(DPP4)</p> <p>Sitagliptinejanivia® ;</p> <p>Xelevia®</p>	<p>Traitement de 2ème intention en bithérapie avec la metformine (schwartz et al., 2013, Chaudhury A et al., 2017)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Blocage de la dégradation de GLP-1 sécrété par les cellules neuroendocrine
<p>Agoniste du GLP-1</p> <p>ExenatideByetta®</p> <p>Injectable</p> <p>Liraglutidevictoza®</p>	<p>Traitement de 2ème intention en bithérapie avec metformine. (A.J .Scheen, 2014).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mime l'action du GLP-1 ; Il est protégé contre l'action de l'enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), qui dégrade rapidement le GLP-1 naturel, grâce à une substitution de l'acide aminé en

CHAPITRE II : Substances Bioactives et Activités Biologique

Injectable	position 2 de l'extrémité N-terminale
Inhibéteur des Alpha Glucosidases AcarboseGlucor® MiglitolDiastabol®	<ul style="list-style-type: none">• Ralentissement de la dégradation de glucide complexe en monosaccharides absorbables.• Diminution de glycémie post prandiale. A équilibre toujours en association avec d'autres antidiabétiques oraux (Naquviet al 2011, schwartz et al ., 2013)

b. Traitement naturel

Plusieurs médicaments à base de plantes pourraient se retrouver dans votre pharmacie. En effet, près de la moitié des médicaments qu'on utilise aujourd'hui ont une composition d'origine Végétale, et le contient des extraits de plantes ou des molécules actives directement des plantes. Ce faisant, ces végétaux forment le mode de traitement plus généralement dans le monde (**selection.ca**)

Nombreuses des plantes médicinales sont utilisées dans les médecines traditionnelles pour traiter le diabète. Es plantes médicinales sont plus abordables et ont moins d'effets secondaires que les drogues synthétiques, et sont plus efficaces dans le traitement du diabète sucré. (**europemc**)

Plusieurs composés phytochimiques, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des glycosides, des polysaccharides, obtenus à partir de plantes ont été signalés comme ayant une activité hypoglycémique (**Grover et al., 2002**).

➤ Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des amines produites naturellement. Le resvératrol est une phytoalexine qui augmente la captation glucose chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine (**Penumathsa et al., 2008**) berbérine extraite à partir de *Tinospora cordifolia* est connue son activité hypoglycémique puissante (**Singh et al. 2003**). Les alcaloïdes tels que la catharanthine, la vindoline et la vindolinine isolés de *Catharanthus roseus* ont également été rapportés réduire le taux de la glycémie (**Chattopadhyay et al., 1999**).

➤ Les flavonoïdes

Certains flavonoïdes ont des propriétés hypoglycémiantes car ils améliorent le métabolisme et l'oxydation des glucides altérés chez les diabétiques (**Song et al., 2005**). La quercétine est un flavonoïde important connu pour améliorer la glucokinase hépatique, vraisemblablement en améliorant les niveaux d'insuline des îlots. Il exerce également un effet stimulant sur la sécrétion en modifiant les niveaux de calcium (**Vessal et al., 2003**).

➤ Les polysaccharides

Plantes Médicaments tels que l'Aloe vera, l'Ocimum sanctum et l'Alpinia galanga Contient des polysaccharides qui augmentent les niveaux d'insuline et ont des propriétés hypoglycémiantes. Les polysaccharides liés aux protéines isolés ont montré la capacité d'augmenter les niveaux d'insuline sérique, de diminuer les niveaux de glucose sanguin et la tolérance au glucose. (Mukherjee et al., 2006).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (Ait Ouakrouch, 2015)

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta.
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta.
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta.
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans.
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose.
- Inhibition de β -galactosidase, de α -glucosidase et de α -amylase
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète.
- Stimulation de la glycogénogenèse et de la glycolyse hépatique.
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose.
- Diminution des activités du cortisol.

DEUXIEME PARTIE

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre III

Matériel et méthodes

CHAPITRE III : Matériel et méthodes

L'objectif de notre travail est l'évaluation des activités biologiques à savoir : l'activité antimicrobienne, antioxydant et enzymatique « *in vitro* » de la partie aérienne de la plante *Ruta graveolans* récoltée de la région d'El Khroub dans la wilaya Constantine.

Ce travail a été effectué au sein de laboratoire de pharmacologie et toxicologie, laboratoire de bactériologie et laboratoire de mycologie au centre de recherche en biotechnologie (CRBt) à Constantine.

Notre démarche expérimentale est résumée à travers le schéma suivant :

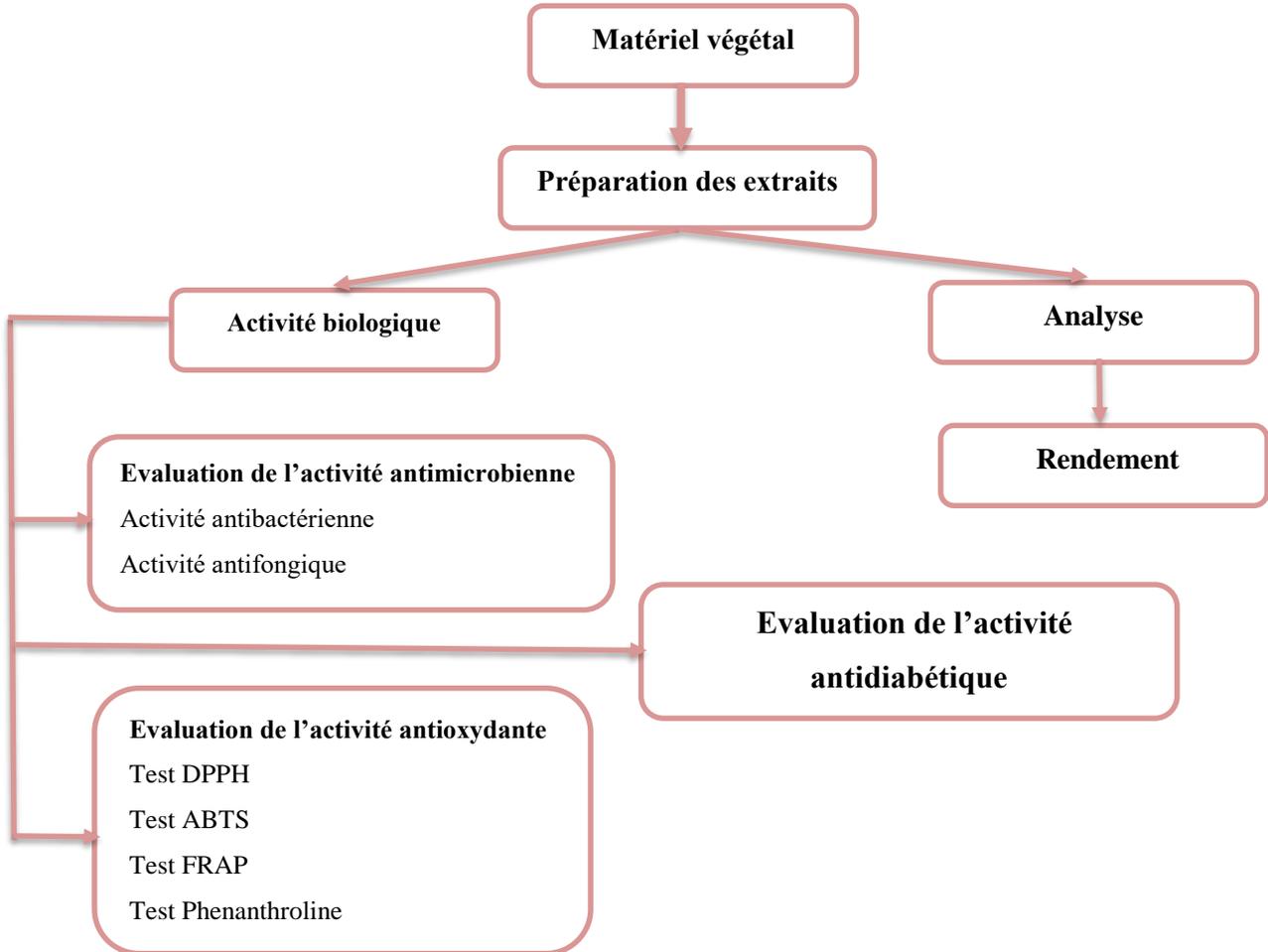


Figure 26 : Plan de la partie expérimentale

III .Matériel et Méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

L'espèce *Ruta graveolans* a été récoltée en mois de mai 2021 (période de floraison) dans la région d'El Khroub située à environ de 13.3 km au Nord de la ville de Constantine (Algérie) par le professeur Rebbas Khalef, membre du laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de nutrition en zones arides et semi arides, université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie. Après séchage à l'air ambiant et à l'abri des rayons solaires, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, la partie aérienne de cette espèce a été broyée en poudre fine dans un moulin électrique et récupéré dans des sacs propres puis conservée jusqu'à l'utilisation.

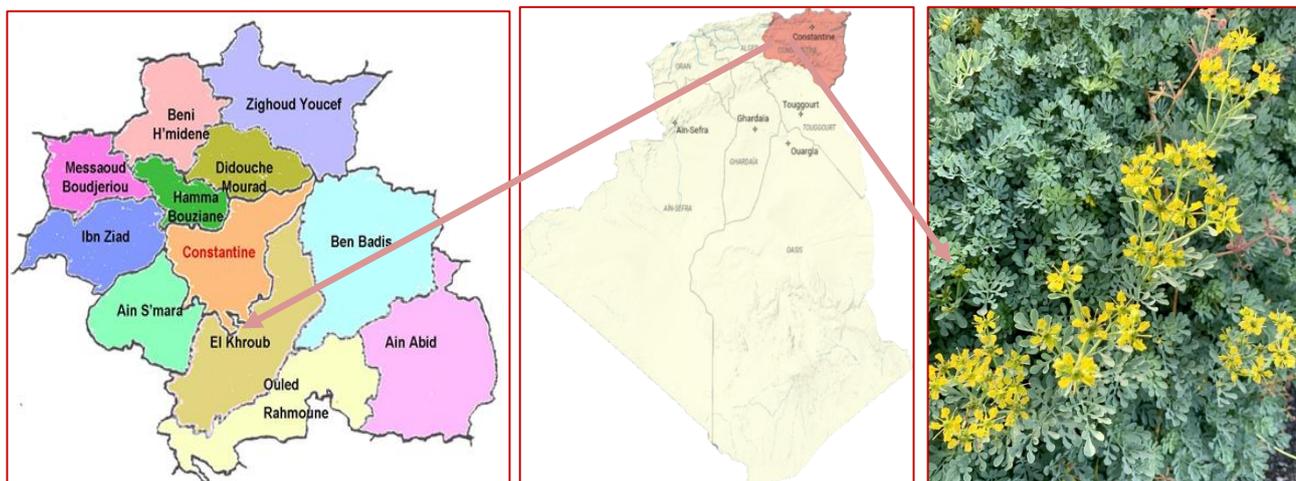


Figure 27 : Représentation photographique de la plante *Ruta graveolens* L. et localisation de sa région de récolte

III.1.2. Matériel du test de l'activité antimicrobienne

III.1.2.1. Les souches microbiennes et les milieux de cultures

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de notre plante sont les suivants :

Trois souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27853), *Serratia marcescens* (ATCC 14756),

Deux souches fongiques : *Fusarium oxysporum* et *Botrytis* sp.

Ils ont été fournis par le laboratoire de bactériologie et laboratoire de mycologie au centre de recherche en biotechnologie, Constantine.

Les milieux de culture utilisés sont le milieu Mueller Hinton pour les bactéries et le milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA) pour les moisissures.

III.2. Méthodes

III.2.1. Extraction par des solvants organiques

La préparation des extraits a été effectuée par des macérations trois fois successives du matériel végétal (50 g) par quatre solvants à polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol et butanol, sous agitation continue durant 24 heures. Le volume de solvant doit être approprié à la quantité de matière végétale utilisée pour une extraction complète des métabolites présents dans la plante.

Après la macération, les extraits sont filtrés avec un tulle, les filtrats obtenus sont ensuite évaporés en extraits secs à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température varie entre 35 à 60 C⁰ selon le solvant d'extraction utilisé.

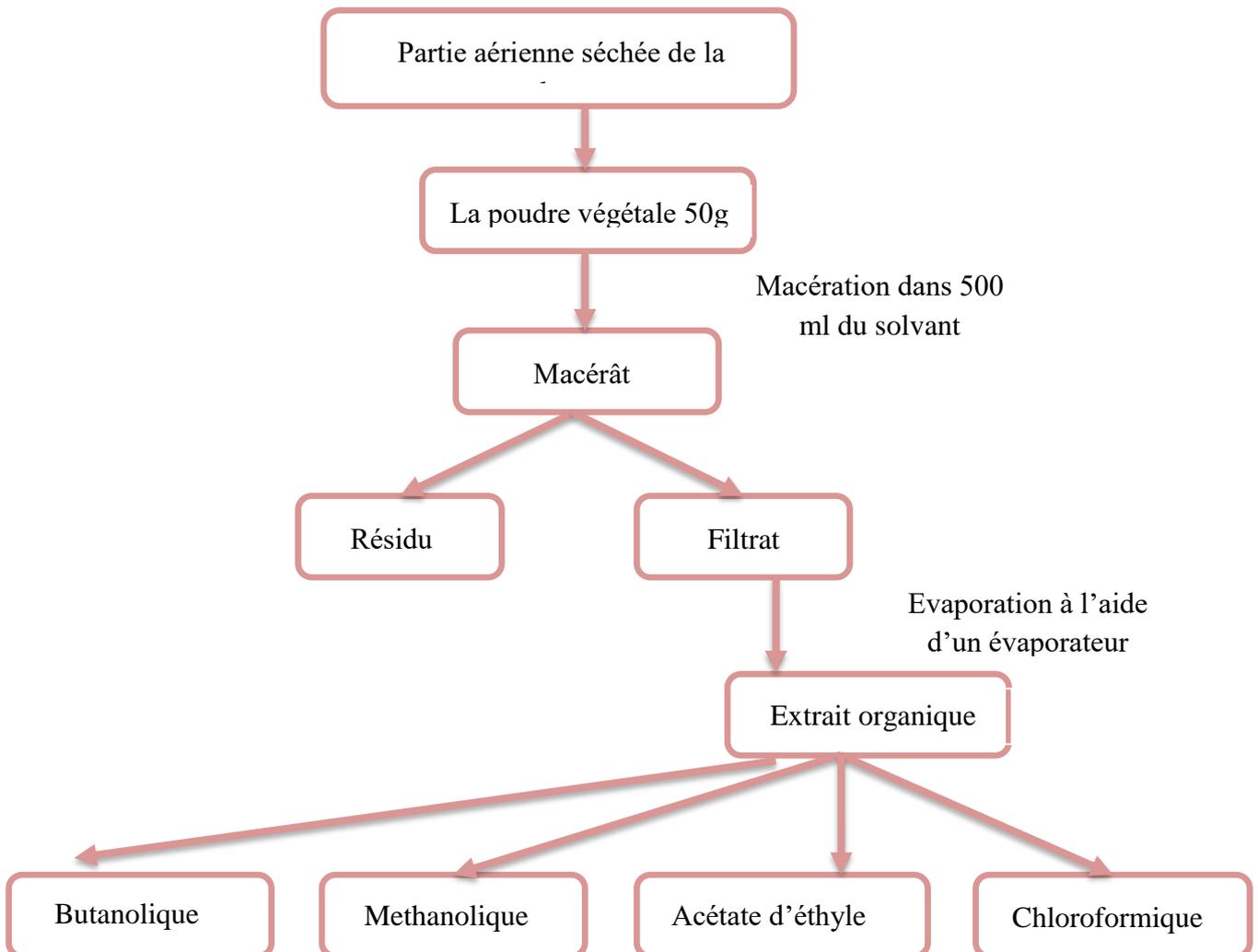


Figure 28 : Protocole de préparation de différents extraits bruts de *Ruta graveolens*

III.2.2. Calcul de rendement des extraits

Le rendement en extrait sec a été déterminé en calculant la perte de poids en pourcentage de la matière sèche de départ :

$$R\% = [(P1 - P2) / P3] \times 100$$

P1 : Poids du ballon après évaporation

P2 : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide)

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ (**Haddouchi, F.,2016**).

III.2.3. Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne

III.2.3.1. Détermination de l'activité antibactérienne

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de différents extraits a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en utilisant la méthode décrite par **Billerbeck (2007) et al.** Et reprise par **Djermane et al. (2021)** avec quelques modifications.

Cette méthode consiste à déposer des disques d'antibiotiques vierges de 0,6cm de diamètre, stériles et imprégnés des extraits étudiés (8mg/ml), sur le milieu de culture gélosé ensemencé auparavant par inondation par une culture bactérienne jeune de 18h.

L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de l'auréole d'inhibition développée autour des disques.

Les zones d'inhibition de la gentamicine et de DMSO ont été également déterminées dans des tests parallèles afin de contrôler la sensibilité des bactéries d'essai. Tous les tests ont été effectués en triple.

D'après De **Billerbeck (2007)**

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre ($\emptyset < 6\text{mm}$)

La sensibilité est intermédiaire pour un diamètre ($6\text{mm} < \emptyset < 13\text{mm}$)

La sensibilité est élevée pour un diamètre ($\emptyset > 13\text{mm}$)

III.2.3.2. Détermination de l'activité antifongique

L'activité antifongique des extraits a été évaluée par la méthode de disques. Cette méthode a été proposée par l'équipe de laboratoire de mycologie au centre de recherche en biotechnologie à Constantine, Algérie. Un disque de 6 mm de diamètre pris d'une culture jeune de champignon (obtenu d'un pré culture de 7 jours d'incubation) est déposé aseptiquement au centre de la boîte de pétri contenant le PDA. Ensuite un volume de 35 microlitre d'extrait est déposé sur le disque fongique. Après deux jours d'incubation à 35 °C,

la croissance mycélienne du champignon est mesurée à l'échelle millimétrique à l'aide d'une règle.

L'expérience est répétée 3 fois pour chaque extrait. Un témoin négatif est préparé en remplaçant l'extrait par le DMSO.

L'activité inhibitrice est exprimée en pourcentage et calculée selon la formule :

$$I = (C - T / C) \times 100$$

I= Taux d'inhibition en %

C= Croissance radiale du champignon en mm dans le test

T= Croissance radiale du champignon en mm dans le témoin

III.2.4. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydant

III.2.4.1. Test de DPPH

a-Principe

Ce test est basé sur la mesure de la capacité des composés antioxydants à piéger le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil). Le DPPH est un radical porte la couleur violette, en présence d'un composé antioxydant donneur d'atomes d'hydrogène, il perd sa couleur violette et il devient jaune (forme réduite, 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine) (**Brand-William et al., 1995**).

b. Préparation des solutions

Une solution de DPPH est préparée en mélangeant 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le mélange réactionnel est mis en incubation, à l'obscurité pendant 30min à température ambiante.

c. Procédure

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par **Blois (1958)**, en y apportant quelques modifications. Dans une microplaque 96 puits, 40 µl d'extrait à tester à différentes concentrations sont additionnés à un volume de 160 µl d'une solution de DPPH. L'absorbance est mesurée à 517 nm après avoir incubé la réaction à l'obscurité pendant 30 min. Le Trolox est utilisé comme standard antioxydant.

Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

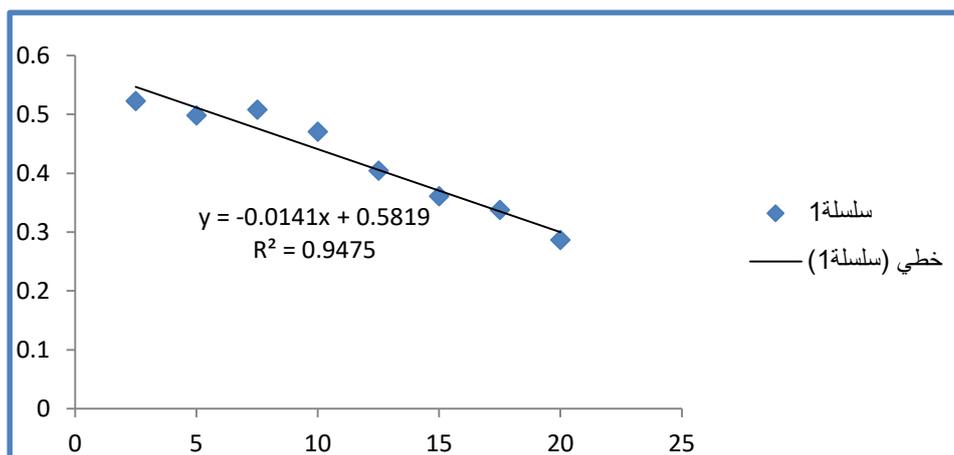


Figure 29 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test DPPH.

III.2.4.2. Test de l'ABTS

a- Principe

Ce test est basé sur la mesure de la capacité des composés antioxydants à piéger le radical libre ABTS (2,2'-azynobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le radical ABTS c'est un radical porte une couleur verte bleu intense. En présence d'un composé antioxydant donneur d'atomes d'hydrogènes, le passage du radical ABTS à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette couleur mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

b. Préparation des solutions

Une solution mère d'ABTS•+ est préparée en mélangeant une solution méthanolique d'ABTS à 7 mM, et une solution méthanolique de potassium (K₂S₂O₈, 2,45 mM) .Le mélange réactionnel est mis en incubation, à l'obscurité, pendant 16 h à température ambiante. La solution fille de travail d'ABTS•+est obtenue en diluant la solution mère d'ABTS•+avec du méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance d'environ 0,7 à 734 nm.

c-Procédure

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par (Re et al., 1999), en y apportant quelques modifications. Dans une microplaque 96 puits, Un volume de 160 µl de solution d'ABTS+ est mélangée avec 40 µl d'extrait à différent concentration. Après 10 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc (témoin négatif) et comparé à celle de l'antioxydant standard Tolorox.

L'activité anti-radicalaire est calculée en milligramme d'équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

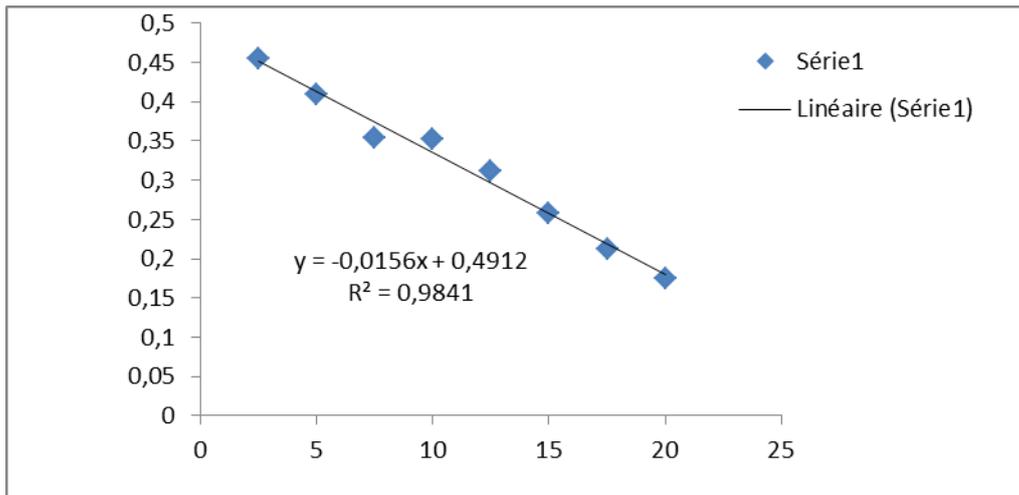


Figure 30 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test ABTs

III.2.4.3. Test de FRAP

a. Principe

Ce test est basé sur la réduction du fer par une réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition. Le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium [$FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$] est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par un virage de la couleur jaune du fer ferrique au bleu vert du fer ferreux qui est mesuré à une longueur d'onde de 700 nm (Oyaizu M .1986, Karagozeler A *et al.* .2008).

b. Préparation des solutions

Une solution tampon acide acétique / acétate de sodium à 300 mM à pH = 6,6 est préparée. Une Solution de $K_3Fe(CN)_6$ à (1%) et un réactif $FeCl_3$ (0.1%) (0.1 g de $FeCl_3$ dans 100ml H_2O) sont également préparés.

c. Procédure

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par Oyaizo (1986) avec une légère modification. Le test consiste à mélanger dans une microplaque 96 puits 10 μ l de l'extrait à différentes concentrations avec 40 μ l de tampon phosphate et 50 μ l d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$. Le mélange obtenu est incubé pendant 20 minutes à 50°C, puis 50 μ l d'acide trichloracétique (CCl_3COOH) sont ajoutés avec 40 μ l d'eau distillée et 10 μ l de chlorure de fer ($FeCl_3$). L'absorbance est mesurée à 700 nm contre un blanc ou l'extrait est remplacé par le méthanol (témoin négatif). L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle de l'antioxydant de synthèse Trolox (témoin positif).

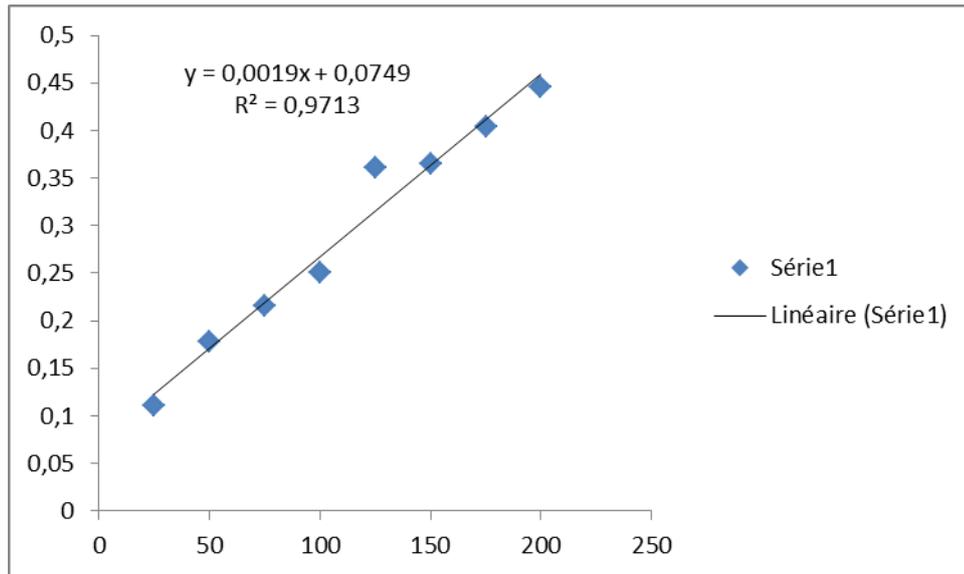


Figure 31 : La courbe d'étalonnage de TROLOX pour le test Frappe

III.2.4.3. Test du Phenantroline

a. Principe

Ce test est basé sur la formation d'un complexe stable (ferroïne) entre le fer ferreux Fe^{2+} et l'orthophénanthroline, ce complexe porte une couleur orangée mesurée à une longueur d'onde de 510 nm (Zaidi B., 2019).

b. Préparation des solutions

Une solution de Phenanthroline (0.5%) est préparée en mélangeant 0.05g de 1.10-phenanthroline dans 10ml de MeOH.

Une solution de Ferric chloride $FeCl_3$ (0.2%) est aussi réalisée en y déposant 0.02g mg de poudre dans 10ml de H_2O .

c. Procédure

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par Szydłowska-Czerniaka (2008), le protocole consiste à mélanger 10 μ l de notre extrait à différentes concentrations avec 50ul de $FeCl_3$ (0.2%) et 30ul de phenanthroline (0.5%) puis 110ul de MeOH, l'ensemble est incubé à l'obscurité pendant 20min à 30°C. La lecture de l'absorbance se fait à 510nm.

L'activité antioxydante a été exprimée en milligramme équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

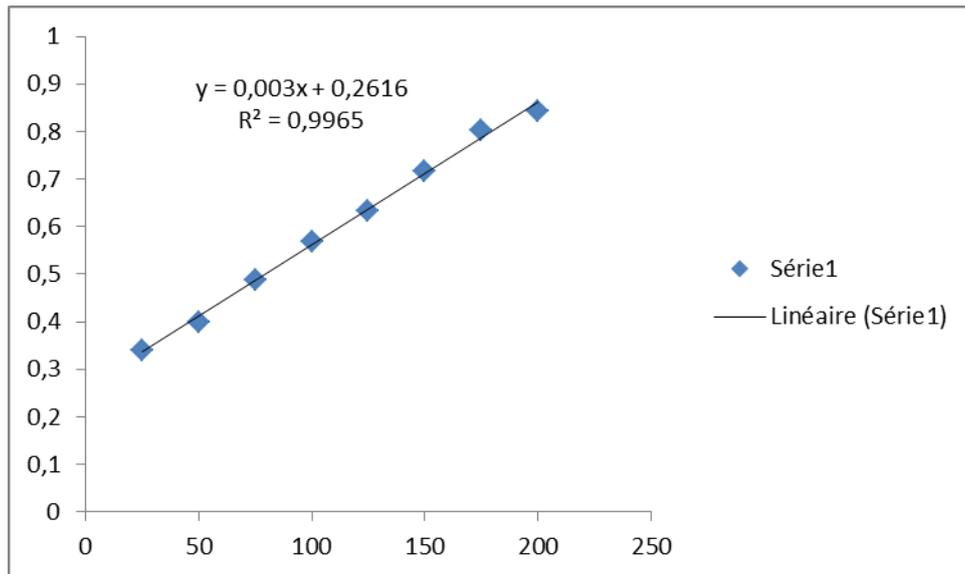


Figure 32 : Courbe d'étalonnage Trolox phenantroline

III.2.5. Activité anti alpha-amylase

. Tampons et réactifs à préparer :

- Enzyme alpha amylase 1U
- Amidon (0.1% mettre la solution dans microonde à plusieurs cycle de 15 sec
- HCl 1M : ajouter doucement à 45.83 ml d'eau , un volume de 4.17 ml d'HCL pure
- Solution IKI : * dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau

*ajouter 127 mg d'iode (5mM) , agiter jusqu'à dissolution complète

- Tampon phosphate ph 6.9 avec 6 mm NaCL(35.1 mg NaCL pour 100 ml de tampon)

a. Principe

L' α -amylase dégrade l'amidon en composés moins complexes qui ne peuvent pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l' α -amylase par un inhibiteur entraine l'accumulation de l'amidon qui réagit par suite avec l'iode pour donner un complexe bleu-noir dont l'absorbance est mesurée à 630 nm.

b. Procédure

La détermination de l'activité inhibitrice de l' α -amylase est réalisée selon la méthode de **Zengin et al., (2014)** avec des modifications. Dans une microplaque, 25 μ l de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 50 μ l de la solution d' α amylase (1 U/ml dans le tampon phosphate, 100 mM, pH, 6,9, 6 mM NaCl). Le mélange est incubé pendant 10 min à 37 °C puis 50 μ l d'amidon 0.1% est ajouté. Une deuxième incubation pendant 10 min à 37 °C est effectuée et la réaction est stoppée par l'ajout de 25 μ l HCl (1M), et l'amidon est révélé par 100 μ l IKI. La lecture est effectuée à 630 nm contre un contrôle négatif contenant tous les

réactifs sans les extraits. Un autre contrôle qui consiste à réagir la solution d'amidon utilisée avec l'iode est aussi effectuée. Parallèlement, des blancs extrait ne contenant pas la solution enzymatique à différentes concentrations sont performés. Les pourcentages d'inhibition sont calculés utilisant la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = 1 - \frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)}$$

Ac=Absorbance des blancs extrait (tous les réactifs sans la solution enzymatique)

Ae=Absorbance du contrôle négatif sans inhibiteur (tous les réactifs sans extrait)

Résultats et discussion

IV Résultats et discussion

IV.1. Rendement d'extraction

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne de la plante *Ruta graveolans* L. a été effectuée par simple macération en utilisant des solvants à polarité différente, il s'agit de chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et méthanol (70%).

Cette extraction a permis d'obtenir quatre extraits bruts : Extrait chloroformique (EChL), extrait d'acétate d'éthyle (EAcE), extrait n-butanolique (EBuOH) et extrait méthanolique (EMeOH), exprimé en pourcentage de la masse d'extrait par rapport à la masse de la matière végétale sèche

Tableau 12 : Rendements des huiles essentielles et des divers extraits bruts en pourcentage Par rapport au poids total.

Type d'extrait	Rendement d'extraction %
Extrait chloroformique	1.73 %
Extrait d'acétate d'éthyle	1.81 %
Extrait butanolique	2.04 %
Extrait méthanolique	8 %

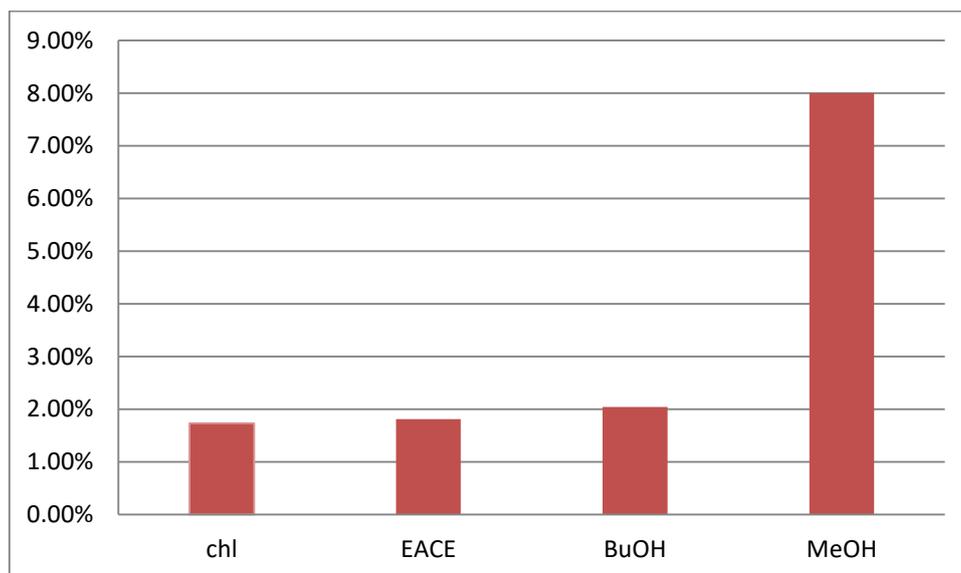


Figure 33 :Rendements des divers extraits bruts en pourcentage Par rapport au poids total

D'après les résultats obtenus, les rendements d'extractions varient en fonction du solvant d'extraction et sont compris entre 1,73 et 8 %, le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique (8%), suivi par l'extrait butanolique (2.04 %), puis l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait chloroformique (1.81 % et 1,73% respectivement). Ceci signifie que l'extraction avec les solvants alcooliques donne un rendement plus important que l'extraction avec les autres solvants organiques.

En effet, selon **Seidel (2005)**, l'utilisation des solvants alcooliques permet d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de substances polaires, moyennement et faiblement polaires.

Le méthanol aqueux a donné le meilleur rendement massique comparativement au butanol et aux autres solvants organiques. C'est un solvant polaire connu pour extraire une grande variété de molécules, y compris les sucres, les glycosides et les composés légèrement polaires (**Bonnaillie et al., 2012**).

Le mélange méthanol/eau (70/30 : v/v) est considéré comme un mélange de polarité élevée, permettant une extraction optimale des composés phénoliques. Ceci est confirmé par les résultats de nombreux travaux antérieurs qui ont montré que le rendement d'extraction augmente d'une manière significative avec l'utilisation des solvants mélangés avec l'eau par rapport aux solvants organiques purs (**Garcia-Salas et al., 2010 ; Bucić-Kojić et al., 2011 ; Lien et al., 2015**).

IV.2. Activité antimicrobienne

IV.2.1. Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne de différents extraits de notre plante a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Cette méthode nous permet une estimation qualitative de l'effet antibactérien des extraits en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition (mm) des disques contenant un volume d'extrait à une concentration de (8mg/ml). Cette méthode repose sur la diffusion des composés antimicrobiens en milieu gélosé après un certain temps de contact entre l'extrait et la bactérie testée. La souche bactérienne sera qualifiée de peu sensible, très sensible, ou résistante en fonction du diamètre de la zone d'inhibition.

Selon De **Billerbeck (2007)**, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 6 mm, la sensibilité est intermédiaire pour un diamètre compris entre 6 et 13mm, et la sensibilité est élevée pour un diamètre supérieur à 13mm.

Les tests antibactériens ont été évalués vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (Gram+ et Gram-), et les résultats obtenus sont présentés dans les figures 36 et le tableau 13

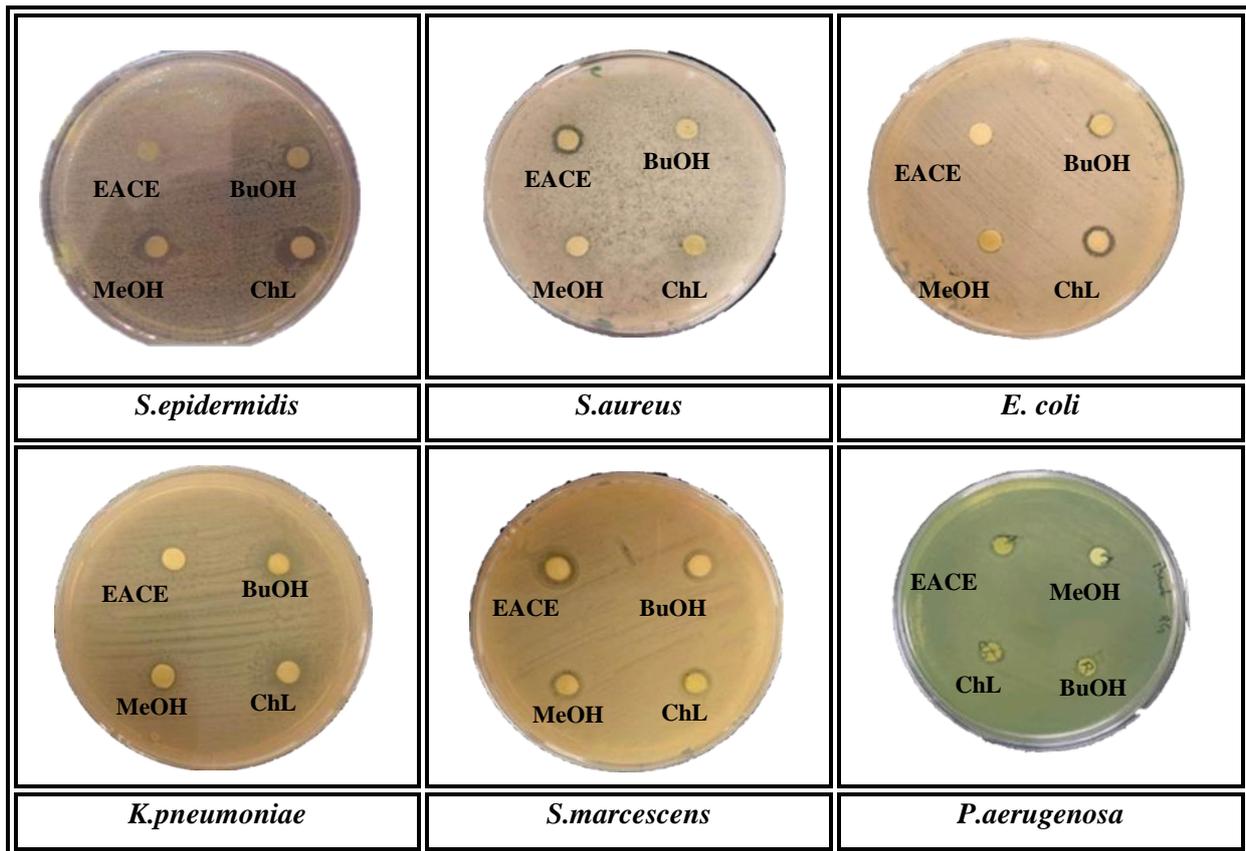


Figure 34 : Diamètres des zones d'inhibitions de différents types d'extraits de la partie aérienne de *R.graveolens*

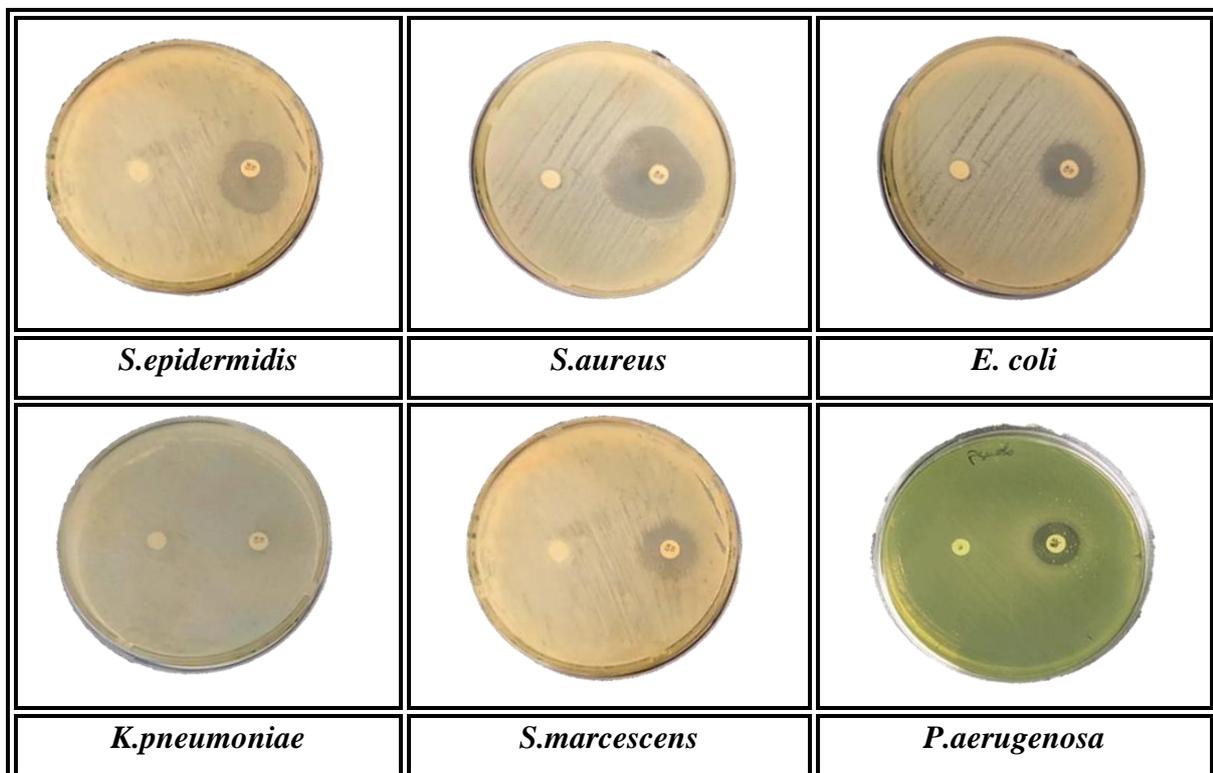


Figure 35 : Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées

Tableau 13 : Sensibilité (zone d'inhibition en mm) des souches bactériennes testées vis-à-vis les extraits de *Ruta.graveolans* L, la gentamycine et le DMSO.

Type d'extrait	zone d'inhibition en mm					
	Bactérie à Gram+		Bactérie à Gram -			
	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.aeruginosa</i>
EMeOH	6.22±0.02	6.2±0.03	6.8±0.05	6.3±0.01	8.8±0.02	6.83±0.01
EBuOH	6.24±0.03	6.4±0.19	9.4±0.83	6.1±0.01	8.8±0.01	6.24±0.23
EAcE	6.5±0.29	14±0.66	7.2±0.02	6.1±0.36	9.2±0.11	9.02±0.26
EChL	8.4±0.18	6.8±0.01	6.1±0.02	6.3±0.01	12.3±0.2	7.11±0.3
Gentamycine	25	30	20	08	22	20
DMSO	6.00±0.00	6.00±0.0	6.00±0.0	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
		0	0			

En se référant à ces données, on peut dire que l'activité antibactérienne des extraits (EChL, EAcE, EBuOH et EMeOH) de la partie aérienne de *R.graveolans* a permis de révéler une certaine sensibilité sur la croissance de toutes les souches testés avec des diamètres d'inhibition compris entre 6.1 et 14 mm.

Les souches les plus sensibles sont *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Serratia marcescens* (Gram négatif), montrant des zones d'inhibition de 14 et 12 mm en présence de l'extrait d'acétate éthylique et l'extrait chloroformique respectivement. Cependant, la souche la plus résistante est *K.pneumoniae* (Gram négatif) vis-à-vis de tous les extraits et même vis-à-vis l'antibiotique standard.

En ce qui concerne le DMSO, aucun effet n'a été observé vis-à-vis des souches bactériennes testées. Cependant, la gentamycine a montré une action inhibitrice importante vis-à-vis toutes les souches bactériennes testées, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 20 à 30 mm, à l'exception de la souche *K.pneumoniae* qui a démontré une grande résistance.

La sensibilité des bactéries envers des extraits de l'espèce *R.graveolans* a été constatée par d'autres auteurs.

Sivaraj et al., (2011) ont testés l'activité antibactérienne des extraits d'éther de pétrole, d'éthanol, et aqueux de la partie aérienne de *R.graveolans* de l'inde sur les souches *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pneumonia* et *Proteus vulgaris*,

ils ont trouvé que l'extrait aqueux a un effet faible contre les souches testées avec un diamètre d'inhibition varie de 6.5 mm à 10 mm. Par contre, les extraits éthanolique et d'éther de pétrole ont montré une activité inhibitrice modérée à importante vis-à-vis de souches testées avec un diamètre de la zone d'inhibition varie de 8 à 16 mm.

Reddy et Al-Rajab (2016) ont montré que l'huile essentielle de la partie aérienne de *R.graveolans* de l'inde a présenté une forte activité pour toutes les bactéries analysées (13.03 ± 0.03 mm à 27.10 ± 0.02 mm) (*Bacillus cereus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Micrococcus luteus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*), toutefois cette huile a montré une faible activité à l'encontre d'*Enterobacter aerogenes*.

Ivanova et al., (2005) ont testé l'activité antibactérienne des extraits de méthanol, MeOH/H₂O, éther de pétrole et acétate d'éthyle de la partie aérienne de *R.graveolans* de Bulgarie, ces auteurs ont signalé que tous les extraits ont montré une forte activité vis-à-vis de bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*) avec des zones d'inhibition allant de 14.3 ± 0.6 mm à 24.7 ± 1.2 mm, excepté la souche *Corynebacterium diphtheriae*. Par contre, ces extraits n'ont montré aucune activité vis-à-vis des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*).

Ces résultats ne sont pas en accord avec les résultats de notre étude. Les différences dans les résultats pourraient être attribuées aux extraits testés (méthode d'extraction, nature de la composition chimique, concentration), les souches ciblées et l'énumération des souches.

De plus, l'inactivité de nos extraits peut être due à l'absence d'oligomères phénoliques. Le mécanisme de toxicité des polyphénols pour les microorganismes se fait soit par la privation d'ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que les liaisons hydrogènes avec les protéines de la paroi cellulaire des bactéries (**Karou et al., 2005**).

IV.2.2.Activité antifongique

Les différents extraits de notre plante ont été testées sur deux souches fongiques, il s'agit de *Fusarium oxysporum* et *Botrytis sp.* Les valeurs de pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne de champignons sont répertoriées dans le tableau 14 et les figures 37.38

Tableau 14 : Pourcentages d'inhibitions de la croissance fongique induite par différents extraits de la partie aérienne de *Ruta graveolans*

Type d'extrait	% d'inhibitions	
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Botrytis sp.</i>
Extrait d'acetate d'ethyle	55%	100%
Extrait n-butanolique	60%	100%
Extrait chloroformique	35%	100%
Extrait méthanolique	60%	75%
Huile essentielle	70%	100%

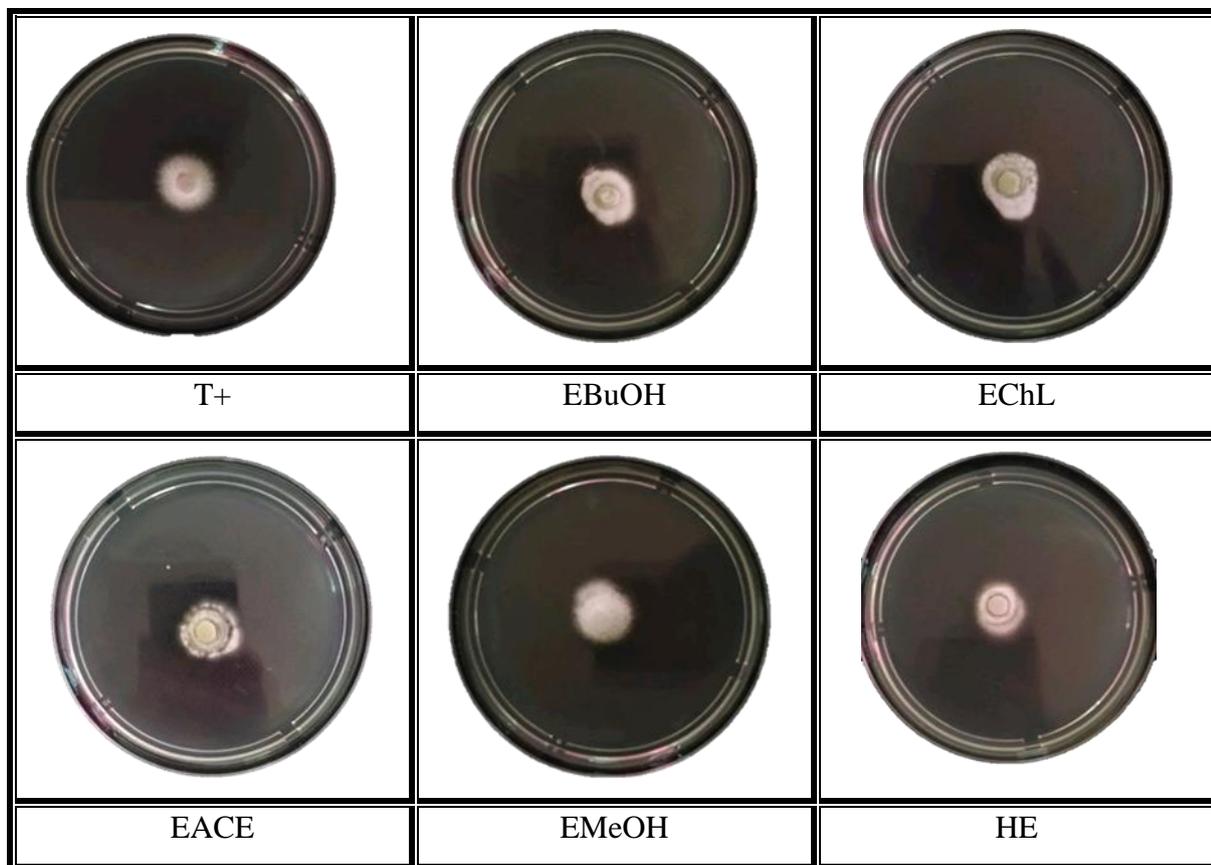


Figure 36 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de *S.g* sur la croissance de champignon *F.oxysporum*

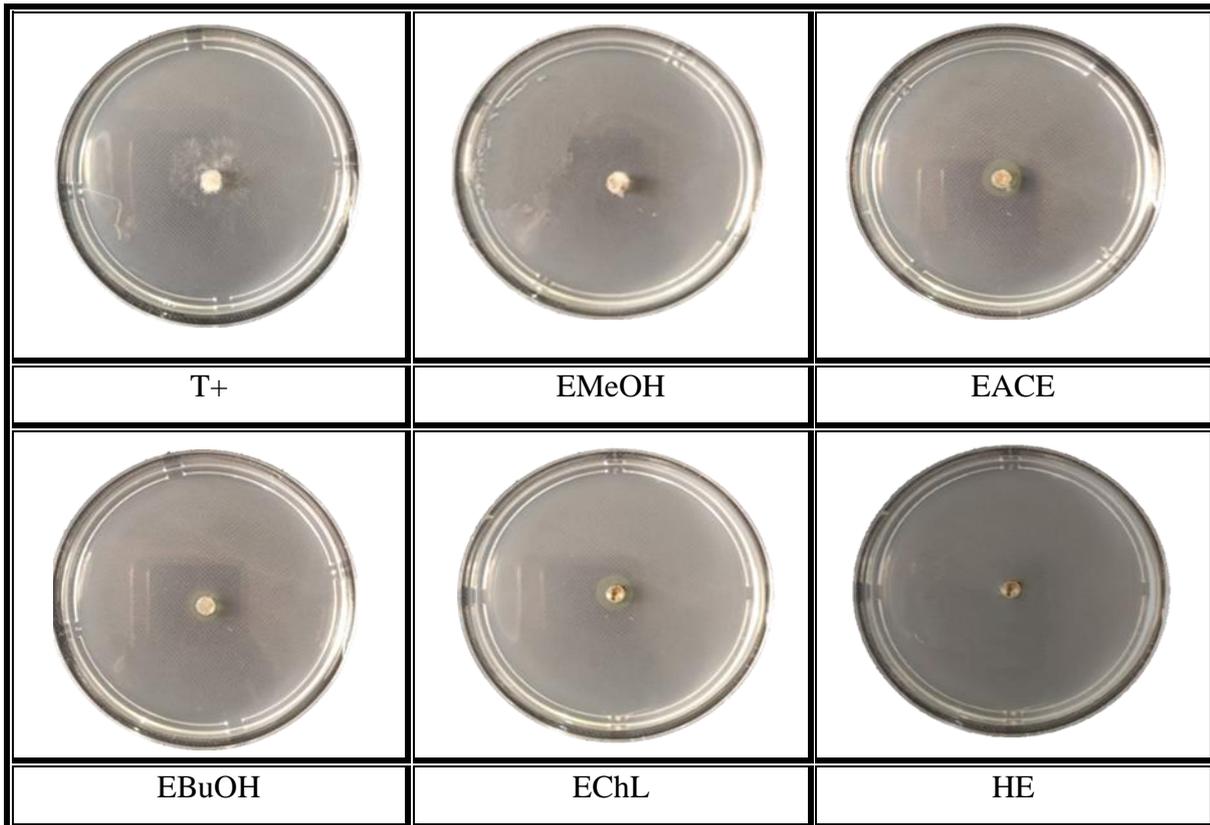


Figure 37 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de *Ruta.graveolans* sur la croissance de champignon *Botrytis sp.*

Les résultats obtenus ont révélé que tous les extraits de la partie aérienne de *Ruta graveolans* ont un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne de l'espèce fongique *Fusarium oxysporum*. Le taux d'inhibition le plus élevé est de 70% au contact de l'huile essentielle, suivi par l'extrait méthanolique et butanolique avec un pourcentage de 60%, puis l'extrait d'acétate d'éthyle avec un pourcentage d'inhibition de 55% et en dernier l'extrait chloroformique avec un pourcentage d'inhibition de 35%.

En ce qui concerne l'espèce *Botrytis sp.*, l'activité antifongique a été enregistrée pour tous les types d'extraits sur ce champignon, dont l'extrait méthanolique a présenté une inhibition importante avec un pourcentage de 75%. Cependant, l'huile essentielle, l'extrait chloroformique, d'acétate d'éthyle et butanolique ont présenté une inhibition totale 100 %.

D'après ces résultats, On constate que l'activité antifongique mise en évidence dépend de la nature des composés chimiques présents dans l'huile essentielle et les extraits organiques de cette plante.

Les études de **Reddy et Al-Rajab (2016)** sur la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *R.graveolans* révèlent la présence de 13 composés chimiques dont les cétones étaient les composés majoritaires. Il est a noté que la présence de cétones dans la composition d'une HE confirme l'activité antifongique de celle-ci (**Belghazi**

et al., 2002). Cela justifierait les activités antifongiques sur les champignons constatés lors de nos études.

Les travaux de **Sivaraj et al., (2011)** portant sur l'activité antifongique des extraits aqueux, éthanolique, et d'éther de pétrole de *R. graveolans* sur deux souches fongiques dont *Fusarium oxysporum* ont révélé que ce champignon était un peu sensible et seulement au extrait aqueux. Cela ne concorde pas avec nos résultats, les extraits de notre travail ont montré une activité antifongique très importante, ce qui signifie que l'effet antifongique des extraits varie en fonction du solvant d'extraction utilisé.

IV.3. Activité antioxydante

L'utilisation de nombreuses méthodes complémentaires est utile pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits, en raison de la diversité de ces méthodes sur le plan de leurs principes, les conditions expérimentales, et les antioxydants. Pour cette raison, Dans notre étude, quatre méthodes ont été réalisées pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de différents extraits de la partie aérienne de *R. graveolans* à savoir : DPPH, ABTS, FRAP, et phénanthroline.

A titre de comparaison, nous avons fait le choix d'exprimer les résultats découlant des différents tests de façon homogène en milligramme d'équivalent de Trolox par gramme de la matière sèche (mg ET/g).

IV.3.1. Test de DPPH

Pour tester le pouvoir d'un extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc de sa capacité antioxydante le radical libre DPPH est le plus souvent utilisé (**Oyaizu, 1986 ; Soares et al., 1997**). Dans ce test les antioxydants présents dans l'extrait réduisent le diphenyl picrylhydrazyle possédant une couleur violette en un composé de couleur jaune, le 2,2 diphenyl 1 picryl hydrazine, ou l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants (**Sanchez-Moreno et al., 1998**).

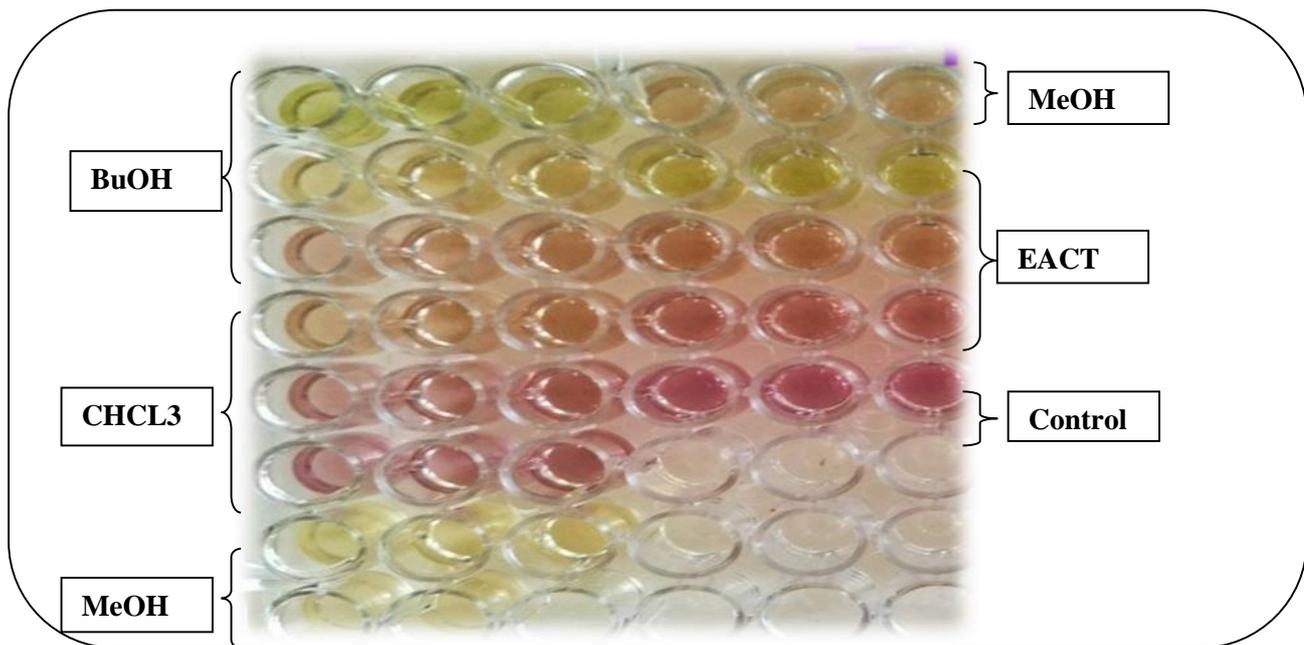


Figure 38 : Test de DPPH sur microplaque

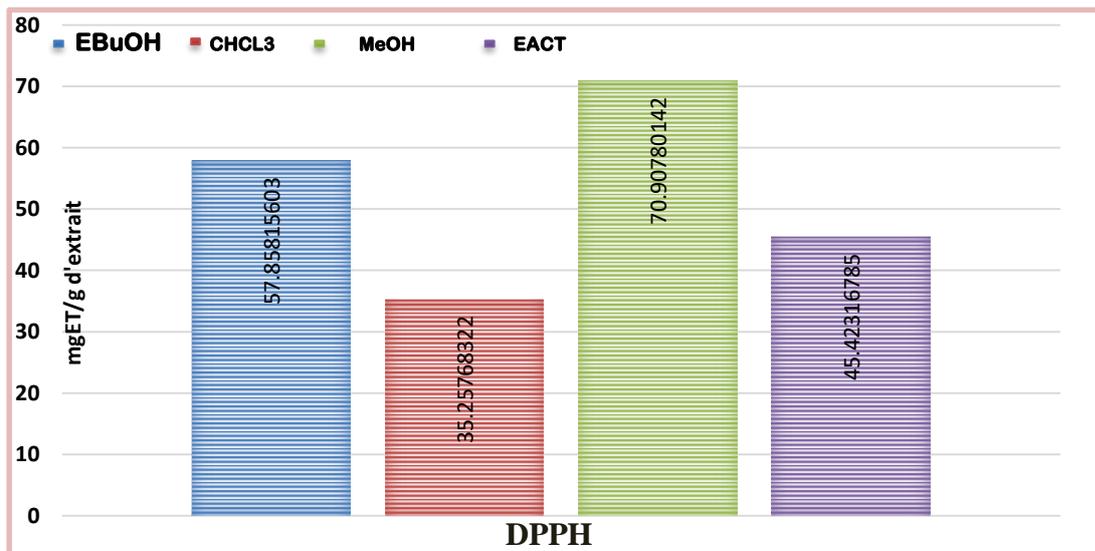


Figure 39 : Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de *R.graveolans* vis-à-vis du radical DPPH

Les résultats du pouvoir antioxydant obtenus pour différents extraits de la partie aeriene de *R. graveolans* déterminés sur le DPPH (Figure 39 , 40), montrent que l'activité antioxydante est varié considérablement en fonction de type d'extrait testé. L'ordre d'inhibition du radical DPPH était : EMeOH> EBUOH> EAcE>EChL avec des valeurs respectives de 70,90 ; 57,85 ; 45,42 et 35,25 mg ET/g d'extrait.

Le pouvoir antioxydant des extraits est proportionnel à la polarité des solvants d'extraction utilisés, les extraits des solvants polaires qui sont le Methanol, et le n-butanol ont

donné les meilleurs résultats suivis par les extraits des solvants moyennement et faiblement polaires qui sont l'acétate d'éthyle et le chloroforme.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Boudaba et Benabbes (2022)**, qui ont montré que le pouvoir piégeur, mesuré par le test DPPH des extraits de la partie aérienne de la plante *R.graveolans* de la région d'Bni Harroun (Mila), est dans l'ordre : EMeOH/H2O> EBuOH> EAcE>EChL.

Cette activité est certainement liée aux taux de polyphénols et de flavonoïdes dans les extraits de *R. graveolans*, qui est proportionnelle à l'activité antiradicalaire. Cela a été confirmé par les mêmes auteurs, ils ont trouvé que la teneur en PT et FT est dans le même ordre de l'activité anti radicalaire des extraits : EMeOH/H2O> EBuOH> EAcE>EChL.

IV.3.2. Test d'ABTS

L'activité antioxydante de différents extraits de *R.graveolans* a été également évaluée par leur activité inhibitrice sur le radical cation ABTS. Cette méthode est fondée sur la réduction d'une solution méthanolique d'ABTS en présence de molécules donatrices d'hydrogène. La capacité de réduction du radical ABTS est mesurée par la diminution de l'absorbance à 734 nm par un changement de coloration de composé bleu verte en un composé incolore ABTS-H⁺. Les résultats de l'activité antioxydante obtenus ont été illustrés dans la Figure 41 , 42

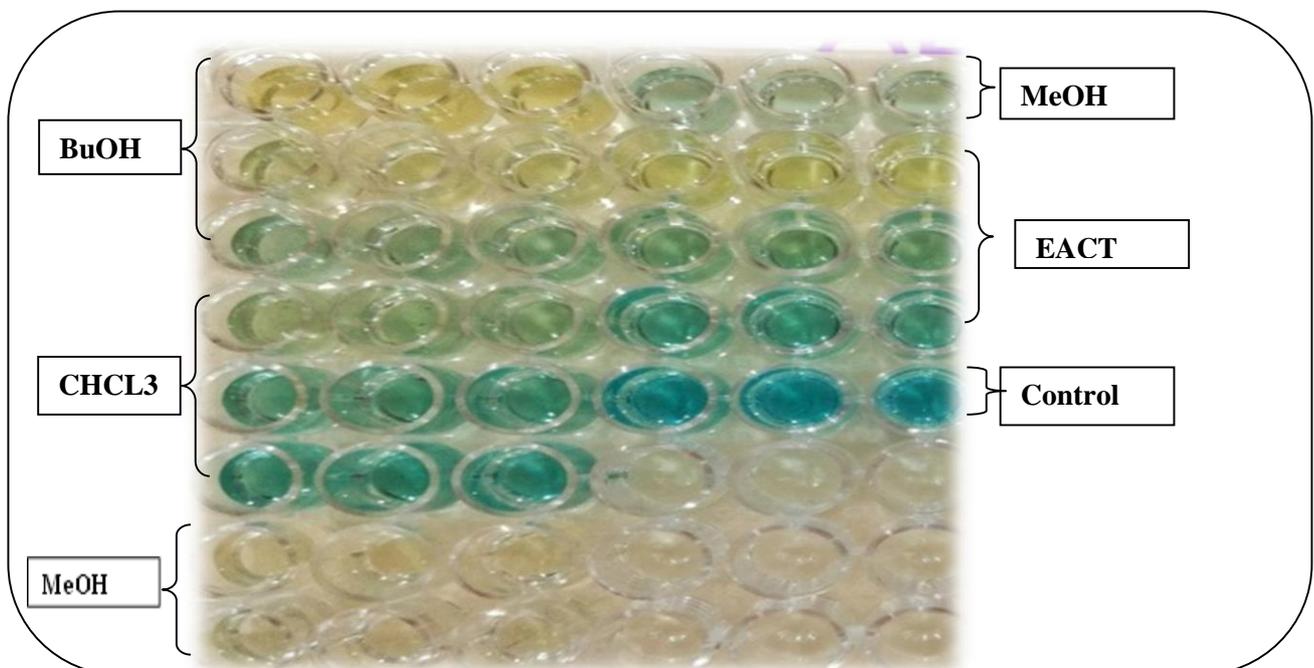


Figure 40 : Test d'ABTS sur microplaque

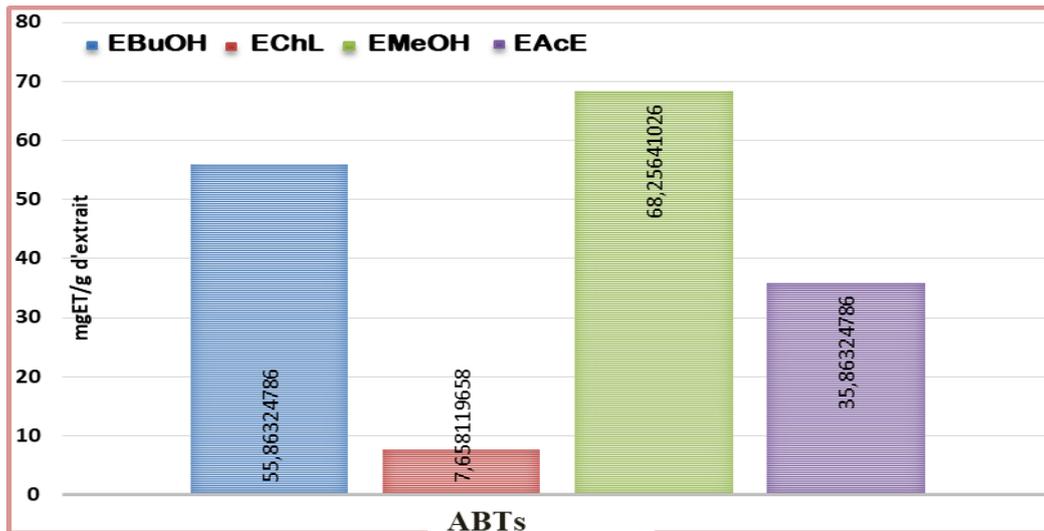


Figure 41 : Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de *Ruta.graveolans* vis-à-vis du radical ABTS

D'après la Figure, On constate que tous les extraits sont capables de réduire le radical ABTS. On note une diminution significative de ce radical en fonction de polarité de l'extrait. L'extrait méthanolique a montré une grande capacité à inhiber le radical ABTS (68,25 mg ET/g d'extrait), suivi par l'extrait n-butanolique, et l'extrait d'acétate d'éthyle, était respectivement de 55,86, et 35,86 mg ET/g d'extrait, et en dernier l'extrait chloroformique (7,65 mg ET/g d'extrait). Ces résultats corroborent parfaitement avec une étude précédente réalisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *R.graveolans*. Ainsi, les extraits de méthanol, n-butanol et d'acétate d'éthyle ont donné une activité élevée de piégeage du radical ABTS·+. Cependant, une activité faible a été obtenue avec l'extrait de chloroforme (**Boudaba et Benabbes, 2022**).

IV.3.3. Test de FRAP

Le test de FRAP est un test simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué non seulement chez les plantes mais aussi au plasmas et aux extraits organiques et aqueux (**Benzie et al., 1996 ; Li et al., 2008**). Ce test est basé sur le pouvoir de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction. Ce pouvoir de donation d'électrons est appelé pouvoir réducteur.

Dans ce travail le pouvoir réducteur des différents extraits de la partie aérienne de *Ruta.graveolans* a été mesuré. La présence des composés réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe³⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreux Fe²⁺. Par

conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur vert dans le milieu réactionnel à 700nm (Amarowicz *et al.*, 2004). Les résultats de l'activité antioxydante obtenus ont été illustrés dans la Figure 43, 44

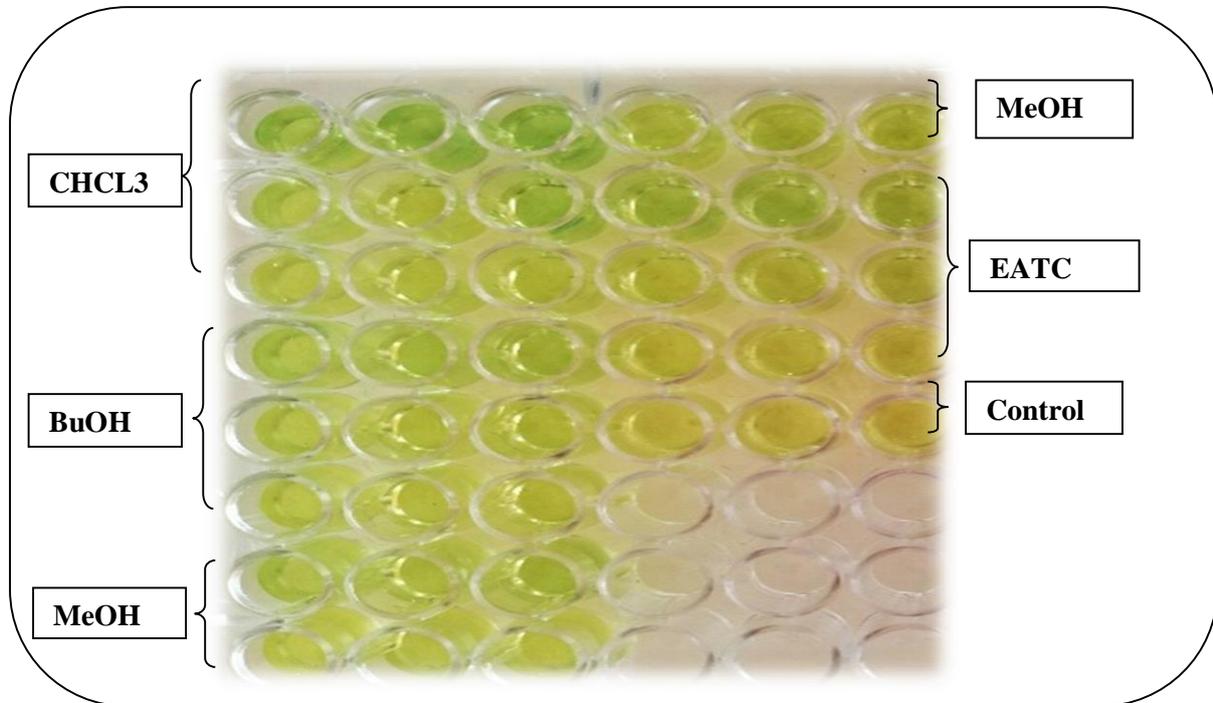


Figure 42 : Test de FRAP sur microplaque

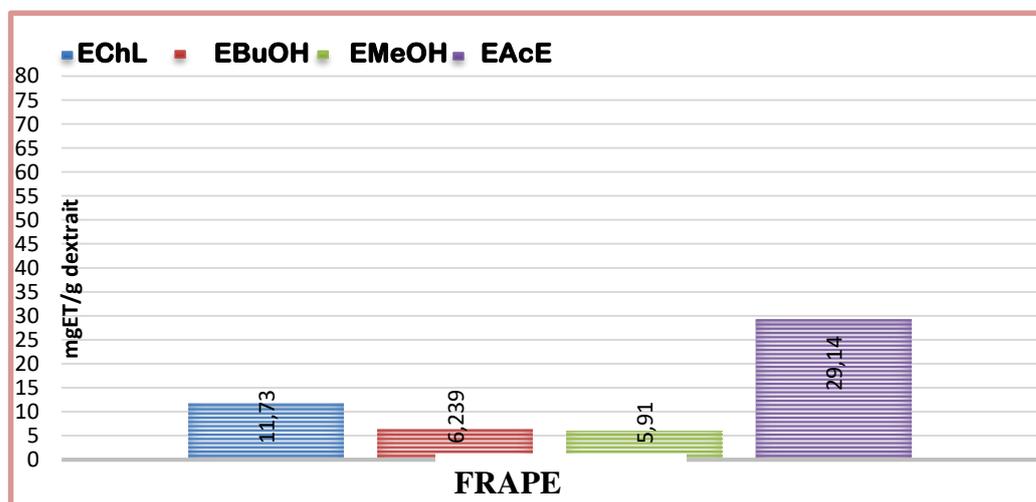


Figure 43 : Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de *R.graveolans* par le test FRAP

Le pouvoir réducteur des différents extraits de la partie aérienne de *R.graveolans* sont dans l'ordre croissant : EAce>EChL>EBuOH>EMeOH, elles correspondent aux valeurs suivantes : (29,14>11,73>6,23>5,91mgET/g).L'extrait acétate d'éthyle possède le meilleur

pouvoir réducteur comparé avec les autres extraits, mais généralement ces extraits ont une activité antioxydante faible par le test FRAP.

IV.3.4. Test de phénanthroline

L'activité antioxydante des extraits de *R. graveolans* a été évaluée également *in vitro* en utilisant le test de phénanthroline. Dans ce test, les ions de Fe^{2+} formés réagissent avec le phénanthroline pour former un complexe stable rouge orangé, le complexe formé Fe^{2+} -phénanthroline est suivi par spectrophotométrie à 510 nm. Le dosage des ions ferreux détermine le pouvoir réducteur de l'antioxydant testé (Apak *et al.*, 2004). Les résultats de l'activité antioxydante sont présentés dans ci-dessous (figure) :45 ;46

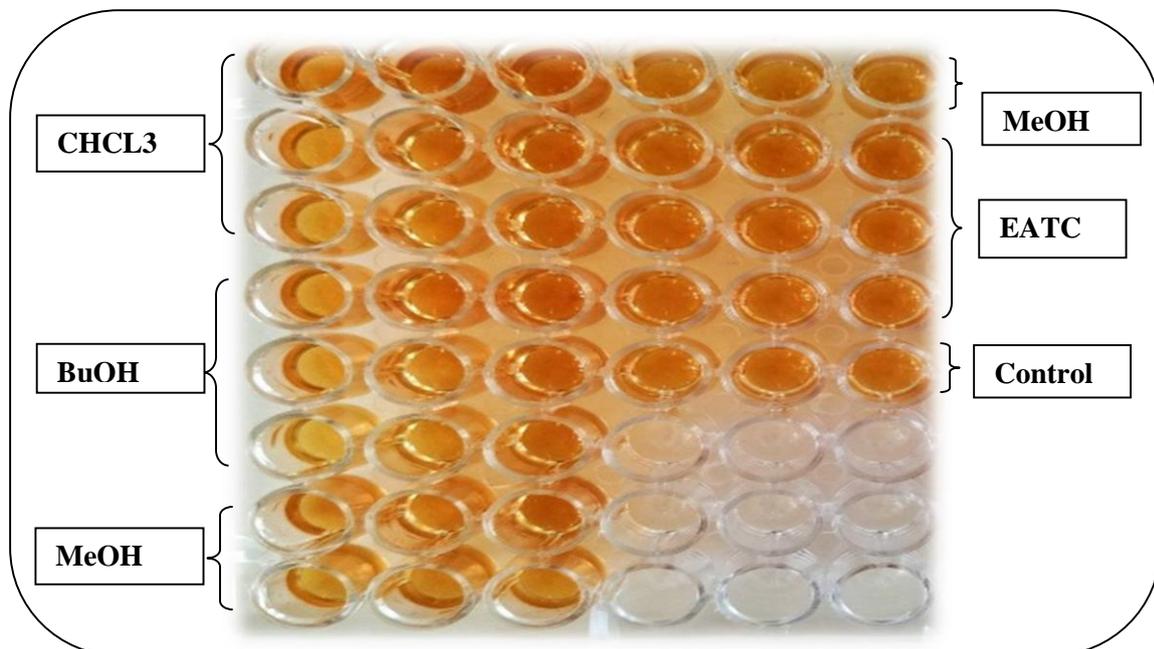


Figure 44 : Test de phénanthroline sur microplaque

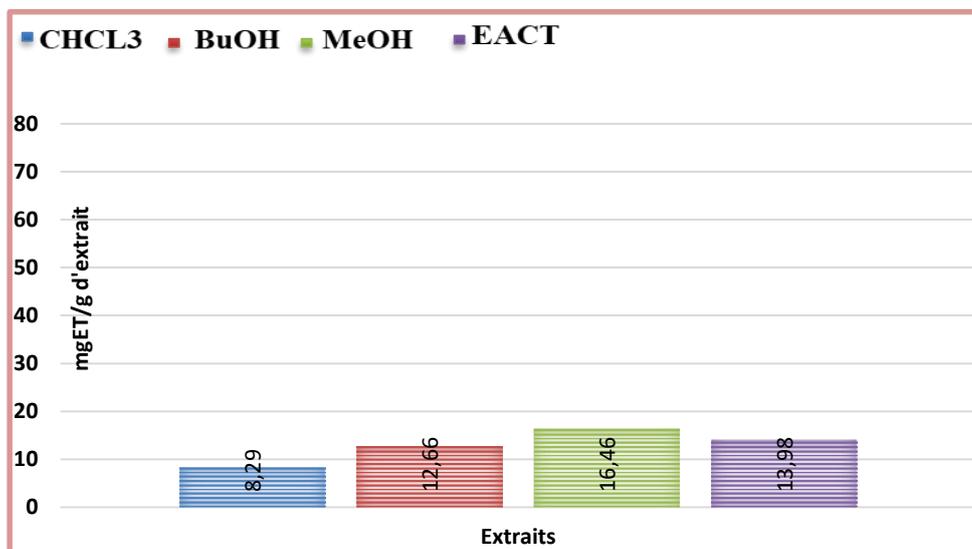


Figure 45 : Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de *R. graveolans* par le test de phénanthroline

D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanolique a montré une activité considérable de réduction du fer par la phenanthroline de l'ordre de 16,46 mg ET/g, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait *n*-butanolique ont montré une activité réductrice presque similaire de l'ordre de 13,98 et 12,66 mg ET/g respectivement, par contre, l'extrait chloroformique a présenté une activité réductrice la plus faible.

Le classement des extraits selon la méthode du piégeage du radical DPPH· et la méthode de piégeage du radical ABTS est totalement différent du classement obtenu par la méthode de réduction du fer et la méthode de phenanthroline.

En effet, les extraits qui possèdent les meilleurs pouvoirs piégeurs vis-à-vis des radicaux libres DPPH) montrent également les meilleures pouvoirs piégeurs vis-à-vis des radicaux libres ABTS, tel que les extraits méthanolique et *n*-butanolique qui s'avèrent plus actifs en activité antiradicalaire et activité réductrice.

V.4. Activité antidiabétique

Dans notre travail, l'activité antidiabétique des différents extraits de *Ruta graveolans* a été évaluée contre l'enzyme alpha amylase. Les résultats obtenus ont été exprimés en termes d'IC₅₀ et sont présentés dans le tableau.

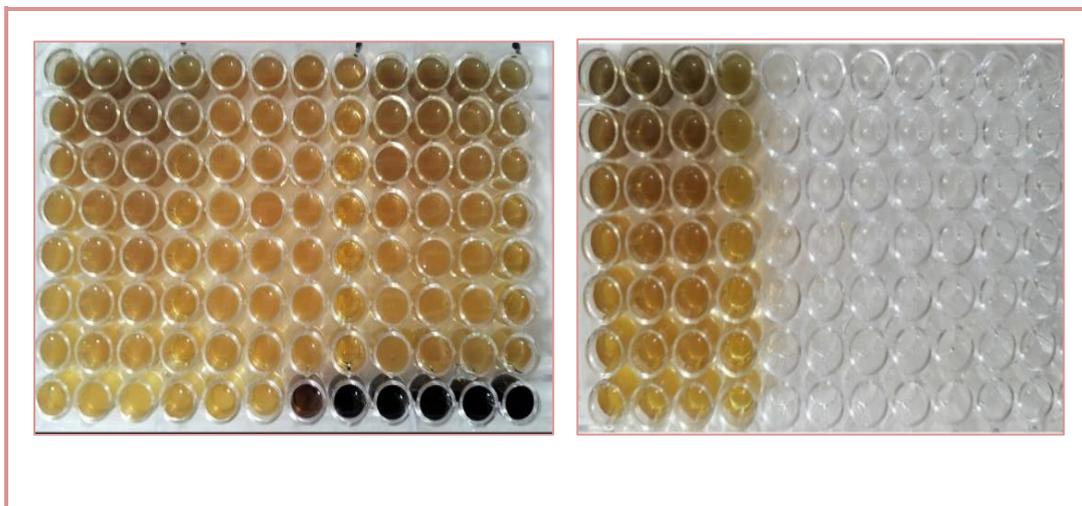


Figure 46 : Aspect de microplaque correspondant au test d'inhibition d'alpha-amylase

Tableau 15 : Effet des différents extraits de *Ruta graveolans* vis-à-vis l'enzyme α -amylase

Extraits	% d'inhibition							
	6.25 $\mu\text{g/ml}$	12.5 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	400 $\mu\text{g/ml}$	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
EChL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	35,35 \pm 1,11	>400
EMeOH	NA	NA	45,10 \pm 4,83	52,44 \pm 1,88	58,26 \pm 3,48	68,97 \pm 4,64	69,74 \pm 0,69	>400
EBuOH	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12,01 \pm 2,76	>400
EAcE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9,95 \pm 1,26	>400
Acarbose	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96	31,81 \pm 2,89	37,21 \pm 3,54	53,05 \pm 1,59	3650,93 \pm 10,70

D'après les résultats mentionnés dans le tableau, le taux d'inhibition de l'enzyme α -amylase est dépend de type d'extrait testé. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est observé pour l'extrait méthanolique avec un pourcentage d'inhibition égale à 69,74 \pm 0,69 % à la concentration 400 $\mu\text{g/ml}$ supérieur à celui de standards l'acarbose d'ordre de 53,05 \pm 1,59 % à la même concentration.

L'extrait chloroformique, butanolique, et acétate d'éthyle ont montré des effets inhibiteurs inférieurs à celui de l'acarbose avec des pourcentages d'inhibition de 35,35 \pm 1,11, 12,01 \pm 2,76, et 9,95 \pm 1,26% respectivement. Cela peut indiquer que le contenu de ces extraits en agents antidiabétiques est varié en fonction du solvant d'extraction utilisé.

Conclusion générale

Notre étude a pour objectif l'évaluation d'effet antimicrobien, antioxydant, et antidiabétique de l'extrait méthanolique, butanolique, acétate éthyle et chloroformique de la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de l'espèce *Ruta graveolans* (L.) de la région d'Elkhroub-Constantine.

La première partie de cette étude concerne la préparation des extraits bruts par une simple macération. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique (8%), suivi par l'extrait butanolique (2.04 %), puis l'extrait d'acétate d'éthyle (1.81 %) et en dernier l'extrait chloroformique (1,73%).

La deuxième partie consiste à évaluer certaines activités biologiques. Les résultats obtenus ont montré :

Une activité antibactérienne intermédiaire, dont les souches les plus sensibles sont *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Serratia marcescens* (Gram négatif), en présence de l'extrait d'acétate éthyle et l'extrait chloroformique respectivement.

Une activité antifongique très importante, dont Le taux d'inhibition le plus élevé a été observé avec l'huile essentielle, l'extrait méthanolique et l'extrait butanolique.

Une activité antioxydant importante avec les tests DPPH et ABTS dont la meilleur capacité a été observée avec les extraits méthanoliques et butanoliques, et une activité presque faible avec les tests FRAP et Phenanthroline dans le cas de tous les extraits.

Une activité antidiabétique presque faible dans le cas de tous les extraits excepté l'extrait méthanolique.

Cette étude peut être considérée comme un point de départ, elle pourrait se poursuivre par des essais complémentaires :

- ❖ Tester d'autres méthodes et solvants d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique de l'extrait.
- ❖ Réaliser une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs.
- ❖ Faire des études expérimentales « *in vivo* » pour valider nos résultats réalisés *in vitro*.

Etudier d'autres activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuse, analgésiques ...etc., tout en évaluant son pouvoir toxique.

Liste des références

Listes des références

« A »

A.J. Scheen.,(2014).Le médicament du mois Bydureon: premier agoniste des récepteurs du GLP-1 en une injection hebdomadaire (exénatide à libération prolongée).Rev Med Liège; 69 : 4 : 214-219.

Abidellah N , Dib K. N. (2011). Les mycotoxines et stress oxydatif Activated Signaling Pathways : A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. Endocrine Activities of Alpha-Tocopherol and Ascorbic Acid on Membrane-Like Systems Are

blog soin et nature, Des conseils de spécialistes pour prendre soin de soi naturellement. Available at: <https://blog.soin-et-nature.com/fr/> (Accessed: 17 June 2023).

Ait ouakrouchi (2015).Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète de type II à Marrakech. Thèse doctorat, Université Marrakech.

Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., et Weil J.A.(2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry. 84, 551–562.

Apak R, Güçlü K, Ozyürek M and Karademir SE. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 7970-7981.

AquaPortail, (2022) Available at: <http://www.aquaportail.com/definition-1300-phenolique.html> (Accessed: March 28, 2023).def comp phénol

Aroma. (2021) Available at: <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/huile-essentielle-saro-aroma-zone?page=library> (Accessed: April 24, 2023).

ArunChaudhury., ChitharanjanDuvooor.,VijayaSena.,Reddy Dendi .,ShashankKraleti ., Aribi I.,(2011). Etude ethnobotanique des plantes médicinales de la région de Jijel: étude

Association canadienne du diabète. (2008). Définition, classification et diagnostic du

Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRAE Productions Animales, 15(1), 67-82.

« B »

Bamforth, CW (1999). Brume de bière. Journal de l'American Society of Brewing Chemists, 57 (3), 81 90.

Bara, F., Guezira, H., & Benterrouche, I. E. (2012). Contribution à l'étude du rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes à la pollution atmosphérique par le plomb (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

- Barouki, R. (2006)** “Stress oxydant et vieillissement,” *médecine/sciences*, 22(3), pp. 266–272. Available at: <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>.
- Barthe, S.(2005)**. Les huiles essentielles. Désintoxiquer et fortifier l'organisme, soulager vos mots
- Baudin, B. (2020)** “Stress oxydant et protections antioxydantes,” *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), pp. 22–30. Available at: [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30159-3).
- Beaudeau, J.-L. et al. (2006)** “Le stress oxydant, Composante physiopathologique de l'athérosclérose,” *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 21(3), pp. 144–150. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2006.02.001>.
- Belghazi, L., Lahlou, N., Alaoui, I., Abousaouiria, T., Habti, N., Tantaoui, I. A., ... Fellat-Zarrouck, K. (2002)**. Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la menthe pouliot. Test antifongique [Extraction and analysis by gas chromatography of essential oil of pennyroyal mint tested as antifungal]. *Congrès de biochimie*. Casablanca. *Biochimie et santé*, 38–40.
- Benzie I.F.F.et Strain J.J. (1996)** The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70– 76.
- Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I. (2012)**. Etude de l'Extraction de Composés Phénoliques à partir de Pellicules d'Arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7 : 35-45.
- Bonnier G.(1999)**,La Grande Flore en Couleur, Ed : BELIN; Tome 3 :205-206.
- Bossard, R. et Cuisance, P. 1981. Arbres Et Arbustes D'ornement Des RégionsTempérées Et Méditerranéennes, Paris, France.
- Bouafia, W., Boumaiza, A., & Bousenane, H. N. E. (2007)**. Les métabolites secondaires des plantes et leurs intérêts dans le domaine de la microbiologie (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Bougherra, S., Boufligha, N., & Lemzeri, H. E. (2009)**. Contributionl'étude du rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes au stress oxydatif (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- BOUKHATEM, M. N., FERHAT, A., & KAMELI, A. (2019)**. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- BOUNASLA, Y. K. (2008)**. Utilisation Des Rutaceae Dans La Lutte Anti-Bacterienne (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Jokić, S., Mujić, I., Bilić, M & Velić, D. (2011)**. Effect of extraction conditions on the extract ability of phenolic compounds from lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). *Polish journal of food and nutrition academy*, 61(3), 195-199
- Burgess LW. (1981)**. General Ecology of the Fusaria. In: PE Nelson, TA Toussoun, RJ Cook, eds. *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. University Park, PA, USA: The Pennsylvania State University Press, 225 – 235.

« C »

Chattopadhyay, R. R. (1999). A comparative evaluation of some blood sugar lowering agents of plant origin. *Journal of ethnopharmacology*, 67(3), 367-372.

Chayma, L., & Djihane, M. (2021). Effet préventif de la vitamine C contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

Chayma, L., & Djihane, M. (2021). Effet préventif de la vitamine C contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

Chemat, F., Abert Vian, M., Ravi, H. K., Khadhraoui, B., Hilali, S., Perino, S., &

Chimie des Huiles Essentielles (2022) Au Bonheur d'Essences. Available at: <http://www.au-bonheur-dessences.com/huiles-essentielles/composition-chimique-des-huiles-essentielles> (Accessed: April 24, 2023).

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.

Classification des composés phénoliques, Agronomie. Available at: <https://agronomie.info/fr/classification-des-composes-phenoliques/> (Accessed: March 31, 2023).

Classification du diabète sucré IN : Harrison principe de Médecine Interne. 15^e éditions. Paris : Flammarion, 2002 ; 2109-2112.

Creapharma. Available at: <http://www.creapharma.ch/> (Accessed: March 31, 2023).

cuendet M . , (1999) . recherche de nouveaux composés capteurs des radicaux libres et antioxydant à partir d'une plante d'indonésie : « *Fagraea blumei* » (loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (scrophulariaceae) , « *loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et cramp, thèse de doctorat,p24

Cushnie TPT, Lamb AJ (2011) Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 38:99–107

Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2011). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 38(2), 99-107.

« D »

Delarras, C., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôles

Démarchez, M. (2012). Le stress oxydant cutané.

Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, et al.(1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 65 (4): 337-53

Djeridane A, Yousfi M, Brunel JM, et al (2010) Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol* 48:2599–606

Driving change to defeat diabetes Novo Nordisk. Available at: <http://www.novonordisk.com/> (Accessed: 17 June 2023).

« E »

Encyclopédie Médico- chirurgie (Elsevier, Paris) Endocrinol Nutrition, 10- 366- A10, 1998; 13p

espritsante Acide phénolique. Available at: <http://www.espritsante.com/articles/acide-phenolique> (Accessed: March 31, 2023).

Evans J L., Goldfine I D., Maddux B A., Grodsky G M. (2002). Oxidative Stress and Stress-

« F »

Fabiano Tixier, A. S. (2019). Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects. *Molecules*, 24(16), 3007.

Favier, A. (1997,). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 55, No. 1, pp. 9-16).

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Favier, A. (2006) “Stress oxydant et pathologies humaines,” *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), pp. 390–396. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/s0003-4509(06)75334-2).

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

Fédération Française des Diabétiques Available at: <http://www.federationdesdiabetiques.org/> (Accessed: 17 June 2023).

« G »

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, 91

Garrett SD (1970). Pathogenic root-infection fungi. London, UK: Cambridge University Press.

Gausson H. Ozenda P. Leroy J.F. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs, France : édition Elsevier Masson, Tome II, 600.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4), 162-169.

Girard, J. Pourquoi Les Lignanes Sont-Elles mauvaises ? lizengo.fr – (2023), lizengo.fr. Available at: <https://lizengo.fr/faq/pourquoi-les-lignanes-sont-elles-mauvaises/> (Accessed: April 1, 2023).

Gordon TR, Martyn RD (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annual Review of Phytopathology 35: 111 – 128.

Grimaldi A Grâce aux huiles essentielles. Un véritable - guide sur l'utilisation des huiles. Ed France exclusif, Paris, . Guide pratique du diabète. 2^e éditions. Paris : MIMI, 2001 ; 15-24.

« H »

HAMMA, S. (2019). RÔLE du sTREssOxydATIfdANs LE CANCER DE LA pROsTATE. Journal Algérien de Médecine, 1, 21.

HAMMA, S., NOURI, N., FERGANI, I., LEKHAL, A., & CHERIET, S., BIOLOGIE dES ESPÈCES RÉACTIVES ET STRESS OxydANT.

Hammiche, V et Azzouz, M.(2013). Les rues « ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité », phytothérapie, 11 : 22-30.

Hammiche, V., Merad , R et Azzouz, M.(2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, France : Springer Verlag, 212.

Hanot, M. (2008). Irradiation par microfaisceau de particules alpha: Implication des espèces réactives de l'oxygène dans l'effet de voisinage (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Herzi, N. (2013). Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation)

Acadpharm. Available at: https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Huile_essentielle (Accessed: April 24, 2023).

Huiles Essentielles : Toxicité et dangers, Le guide complet (2022) Aude Maillard - Aromathérapie. Available at: <https://www.aude-maillard.fr/huiles-essentielles-toxicite-contre-indications-dangers/#t-1682337850059> (Accessed: April 24, 2023).

« I »

I.Hininger-Favier., Nitroxyde, N. O. O., & Peroxynitrite, O. N. O. O. Le Stress oxydant.

Ihara Y., Toyokuni S., Uchida K., Odaka H., Tanaka T., Ikeda H., Hiai H., Seino Y., Yamada Y. (1999). Hyperglycemia Causes Oxidative Stress in Pancreatic [Beta]-Cells of GK Rats, a Model of Type 2 Diabetes. *Diabetes* 48(4):927-928

Intracto Les Huiles Essentielles Sont-Elles dangereuses?, Centre Antipoisons Belge. Available at: <https://www.centreantipoisons.be/autre/les-huiles-essentielles-sont-elles-dangereuses> (Accessed: April 24, 2023).

Ivanova, A., Mikhova, B., Najdenski, H., Tsvetkova, I., & Kostova, I. (2005). Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia*, 76(3-4), 344-347.

Ivy (2022) Quels sont les procédés d'extraction d'une huile Essentielle ?, *iyor.org*. Available at: <https://www.iyor.org/extraction-huile-essentielle> (Accessed: April 25, 2023).

« J »

Jardiner Malin : Jardin, Potager, plantes et recettes De Cuisine Jardiner Malin : jardinage et recettes de saison. Available at: <https://www.jardiner-malin.fr/> (Accessed: 17 June 2023).

Judd W.S., Cambeil C.S., Kellogg E.A. et Stevens P. (2002). Botanique systématique une perspective phylogénétique, France : Ed De Boeck, 1^{ère} édition, 540.

« K »

Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., Bellahouel, S., Benziane, M. M., Younos, C., ... & Soulimani, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata* (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytothérapie*, 7(4), 197-201.

Katrin Borma, Severin Lüscherb, Beat Müllera., (2012). Premières étapes du traitement du diabète de type 2 nouvellement diagnostiqué – conseils pratiques *Forum Med Suisse*;12(48):929–935.

« L »

L'insuline (2019) Centre européen d'étude du Diabète. Available at: <https://ceed-diabete.org/fr/le-diabete/traitements/insuline/> (Accessed: 17 June 2023).

la prévention et le traitement du diabète au Canada (Vol. 32 (suppl. 2), pp. 225

La Société Francophone de Nutrition Entérale et Parentérale, Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M. P., Hasselmann, M., ... & Fontaine, E. (2007). Radicaux libres. *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*, 251-257.

La source d'informations médicales de confiance depuis 1899. Available at: <http://www.msmanuals.com/fr> (Accessed: 17 June 2023).

Laib, I., & Barkat, M. (2011). Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*.

Le polyphénol - les différents types, sources et bienfaits (2019) Natural Athlete Club. Available at: <https://naturalathleteclub.com/blog/polyphenol/> (Accessed: March 30, 2023).

Letellier, M. (2015). Optimisation de mousses de carbone dérivées de tannin par l'étude et la modélisation de leurs propriétés physiques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Li H-B., Wong C-C., et Cheng K-W., Feng C. (2008) Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*. 41(3), 385–390.

Lien, D. T. P., Tram, P. T. B., & Toan, H. T. (2015). Effects of extraction process on phenolic content and antioxidant activity of soybean. *J. Food Nutr. Sci*, 3(1-2), 33-38.

Lutge U., Kluge M., Bauer G.(2002) . Technique et documentation. Ed 3eme Botanique Lavoisier .Paris. 211 p. 2002.

« M »

Mandell, G. L., Bennett, J. E., & Dolin, R. (2015). Principles and practice of infectious diseases (Vol. 1). Elsevier Health Sciences

Marwa, R., & BENOUDINA, M. (2019). Le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, Abdelhafid boussouf university Centre mila).

medcine des maladie metabolique volume 16 issue 2 , marche 2022 , page 134 -140

Merola, N. (2015) *Des médicaments faits à base de Plantes, Sélection du Reader's Digest*. Available at: <https://www.selection.ca/sante/prevention/des-medicaments-faits-base-de-plantes/> (Accessed: 17 June 2023).

MEZERKET, Amina 2010. Evaluation de l'efficacité des huiles essentielles de quelques plantes contre *Meloidogyne incognita* (White et Kofoid, 1919) Chitwood 1949 (Nematoda : Meloidogynidae)

MEZITI, A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo (Doctoral dissertation, Université de Batna 2)

midoun M(2015). Epidémiologie du diabète.

Migdal, C. and Serres, M. (2011) "Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant," *médecine/sciences*, 27(4), pp. 405–412. Available at: <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.

Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K., & Houghton, P. J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of ethnopharmacology*, 106(1), 1-28.

ScienceDirect.com by Elsevier. Available at: <https://www.sciencedirect.com/journal/medecine-des-maladies-metaboliques> (Accessed: 17 June 2023).

« N »

Nauciel C., Vildé JL., (2005). Bactériologie médicale. Ed. Masson. France. P : 77, 141.

Nègre-Salvayre A., Affany A., Hariton C., Salvayre R. (1991). Additional Antilipoperoxidant

Noguchi H. (2007). Stem cells for the treatment of diabetes. *Endocrine Journal* 54(1):7 16

« O »

Olivain C, Alabouvette C. (1997). Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist* 137: 481 – 494.

« P »

P.schwartzP.alexeline M. Hecker., (2013).Thérapeutique, pharmacologie CSCT-modile 11;VG Edition,213-215. pages). Toronto.

Pavageau, D.W. (2015) Stress oxydatif, définition. Available at:<https://www.docteurclic.com/encyclopedie/stress-oxydatif.aspx> (Accessed: 17 June 2023).

Penumathsa, S. V., Thirunavukkarasu, M., Zhan, L., Maulik, G., Menon, V. P., Bagchi, D., & Maulik, N. (2008). Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signalling pathway in diabetic myocardium. *Journal of cellular and molecular medicine*, 12(6a), 2350-2361

Perlemuter L, Collin G, Selam JL(2000). Abrégés de diabète et maladies métaboliques. 3^e éditions. Paris : Masson, 2000 ; 67-73,257-280.

Perlemuter L, Nelly Hernandez Morin(2002). Endocrinologie Diabétologie Nutrition. 4^e éditions. Paris : ESTEM MED-LINE, 2002; 176-177.

Peronny, S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*) (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Petre, A. (2019) What are polyphenols? types, benefits, and food sources, Healthline. Healthline Media. Available at: <https://www.healthline.com/nutrition/polyphenols> (Accessed: March 29, 2023).

Phenolic acid - definition, occurrences, uses and examples, BYJUS. BYJU'S. Available at: <https://byjus.com/chemistry/phenolic-acid/> (Accessed: March 31, 2023).

PMC, E. Europe PMC. Available at: <https://europepmc.org/article/MED/26955456> (Accessed: 17 June 2023).

Polyphénols : Avantages, Origines, propriétés et dosage - therascience Laboratoire THERASCIENCE. Available at: http://www.therascience.com/fr_fr/nos-actifs/autres/polyphenols (Accessed: March 29, 2023).

« Q »

Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle Flore De l'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales, vol. 1-2 Ed.CNRS, Paris, France

« R »

Matthew J. Arduino(2001). (PHIL ID 11155); Photo: Janice Haney Carr, 2001

Reddy, D. N., & Al-Rajab, A. J. (2016). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L. volatile oils. *Cogent Chemistry*, 2(1), 1220055. *Reviews* 23(5):599-622

Rigalleau, V.; Monlun, M.; Foussard, N.; Blanco, L.; Mohammedi, K(2021). Traité de médecine AKOS, Volume 24, Numéro 1, 1 janvier 2021, Page 1-7

Rousseau, N. (2017) Polyphenols : Aliments, VIN: Nutriments, Fondation Louis Bonduelle. Available at: <http://www.fondation-louisbonduelle.org/nutriment/polyphenols/> (Accessed: March 29, 2023).

« S »

Saada, T. (2022). Effet protecteur du curcuma contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

Sabrina, K (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2003. Français.

Sajous, L., Botta, A., & Sari-Minodier, I. (2008,). Dosage de la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine dans les urines: un biomarqueur du stress oxydatif d'origine environnementale?. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 66, No. 1, pp. 19-29).

Sánchez, S. (2023) Polyphénols : Types et propriétés, Muy Salud. Available at: <https://muysalud.com/fr/maladies/polyphenols-types-et-proprietes/> (Accessed: March 29, 2023).

Sanchez-Moreno JA, Larrauri F, Saura C (1998) Effect of Temperature on the Free Radical Scavenging Capacity of Extracts from Red and White Grape Pomace Peels J. Agric. Food Chem 46:2694–7

sanitaire. Editions : médicales internationales. Paris : Lavoisier, P 357, 248, 250, 339.

Seidel V. (2005). Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37,

Singh, S. S., Pandey, S. C., Srivastava, S., Gupta, V. S., & Patro, B. (2003). Chemistry and medicinal properties of *Tinospora cordifolia* (Guduchi). Indian journal of pharmacology, 35(2), 83.

Song, Y., Manson, J. E., Buring, J. E., Sesso, H. D., & Liu, S. (2005). Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. Journal of the American College of Nutrition, 24(5), 376-384

Spichiger, R.E., Savolainen, V. V. et al. 2004. Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérés et tropicales. 3eme édition, Presse polytechnique et universitaire romande. Lossane, 413p.

« T »

The chemical structure of Stilbenes | Download Scientific diagram Available at: https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structure-of-stilbenes_fig7_290828689 (Accessed: April 1, 2023).

Topsante (2023) *Escherichia coli* : Définition, symptômes, diagnostic, traitement, *Topsante.com*. Available at: <https://www.topsante.com/themes/escherichia-coli> (Accessed: 17 June 2023).

Tournant F, Heurtier A, Bosquet F et Grimaldi A. Classification du diabète Sucre-critères diagnostics et dépistage.

« U »

univ.ency-education. Available at: <http://univ.ency-education.com/> (Accessed: 05 June 2023).

Universalis, E Alcaloïdes, Universalis.fr. Available at: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/16-proprietes-et-utilisations-diverses/> (Accessed: April 1, 2023).

« V »

Vermerris W ., (2006) phenolic compound biochemistry, springer , dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8(HB)

Vessal, M., Hemmati, M., & Vasei, M. (2003).Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats.Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 135(3), 357-364.

« **W** »

Wiert, C. (2006). Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future?, Ed. WORLDSCIENTIFIC, p 401 – 416

« **X** »

Xiang, KIE. Y., Dianxiang, Z .et al . (2004). Rutaceae. Bot. Garden South China. Vol. 11: 51-97.

« **Z** »

Zouache, F., & Ay, F. (2007). Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse (Doctoral dissertation

