

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA
TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée
Présenté par :

BOUZIANE Nesrine & YOUNSI Nesrine

Thème

**Évaluation des activités biologiques des extraits
phénoliques de la sauge et de la rue de la région de
Bouira**

Soutenu le : 15 /07/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>LAKBAL Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>DAHMOUNE Farid</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>MOUSSA Hamza</i>	<i>Doctorant</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-Promoteur</i>
<i>REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2020/2021

« Les plantes semblent avoir été semées avec profusion sur la terre, comme les étoiles dans le ciel, pour inviter l'homme par l'attrait du plaisir et de la curiosité à l'étude de la nature ».



Jean Jacques ROUSSEAU

Remerciements



Tout d'abord Nous remercions DIEU le tout-puissant de nous avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail.

al-Hamdu li allâh

En préambule, nous voulons adresser tous nos remerciements aux personnes avec lesquelles on a pu échanger et qui nous ont aidés pour la rédaction de ce mémoire. Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à notre promoteur M. Dahmoune Farid et Co-promoteur Moussa Hamza pour leur suivi, leur énorme soutien, le temps qu'ils nous ont consacrés, on les remercie de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira, pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail. Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches. Enfin, dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces



Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, la reconnaissance, aussi tous simplement que je dédie ce travail :

À ma chère famille :

*À mon père, **B. Boualem**, l'homme respectueux et dévoué qui m'a comblé de ses bienfaits et m'a inculqué les principes moraux et mondains d'une vie équilibrée, Ton honnêteté, ton ardeur dans le travail, et tes grandes qualités humaines font de toi un exemple à suivre.*

*À ma mère, **B. Nadia**, aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer mon amour, mon attachement à toi, tu m'as toujours donné de la force, de l'énergie, de l'amour, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi.*

Que ce travail soit l'exaucement de leurs vœux et le fruit de leurs innombrables sacrifices consentis pour mes études et mon éducation. C'est votre réussite avant la mienne, puisse dieu le puissant vous protéger et vous accorder la santé le bonheur et une longue vie.

*À ma sœur, **B. Liliane** tu as été toujours la source de force, de joie et de tendresse, pour tout le soutien moral et physique que tu m'as contribué pour la réalisation de ce travail. Sans oublier mon frère **B. Abd El Kader**.*

À mes chers grands-parents, qui ont été toujours la source de tendresse, d'affection. Puisse le seigneur tout-puissant vous procurer longue vie, santé et bonheur.

*À ma chère tante, **Khadîdja**, une source de tendresse, de joie, je te dédie ce travail pour exprimer mon amour et mon respect pour toi.*

*À une personne très chère à mon cœur, **H. Ghiles**, Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.*

À mes chers enseignants : Je m'adresse mes vifs remerciements aux enseignants qui ont été déployés tous leurs efforts pour nous éduquer et surtout pour nous préparer à affronter la vie professionnelle.

Bouziane Nesrine

Dédicaces



(C'est en ton nom le tout-puissant, le glorieux qui m'a donné immensément, qui m'a accordé la patience et la force pour que je puisse terminer ce travail celui qui facilite les actions dignes et vertueuses, Les louanges Lui appartient (al-Hamdu li allâh)

Je dédie ce travail avec révérence et humilité,

*À **mon cher papa**, le symbole d'amour, de dévouement intarissable et inextinguible, un homme empli de compassion, de solidité, et de bravoure, rien ne suffira pour contenir mon amour pour toi, tu es ma source de sérénité, de quiétude et de dignité, tu m'as appris et guider et tu continues d'être mon mentor dans cette vie, je ne te remercierai jamais assez pour les gentillesse et les sacrifices que tu as eus à mon égard, je t'aime pleinement et profondément.*

*À **ma maman adorée**, laquelle j'admire sa bonté, son élégance et son grand cœur, ton amabilité et ta compréhension exhibent tes attributs inhérents indubitables, je me dévouerai pour te voir jubilante et heureuse, merci infiniment.*

*À mes sœurs, **Amina et Zineb**, vous m'avez été l'amie qui m'a accompagné ces années, mes attaches que je ne pourrais jamais m'échapper, je vous adore.*

*À mon frère **Mhamed**, ton enthousiasme passionnant et ta conviction crépusculaire m'inspirent, je suis à jamais reconnaissante pour ta présence et ton soutien constants tu m'as été d'une aide inestimable, je suis toujours fière de ce que tu accomplis.*

*À mon petit nounours **Zakaria**, ta curiosité fervente et ardente s'exalte par ta douceur et tendresse, mon petit que tu grandisses devant nos yeux un homme d'amples caractères, d'intégrité et de liberté.*

*À ma belle-sœur **Chahinez**, je t'adore et te remercie ma chère pour ton affabilité, ton empathie, et ton âme généreuse, tu es un rayon étincelant dans ma vie.*

*A mes tantes **Rbiha et Akila**, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Je m'appuie toujours sur l'amour-propre que vous m'avez déployé en exubérance.*

*A mon beau-frère **Djalal**, un homme digne et louable.*

*Et à mes anges d'amour **Assil, Rayan et Lina** qui me donnent la joie de vivre.*

Et à tous ce qui m'est sont cher

Younsi Nesrine

Remerciements

Dédicaces

Table de matière

Introduction	0
1 Etat de l'art.....	3
1.1 <i>La rue (Ruta graveolens L.).....</i>	3
1.2 <i>La sauge (Salvia officinalis L.).....</i>	5
1.3 <i>Les composants secondaires majeurs des plantes médicinales</i>	6
1.3.1 Les polyphénols.....	6
1.3.2 Les flavonoïdes	7
1.3.3 Les tanins.....	8
1.3.4 Les alcaloïdes	8
1.3.5 Les coumarines.....	9
1.3.6 Les terpènes.....	9
1.4 <i>La Composition chimique en bioactifs secondaires de la rue et la sauge</i>	10
1.5 <i>Les activités biologiques de la rue et la sauge</i>	10
1.6 <i>Etude sur l'activité antioxydante</i>	12
1.7 <i>Etude sur l'activité antibactérienne.....</i>	14
1.8 <i>Etude sur l'Activité antifongique</i>	15
2 Matériel et méthodes	16
2.1 <i>Produits chimiques et l'appareillage.....</i>	17
2.1.1 L'appareillage.....	17
2.1.2 Produits chimiques	18
2.2 <i>Matériel végétal</i>	19
2.2.1 Récolte et origine géographique.....	19
2.2.2 Lavage et Séchage.....	20
2.2.3 Broyage et tamisage	20
2.3 <i>Méthodes.....</i>	21
2.3.1 Extraction assistée par ultrason (UAE)	21
2.3.1.1 Principe	21
2.3.1.2 Les Paramètres qui influencent sur la cavitation	21
2.3.1.3 Les Avantages d'extraction assistée par ultrasons.....	23
2.3.1.4 Protocole expérimental	23
2.4 <i>Evaluation de l'activité antioxydante In vitro de la rue et de la sauge</i>	23

Table des matières

2.4.1	Test de l'activité antioxydante totale (phosphomolybdate d'ammonium)...	24
2.4.1.1	Principe	24
2.4.1.2	Mode opératoire	24
2.4.2	Test de réduction du Fer (PARF) par la sauge et la rue	24
2.4.2.1	Principe	24
2.4.2.2	Mode opératoire	25
2.4.3	Test de décoloration de l'ABTS* par les antioxydants de la sauge et de la rue.....	25
2.4.3.1	Principe	26
2.4.3.2	Mode opératoire	26
2.5	<i>Etude de l'activité antimicrobienne In vitro de la sauge et de la rue.....</i>	27
2.5.1	Souches bactériennes.....	27
2.5.2	Milieux de cultures utilisés	28
2.5.3	Mode opératoire	28
2.6	<i>Evaluation de l'activité antifongique In vitro de la sauge et de la rue</i>	28
2.6.1	Milieux de cultures utilisés	28
2.6.2	Microorganismes testés	29
2.6.3	Mode opératoire	29
3	Résultats et Discussion	31
3.1	<i>Evaluation de l'activité antioxydante In vitro des extraits hydro-alcoolique de la sauge et de la rue.....</i>	31
3.1.1	Test de décoloration de radical ABTS*	31
3.1.2	Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des extraits étudiée PARF 32	
3.1.3	Test de l'activité antioxydante totale par le phosphomolybdate d'ammonium des extraits étudiées.....	33
3.1.4	Discussion des résultats d'activité antioxydante <i>In vitro</i> de la sauge et la rue.....	34
3.2	<i>Tests microbiologiques</i>	35
3.2.1	Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue 35	
3.2.1.1	Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue.....	35
3.2.1.2	Résultats des Bactéries à Gram négatif :.....	36
3.2.1.3	Résultats des Bactéries à Gram positif.....	36
3.2.1.4	Discussion des résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue	36
3.2.2	Evaluation de l'activité antifongique des extraits de la sauge et de la rue... 38	
3.2.2.1	Discussion des résultats de l'activité antifongique	38
	Conclusion	42
	Références.....	45
	Annexes.....	54

Liste des abréviations

AIT : activité antioxydante totale

ABTS' : 2, 2-Azinobis 3-éthyle-Benzo Thiazoline-6-Sulphonate.

ATC : Acide trichloracétique

CMI : Concentration minimal inhibitrice

DLA : ascite lymphocytaire de dalton

DPPH* : 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil

EAC : Le carcinome ascitique d'Ehrlich

PARF : Potentiel Réducteur Ferriques d'Antioxydants

PDA : Potato dextrose agar

MH : Muller Hinton

MS : matière sèche

ROS: Reactive Oxygen Species

TACC : Américain Type Culture Collection

UFC : Unité formant colonie

Liste des figures

Figure 01 : Photographie de <i>Ruta graveolens</i> L. (Originale)	3
Figure 02 : Image illustrant la partie aérienne de <i>Salvia officinalis</i> L. (Originale).....	5
Figure 03 : Structure de base des composés phénoliques	7
Figure 04 : Structure générale des flavonoïdes	7
Figure 05 : Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysable et (b) d'un tanin condensé.	8
Figure 06 : structure chimique des coumarines	9
Figure 07 : Structure chimique de l'isoprène	10
Figure 8 : la stabilisation d'un radical libre par les polyphénols.....	13
Figure 09 : Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux. PARF (pouvoir réducteur ferrique), AAT (Activité antioxydante totale), et test de décoloration de l'ABTS	16
Figure 10 : Photographie représente la partie supérieure des plantes étudiées ; <i>Ruta graveolens</i> L. (A) et de <i>Salvia officinalis</i> L. (B). (Originale)	17
Figure 11 : la Carte géographique qui représente la région de la récolte de la rue et la sauge	18
Figure 12 : Mécanisme réactionnel qui intervient lors du test PARF entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant AH	24
Figure 13 : Réaction de l'ABTS• avec des composés antioxydants (Boligon, Machado et al. 2014).....	26
Figure 14 : Photographie représente les souches testées : A : <i>fusarium verticillioides</i> , B : <i>penicillium</i> , C : <i>aspergillus flavus</i> , D : <i>aspergillus fumigatus</i> , E : <i>aspergillus niger</i> . (Originale)	29
Figure 15 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition radicalaire des extraits de la sauge et la rue	31
Figure 16 : graphe représentant le pouvoir réducteur des deux extraits de la sauge et de la rue et de l'acide ascorbique	33
Figure 17 : Capacité antioxydante exprimée en acide ascorbique des extraits de la rue et la sauge par le test AAT	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques activités biologiques de <i>Ruta graveolens</i> L	11
Tableau 2 : Les activités biologiques de <i>salvia officinalis</i> L. <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> signalées dans la littérature	11
Tableau 3 : les sources de la provenance des espèces réactives d'oxygène.....	12
Tableau 4 : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	12
Tableau 5 : L'appareillage utilisé afin de réaliser la partie expérimentale	19
Tableau 6 : les réactifs chimiques et solvants utilisés durant les expériences et leurs formules chimiques	20

Liste des annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de culture

Annexe 02 : résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de *salvia officinalis* L et *ruta graveolens* L

Annexe 03 : résultats de l'activité antifongique des extraits éthanoliques de *salvia officinalis* L et *ruta graveolens* L

Introduction

À travers des âges, l'être humain a su exploiter diverses plantes trouvées dans son environnement pour leurs qualités gustatives nutritives que leurs qualités médicinales, ce qui fait une meilleure adaptation du corps humain à un traitement à base de plantes qu'aux traitements chimiques (Iserin and Vican 1997). Leurs utilisations pour le traitement des maladies chez l'homme ont toujours été faites de façon empirique (Svoboda, Svoboda et al. 2000).

Aujourd'hui et avec l'avènement de l'industrie pharmaceutique et la synthèse chimique, l'usage thérapeutique des plantes a été délaissé, mais en Afrique, en Chine et en Inde reste la forme de médecine la plus répandue et la plus ancienne (Laurant-Berthoud 2013).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé : « La médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales. Dans certains pays, les appellations médecine parallèle/alternative/ douce sont synonymes de médecine traditionnelle » (Organization 2000). Cette organisation estime que près de 80 % habitants qui peuplent la planète ont essentiellement recours aux médecines traditionnelles (Moutinho, Matos et al. 2013).

25 % des médicaments prescrits dans le monde proviennent des plantes (Onyilagha, Bala et al. 2003). Ces dernières possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90 % du traitement médicaux. Jusqu'en 2004, 75 % ont été estimés de la population africaine qui a toujours recours aux plantes pour se soigner (Kar 2006).

Les recherches scientifiques s'intéressent beaucoup plus aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Il existe beaucoup de plantes riches en composés phénoliques. Ces composés sont le groupe de métabolites secondaire le plus important pour leurs structures chimiques diversifiées.

Les composés phénoliques et spécialement les flavonoïdes, possèdent des propriétés antioxydantes, anticoagulantes, antimicrobiennes... etc. (Hammoudi 2015).

Les plantes sur lesquelles porté notre choix d'étude sont *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L. Les deux plantes sont connues pour leurs richesses en métabolites secondaires. *Ruta graveolens* L. est connue pour des propriétés depuis longtemps, elle contient de nombreuses substances aromatiques et chimiques qui lui donnent des vertus médicinales. *Salvia officinalis* L. est parmi les plantes les plus utilisées comme matière première en pharmacie et en industrie alimentaire à cause de sa grande teneur en composés bioactifs (Kivrak, Duru et al. 2009). Aujourd'hui et avec l'avènement de l'industrie pharmaceutique et la synthèse chimique l'usage thérapeutique des plantes médicinales a été délaissé, pour cette raison on a pensé de faire une étude sur les plantes médicinales et leurs activités biologiques. Donc, le but de notre travail est de valoriser les plantes médicinales qui se trouvent dans la région de Bouira.

Ce mémoire comporte deux parties, la première partie est un recueil bibliographique portant sur l'état de l'art sur les deux plantes étudiées ensuite l'évaluation des activités biologiques. La deuxième partie est la partie expérimentale, elle comporte le chapitre matériel et méthodes qui consistent à l'évaluation *In vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne et antifongique des extraits éthanoliques. Les résultats obtenus sont résumés et discutés dans le chapitre résultats et discussion.

Chapitre 01

Etat de l'art

Etat de l'art

1 État de l'art

1.1 La rue (*Ruta graveolens* L.)

Ruta vient du grec « rhyté » qui signifie sauver, prévenir, ou de « reô » qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues ; graveolens vient du Latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Doerper 2008).

Cette plante appelée communément rue fétide, rue des jardins, Herbe à la belle-fille, rue-officinale, rue-puanterue des murailles (Bonnier 1999), rue commune herbe de grâce (Doerper 2008) et encore péganion (Lemoine 2001) cette espèce est appelée communément Fidjen فيجن (Abdulbasset and tawab 2008).

La rue est classée comme suit (Wiaart 2006) :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : Ruta

Espèce : *Ruta graveolens* L.

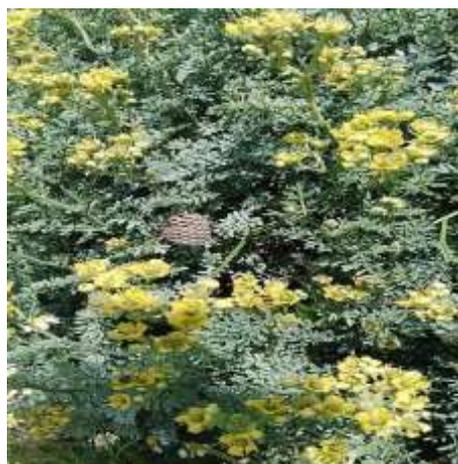


Figure 01 : Photographie de *Ruta graveolens* L. (Originale)

La rue est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale, au nord-est de l'Afrique, au sud de l'Europe et au sud-ouest de l'Asie(Aissa 1999), Elle est spontanée très répandue dans les régions semi-arides sur les sols calcaires (Aissa 1999). La multiplication de la rue se fait par semi ou bouturage (Doerper 2008).

Cette plante se caractérise par sa forte odeur et son goût âcre et amer, dus à son huile volatile contenue dans les poches schizolysigènes à la surface des feuilles (Doerper 2008). C'est un sous- arbrisseau de 0,5 à 1 m de haut, très ramifié et ligneux à la base, sa tige est dure, ferme, rameuse et verdâtre, elle porte des feuilles de couleur vert glauque terne, semi persistantes, alternes, pennatiséquées (souvent trilobées)(Aissa 1999). Ses fleurs regroupées en corymbe, sont jaunes verdâtres, sont composées de 5 pétales, du même nombre de sépales et de 8-10 étamines (Doerper 2008). Elles donnent un fruit formé de 5 carpelles, chacune contient 1 ou 2 graines noires, La plante est hermaphrodite et entomogame(Aissa 1999).

La rue a été utilisée traditionnellement pour ses effets analgésiant et afin de guérir les problèmes liés au système génito-urinaire, les affections respiratoires comme la dyspnée et la pleurésie, les troubles nerveux, les douleurs articulaires comme l'arthrite et la sciatique, également l'aménorrhée, les gouttes et les œdèmes. Une décoction de la rue peut soigner la flatulence et la colite (Doerper 2008). En cuisine cette plante est ajoutée en petite quantité aux boissons alcoolisées pour la fabrication du vinaigre de rue et comme aromatisant du fromage blanc(Bilderback 2007).

Selon un rapport qui a été fait, la rue est une plante toxique. Elle est toxique par voie orale au-delà de 5 g provoquant des vertiges, migraines, tremblements, convulsions, hémorragie utérine, vomissements et diarrhées, l'avortement, des inflammations gastro-intestinale développement de dyspnée, bradycardie, dysfonctionnement rénal et d'hyperkaliémie chez une femme de 78 ans (Eickhorst, DeLeo et al. 2007).

La toxicité est due aux furocoumarines ; Les furocoumarines sont photosensibilisantes et causent de graves dommages cutanés, Certaines associées à des rayonnements UV, présentent une activité mutagène, voire létale, vis-à-vis de micro-organismes fongiques ou bactériens. D'autres activent la croissance de certaines cellules tumorales. Les furocoumarines linéaires sont des inhibiteurs d'enzymes de type cytochrome P450 (Doerper 2008).

1.2 La sauge (*Salvia officinalis* L.)

La sauge de son propre nom *Salvia officinalis* L. du latin *salvare* qui signifie sauver Elle fait partie du genre *salvia* de la famille Lamiacea (menthes), regroupant plus de 900 espèces de plantes vivaces (Aissa 1999).

Cette plante est appelée communément Grand sauge, thé d'Europe, herbe sacrée. (Teuscher, Anton et al. 2005), En Arabe Souak en nebi, salmia et maramia (Aissa 1999).

La sauge suit la classification suivante (Madi 2010) :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L.



Figure 02 : Image illustrant la partie aérienne de *Salvia officinalis* L. (Originale)

La sauge est une plante originaire de la bordure Méditerranéenne, elle pousse dans les lieux ensoleillés, elle est cultivée par semis au printemps (Chevallier 1997).

C'est un arbrisseau persistant à tige quadrangulaire et à feuilles allongées laineuses gris verdâtre ou violacé doté d'une pubescence cotonneuse dans la face intérieure, la sauge peut atteindre 80 cm de haut (Chevallier 1997).

Cette espèce végétale a été employée traditionnellement pour guérir les maux de la gorge, la toux, les troubles digestifs, bronchites, asthme, excès de transpiration, elle est connue pour régulariser le cycle menstruel et pallier les troubles de la ménopause, elle a une activité tranquillisante (Rami and Zheng Guo 2011), Son huile essentielle a été utilisée pour traiter les maladies de système nerveux, cœur, circulation sanguine, système respiratoire, système digestif et dépression, en plus elle amasse de propriétés antiseptiques, Antispasmodique et propriétés astringentes (Radulescu, Chiliment et al. 2004).

Cette herbe n'a pas enregistré des cas d'intoxication lors d'une consommation raisonnable et modérée, en revanche l'administration d'une grande quantité environ plus de 15 g des feuilles peut induire des effets indésirables, la toxicité est due au contenu élevé du thuyone, Camphor et cétones ces composés peuvent toucher le fœtus et le nouveau-né (Walch, Ngaba Tinzoh et al. 2011).

1.3 Les composants secondaires majeurs des plantes médicinales

1.3.1 Les polyphénols

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une large famille de métabolites secondaires d'origine végétale avec au moins un cycle aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyles qui se lient à d'autres fonctions tels que : éther, ester, hétéroside etc. (Figure 03) (Ferrazzano, Amato et al. 2011). Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules (Hennebelle, Sahpaz et al. 2004).

Les composés phénoliques peuvent aller de molécules simples comme l'acide phénolique à des composés complexes comme les tanins. Ils sont subdivisés en phénols simples, acides phénols et coumarines (Hadj Salem 2009; Benhamou and Fazouane 2013). Ces derniers sont synthétisés par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique (Dewick 1995) et la voie d'acétate malonate (Fennouche, Boualita et al. 2008).

Généralement les polyphénols sont présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux (Boizot and Charpentier 2006).

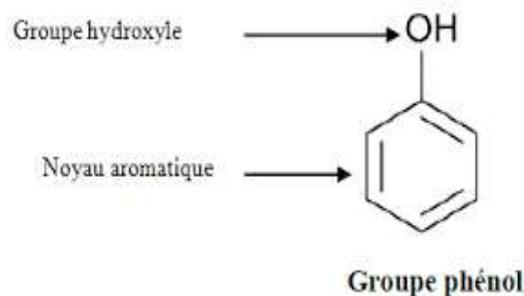


Figure 03 : Structure de base des composés phénoliques (Manallah 2018).

1.3.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules qui ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Tsimogiannis and Oreopoulou 2006). Ce sont les polyphénols les plus étudiés et diversifiés avec plus de 8000 variants (Beta, Nam et al. 2005). Les membres de cette famille sont constitués de deux noyaux phénols assemblés en C6-C3-C6 (Ferrazzano, Amato et al. 2011).

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments presque universels des végétaux. Ils sont souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et rarement des feuilles. À l'état naturel ces derniers peuvent se trouver sous forme d'hétérosides et dans toutes les parties des végétaux supérieurs (Ghestem, Seguin et al. 2001).

La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur (Yadav and Mukundan 2011), En inhibant la croissance de plusieurs types de carcinome humain comme le cancer des seins, du colon, la leucémie, prostate, adénocarcinome, le carcinome hépatocellulaire et cancers bronchiques à petites cellules (Ghorbani and Esmailizadeh 2017).

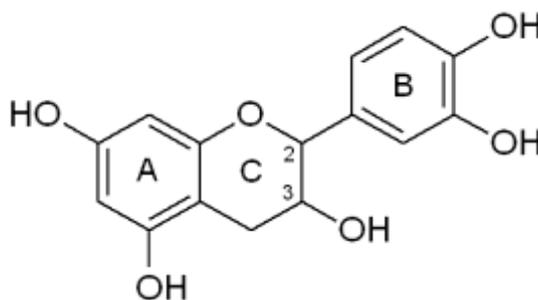


Figure 04 : Structure générale des flavonoïdes (Coste 2015).

1.3.3 Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variées ayant en commun la propriété de tanner la peau. Cette propriété est liée à leur attitude de se combiner aux protéines (Roux and Catier 2007). Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000 Da. Ils sont très répandus dans le règne végétal. Ils existent dans presque toutes les parties de la plante (Hadj Salem 2009).

Les tanins sont divisés en deux groupes les tanins hydrolysables et les tanins condensés ou catéchiques : les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols (Jean 2009) et les tanins condensés sont des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Jean 2009).

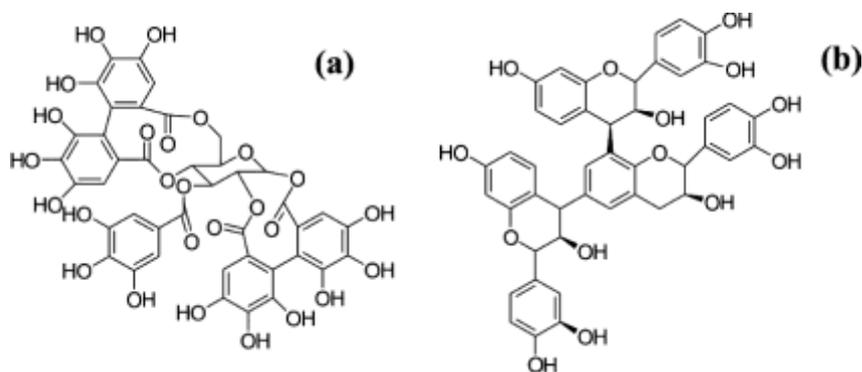


Figure 05 : Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysable et (b) d'un tanin condensé (Bayart 2019).

1.3.4 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. Ils sont des molécules organiques hétérocycliques azotées dérivés des acides aminés (Koudou 2009). Le lieu de synthèse des alcaloïdes est au niveau du réticulum endoplasmique, puis se concentre dans la vacuole, généralement, ils sont produits dans les tissus en croissance (Vermerris and Nicholson 2007). Les alcaloïdes ont une structure moléculaire complexe, ils constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant plus de 10 000 à 12 000 structures (Stöckigt, Sheludko et al. 2002). La plupart des alcaloïdes sont chez la rue (*ruta graveolens* L.) où leur teneur est estimé de 0,4 à 1,4 % des constituants (Pollio, De Natale et al. 2008), les alcaloïdes ont des propriétés anti prolifératif contre les champignons et les bactéries dus à leur effet

mutagène et toxique (El Sayed, Al-Said et al. 2000). D'après le travail de Paulini and Schimmer (1989), les alcaloïdes d'un extrait de racines de la rue (*ruta graveolens* L.) ont un effet mutagène chez l'espèce *Salmonella typhimurium* (Hammiche and Azzouz 2013).

1.3.5 Les coumarines

Les coumarines sont des dérivés phénoliques non volatils, d'odeurs agréables, il existe de la coumarine qui sert en parfumerie et d'autres qui sont très toxiques (Garabeth, Bouaoun et al. 2007). Ces derniers ont (C6-C3) comme structure de base dérivant des acides orthohydrocinnamiques et les substituants sont dans les positions C5, C6, C7 et C8 (Cazes 2001; Vermerris and Nicholson 2007).

Les coumarines sont abondantes dans la rue avec plus de 40 coumarines et ses dérivés (Koudou 2009), Les feuilles renferment 0,36 % de MS et les tiges 0,2 % de MS (Milesi, Massot et al. 2001). Ils présentent une activité mutagène envers des micro-organismes fongiques ou bactériens. Les furocoumarines sont photosensibilisantes et causent de graves dommages cutanés (Hammiche and Azzouz 2013).

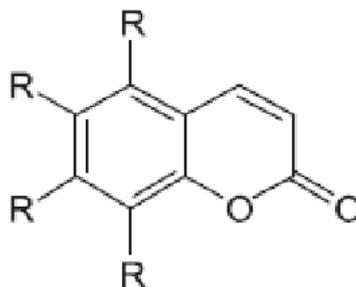


Figure 06 : structure chimique des coumarines (Tomasz Kubrak, Rafał Podgórski et al. 2017).

1.3.6 Les terpènes

Les terpènes sont des molécules très volatiles, très répandus dans le règne végétal (Lamarti, Badoc et al. 1994). Ils sont localisés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines. Ces derniers sont des substances très lipophiles et insolubles dans l'eau (Meddah and Deloum 2007). Les terpènes sont des composés de 5 atomes de carbone à la formule générale (C₅H₈) ayant pour base un isoprène et selon le nombre d'entités isoprène qui sont intégrées dans leurs structures, les terpènes sont classés en sept classes : les hémiterpènes, les monoterpènes, les

quiterpènes, les diterpènes, les triterpènes, les tétraterpènes et polyterpènes (Rebstein and Soerensen 2011). Le Manool, carnosol et l'acide ursolique sont des terpènes avec une activité anti-inflammatoire (Morel 2008).

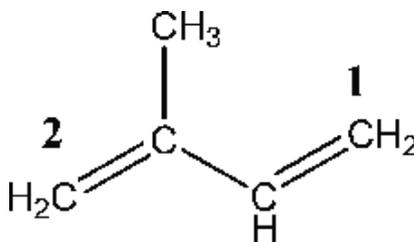


Figure (07) : Structure chimique de l'isoprène (Zeinali, Altarawneh et al. 2016).

1.4 La Composition chimique en bioactifs secondaires de la rue et la sauge

La répartition géographique, le stade de développement, le climat ainsi l'apport en eau et l'altitude des plants agissent sur la composition chimique des plantes. (Maksimović, Vidic et al. 2007; Baranauskiene, Dambrauskiene et al. 2011; Lakušić, Ristić et al. 2013)

Les composés proéminents de la sauge sont des composés polyphénoliques tels l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol (Lu and Foo 1999), Tandis que les alcaloïdes et les fucoumarines sont les éléments marquants dans la plupart des activités biologiques et la toxicité de la rue (Hammiche and Azzouz 2013).

En effet plus de 100 composés ont été identifiés chez la rue, Il a été reporté que 2-nonyl acétate, 2-Undecanone, 2-nonanone sont les constituants majeurs de son huile essentiel (Yaacob, Abdullah et al. 1989). Cependant l'huile essentielle des parties aériennes de la sauge peut contenir plus de 120 constituants avec des feuilles riches en bornyl acetate, camphene, camphor, humulene, limonene et thuyone (Ghorbani and Esmailizadeh 2017).

1.5 Les activités biologiques de la rue et la sauge

Les deux plantes la rue et la sauge ont démontré diverses activités d'après des études cliniques et des recherches, on cite quelques activités dans les tableaux suivants :

Tableau 01 : Quelques activités biologiques de *Ruta graveolens* L.

Activités	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	Références
Antioxydante	DDPH	/	(Pandey, Mehta et al. 2011)
Anticancéreuse	Exclusion au bleu de trypan	Souris	(Preethi, Kuttan et al. 2006)
Antimicrobienne	Diffusion sur disque et <i>Arthemisia salina</i>	/	(Ivanova, Mikhova et al. 2005)
Anti-inflammatoire	/	Rats	(Ratheesh and Helen 2007)
Anti hyperglycémie	/	Rats	(Liao, Yin et al. 2000)
Effets anti - hyperlipidémie	/	Souris	(Park, Sim et al. 2010)

Les activités biologiques de la sauge mentionnées dans les recherches scientifiques figurent dans le **tableau 2** ;

Tableau 02 : Les activités biologiques de *salvia officinalis* L. *In vitro* et *In vivo* signalées dans la littérature.

Activités	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	Référence
Anti oxydant	/	Souris	(Grzegorzczuk, Matkowski et al. 2007; Xavier, Lima et al. 2009)
Anti cancéreux	/	(DLA) et (EAC)	(Lima, Andrade et al. 2005; Privitera, Napoli et al. 2014)
Anti microbien	Diffusion sur disque et la microdilution en bouillon	/	(Hayouni, Chraief et al. 2008)
Anti spasmodique	/	Souris	(Khayate-Nouri, Namvaran-Abbasabad et al. 2013)
Anti convulsif	/	Souris	(Khan, ur Rehman et al. 2011)
Anti inflammatoire	/	Souris	(Mansourabadi, Sadeghi et al. 2016)

DLA : ascite lymphocytaire de dalton, **EAC** : Le carcinome ascitique d'Ehrlich.

1.6 Étude sur l'activité antioxydante

Le déséquilibre entre les oxydants et anti oxydants dans l'organisme aérobie en faveur des oxydants définit le stress oxydatif, il est impliqué dans l'apparition de beaucoup de maladies telles le cancer, l'athérosclérose, Alzheimer et la déficience du système immunitaire (Aruoma 1998).

C'est à cause des espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme l'ion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (HO^\bullet) qui cherchent à se stabiliser en acquérant l'électron qui leur manque. Elles sont le produit du métabolisme oxydatif mitochondrial et de la réponse cellulaire à des agressions xénobiotiques (McCord 2000), l'interaction de ces espèces avec les cellules évoque la peroxydation des lipides qui cause une destruction de la membrane cellulaire par le changement de la pression osmotique conduisant à la mort cellulaire, les ERO font appel à des médiateurs d'inflammation qui ajoute au dommage des tissus cellulaires (Halliwell 1995).

Tableau 03 : les sources de la provenance des espèces réactives d'oxygène.

Sources d'ERO Endogènes	Sources d'ERO Exogènes
NADPH oxydase, Chaîne respiratoire mitochondriale, Peroxysome, Cyclooxygénase, Lipoxygénase, Xanthine oxydase, Cytochrome P-450	Polluants, Radiations (X, UV), Xénobiotiques pro-oxydants, Cytokines pro-inflammatoires.

Les organismes vivants ont développé des mécanismes pour se protéger et contrer le stress oxydatif (Halliwell 1995), il existe des molécules antioxydantes enzymatique et non enzymatique.

Tableau 04 : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Antioxydants enzymatiques	Non enzymatiques
Superoxyde dismutase, Glutathion, peroxydase, Catalase.	Glutathion, Ubiquinol, Vitamines E, Vitamines C, Caroténoïdes, Polyphénols alimentaires.

Le stress oxydatif peut être déséquilibré dans des conditions de mauvaise alimentation d'où vient l'importance d'une alimentation riche en antioxydant naturel tels les polyphénols (Rolland 2004). Les deux plantes de ce travail doivent une grande partie de la capacité antioxydante aux polyphénols, l'effet scavenger de ces composés se manifeste dans la prévention des dommages causés par les radicaux libres en les inactivant ou les inhibant par leur capacité à les piéger. Leur action de régulation de stress oxydatif se fait par capture directe des radicaux (Koudou 2009).

Les flavonoïdes sont oxydés par les radicaux donnant naissance à des formes plus stables et moins réactives (Korkina and Afanas' Ev 1996), leur groupement hydroxyle stabilise et inactive les radicaux suivant l'équation (1) (Korkina and Afanas' Ev 1996).

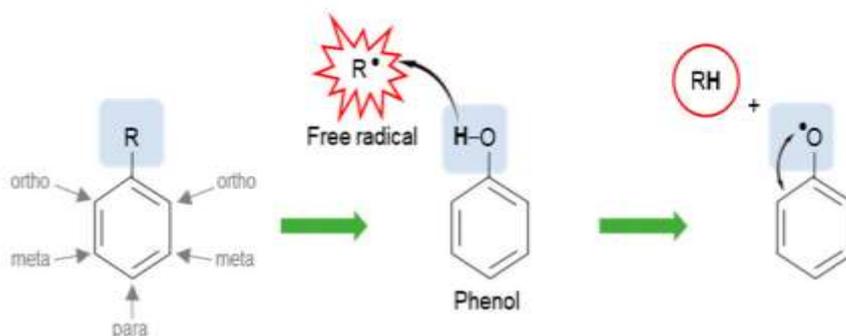
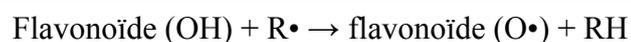
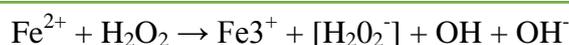


Figure 08 : la stabilisation d'un radical libre par les polyphénols (Rungratanawanich, Memo et al. 2018).

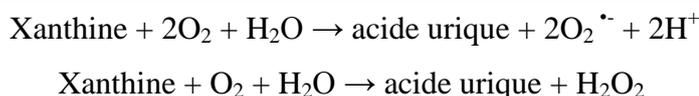
La chélation des métaux de transition comme le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^{2+}) fait l'une des fonctions des composés polyphénoliques, le peroxyde d'hydrogène présente un danger éminent à des concentrations élevées dans l'organisme il détruit la structure de la cellule (Halliwell and Gutteridge, 1999), durant les conditions de stress oxydatif la formation de radical hydroxyle (OH^{\cdot}) est renforcé par la présence de fer (Thomas, Mackey et al. 2009)

Selon la réaction de Fenton (2,3) (Thomas, Mackey et al. 2009).



La complexation des polyphénols avec les métaux fait décroître cette réaction dans l'organisme.

Une autre manière de prévention de l'oxydation est l'inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Hadj Salem 2009). Les flavonoïdes inhibent l'enzyme xanthine oxydase, une enzyme qui catalyse l'oxydation d'hypoxanthine et xanthine à l'acide urique, la réoxydation de cette enzyme implique l'oxygène comme donneur d'électron. La réaction produit le radical super oxyde et le peroxyde hydrogène, deux ERO qui entrent dans beaucoup de pathologies (Cos, Ying et al. 1998), les deux équations (4,5) de la catalyse sont comme suit (Cos, Ying et al. 1998).



Saieed, Reza et al. (2006) ont trouvé que l'extrait de la rue et ses flavonoïdes majoritaires inhibent Aldéhyde oxydase, une enzyme qui libère des radicaux libres en conséquence avec son rôle de la métabolisation des xénobiotiques, cette action fait participer l'oxygène comme accepteur d'électrons (Saieed, Reza et al. 2006).

1.7 Étude sur l'activité antibactérienne

En raison de la résistance des bactéries face aux antibiotiques standards, les principes actifs antibactériens trouvés dans les plantes médicinales sont devenus un sujet éventuel d'étude pour ressortir des alternatives.

Différentes recherches accordent une capacité inhibitrice des espèces microbiennes à la sauge et la rue, par leurs extraits éthanolique, méthanoïque... etc. (Veličković, Randelović et al. 2003; Bayoud, Djilani et al. 2007).

La résistance des bactéries aux antibiotiques se fait selon plusieurs manières, c'est un caractère que la bactérie l'acquiert ou dont il fait partie de ces mécanismes innés. (Doyle, Busta et al. 2006; Springman, Lacher et al. 2009)

L'un de ces mécanismes est la libération des enzymes qui inhibent l'action des antibiotiques par leur modification ou dégradation, alors que d'autres bactéries exportent les antibiotiques de l'intérieur de leur cellule et les éjectent par les pompes efflux en dehors des cellules (Li and Nikaido 2009). La bactérie peut même modifier

l'affinité de ses protéines de liaison aux antibiotiques spécifiques ce changement de structure est signalé par le code génétique qui joue un rôle primordial dans la résistance des bactéries par exemple *Escherichia coli* porte une mutation du gène *gyra* qui lui confère une forte résistance (Hooper 2001). L'hypermutation de micro-organismes pathogène telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Helicobacter pylori*. leur a conféré la résistance aux antibiotiques (Džidić, Šušković et al. 2008).

Les plantes agissent sur la pathogénicité des espèces bactériennes par l'accumulation de leurs composés phénoliques dans la couche phospholipidique. Cela perturbe la couche membranaire et dérégule les échanges intercellulaires de biosynthèses indispensables (Cox, Mann et al. 2001), il a été rapporté que les composés phénoliques le thymol, le carvacrol et l'eugénol diminuent le taux d'acide gras insaturé responsable de la fluidité membranaire (Di Pasqua, Betts et al. 2007), de plus cette dérégulation de la couche externe affecte le processus de la chaîne respiratoire par la diminution du taux d'ATP intracellulaire (Turgis, Han et al. 2009).

1.8 Étude sur l'Activité antifongique

Les infections provoquées par les champignons ou les levures posent un problème majeur à cause de l'acquisition de ses espèces fongiques la résistance face aux traitements usuels.

L'utilisation des extraits de la sauge et la rue pour combler ce problème et même de conserver les produits alimentaires sera très probable, des recherches rigoureuses sont en bonne voie pour identifier les métabolites spécifiques sur l'action antifongique vu la complexité des métabolites et l'ambiguïté de leurs fonctions exactes.

La résistance est due à l'augmentation de la pression antifongique, la carence en traitements antifongiques ainsi que la croissance des patients infectés, entre autres *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* sont des espèces intrinsèquement résistantes, d'autres sujets acquièrent cette capacité (Prigent 2016).

Les propriétés antifongiques des métabolites secondaires peuvent aller de l'inhibition de la formation des unités fondamentales de la membrane cellulaire β -glucans et chitin (Griffin 1996; Mc Clanahan 2009; Walker, White et al. 2017), à la dégradation des membranes externes, l'absence d'unités signifie l'inhibition des membranes fongiques cela freine la progression d'une infection potentiel, il est a noté qu'une membrane perforée suite à l'action de dégradation perd ses fonctionnalités

physiologiques (Ghannoum and Rice 1999), ses constituants et la capacité de production de l'énergie intracellulaire ou la synthèse des composants de structure (Oussalah, Caillet et al. 2007).

La destruction du matériel génétique et l'inhibition de synthèse d'ARN et d'ADN conduisent à la mort des espèces fongiques, les composées des plantes ayant la capacité antifongique interfèrent avec l'ARN qui cause la perturbation de la transcription d'ADN, en outre l'inhibition de la synthèse de la protéine est aussi une cible des antifongiques (Walker, White et al. 2017).

A decorative scroll graphic with a green border and grey scroll ends. The text is centered on the scroll.

Chapitre 02

Matériel et Méthodes

A faint, light green reflection of the scroll graphic is visible below the main scroll.

2 Matériel et méthodes

Ce présent travail a pour but d'étudier l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne et l'activité antifongique de *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L. La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira. Elle s'est déroulée entre Avril et mai 2021.

Les étapes expérimentales sont schématisées dans la figure suivante :

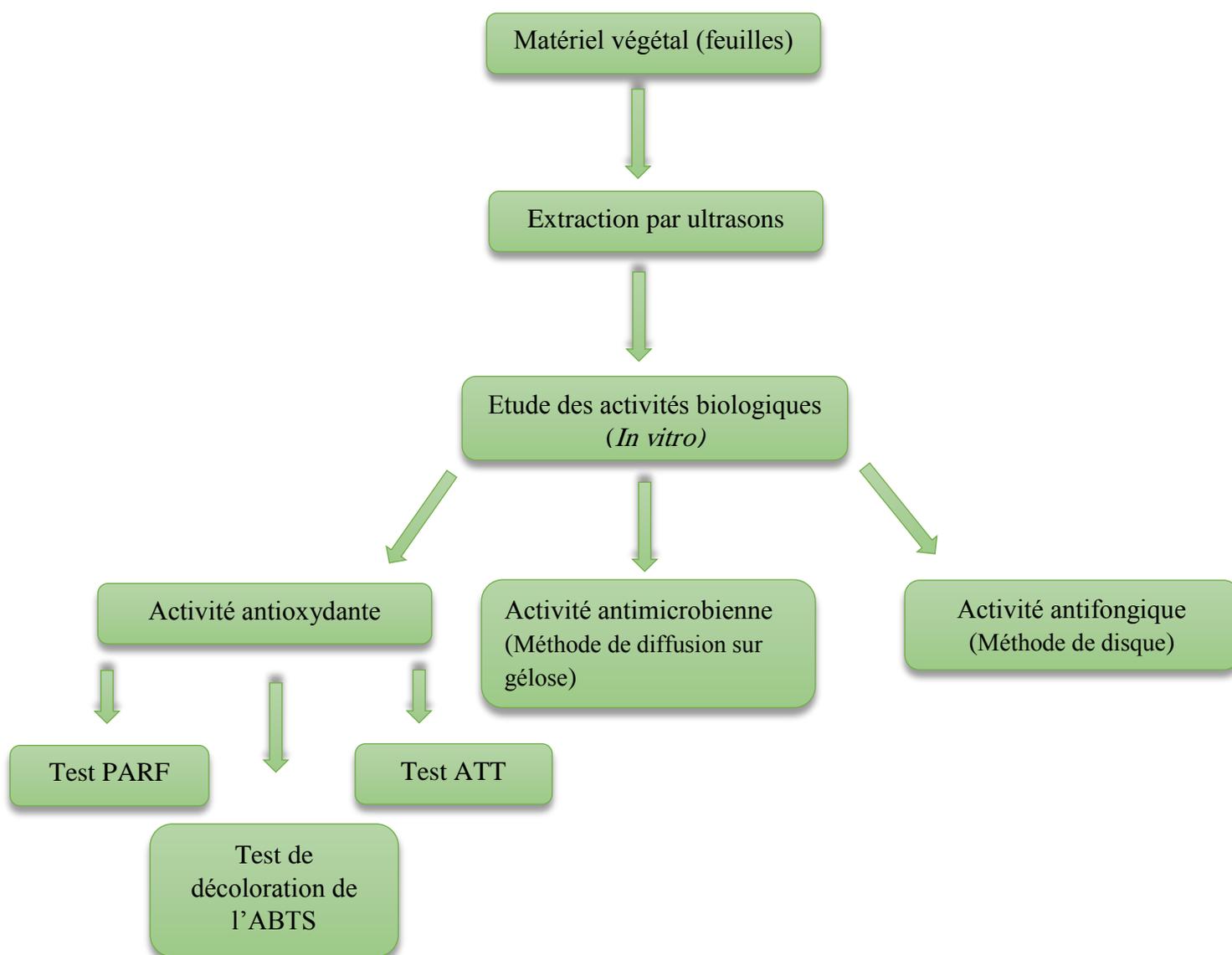


Figure (09) : Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux. PRF (pouvoir réducteur ferrique), AAT (Activité antioxydante totale), et test de décoloration de radical d'ABTS.

2.1 Produits chimiques et l'appareillage

2.1.1 L'appareillage

L'appareillage utilisé durant les expériences est représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau (05) : L'appareillage utilisé afin de réaliser la partie expérimentale.

Appareils	Références
Lyophilisateur	CHRIST Alpha 1-2 LD PLUS, 22645, Germany
Ultrasons	JP SELECTA S A, 611898, Spain
Bain-marie	MEMMERT WNB22, L519.0937, Germany
Centrifugeuse	Sigma 3-16L, 172577, Germany
Vortex	Nahita, C84181, 50681500
Etuve	MEMMERT, B319.0656, Germany
Balance électronique	OHAUS, px85, B937268868, USA
Réfrigérateur	Christ, D-37520, 22645, Germany
Autoclave	WiseClave, Wac-80, S/N.0400930108R001, Korea
Broyeur électrique	Moulinex, AR110510, France
Agitateur magnétique	Stuart, SB162, R600002574, PRC
Spectrophotomètre UV-visible	Optima, SP-3000nano, 5T5701-143132-00, Japan
pH mètre	Mettler toledo, Five Easy F20, B615331415, Switzerland

2.1.2 Produits chimiques

Différents réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les expériences. Le tableau ci-dessous représente ses derniers :

Tableau 06 : les réactifs chimiques et solvants utilisés durant les expériences et leurs formules chimiques.

Réactifs chimiques et solvants	Formule chimique
Éthanol 64 %	C_2H_5OH
ABTS	$C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$
Potassium persulfate	$K_2S_2O_8$
Phosphate de sodium monobasique monohydraté	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$
Phosphate de sodium dibasique dodecahydraté	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$
Ferricyanure de potassium	$C_6N_6FeK_3$
Acide trichloroacétique	$C_2HC_3O_2$
Chlorure de fer	$FeCl_3$
L'acide sulfurique	H_2SO_4
Phosphate de sodium	Na_3PO_4
Molybdate d'ammonium tetrahydraté	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$

2.2 Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur la partie aérienne de *Salvia officinalis* L. et de *Ruta graveolens* L. (figure 10).



Figure 10 : Photographie représente la partie supérieure des plantes étudiées ; *Ruta graveolens* L. (A) et de *Salvia officinalis* L. (B). (Originale)

2.2.1 Récolte et origine géographique

La rue et la sauge ont été recueillies à Ain bessem, wilaya de Bouira en Avril 2021. La récolte a été faite durant la période de floraison, dans son habitat naturel. La situation géographique de la région de la récolte est tracée dans la carte géographique ci-dessous.

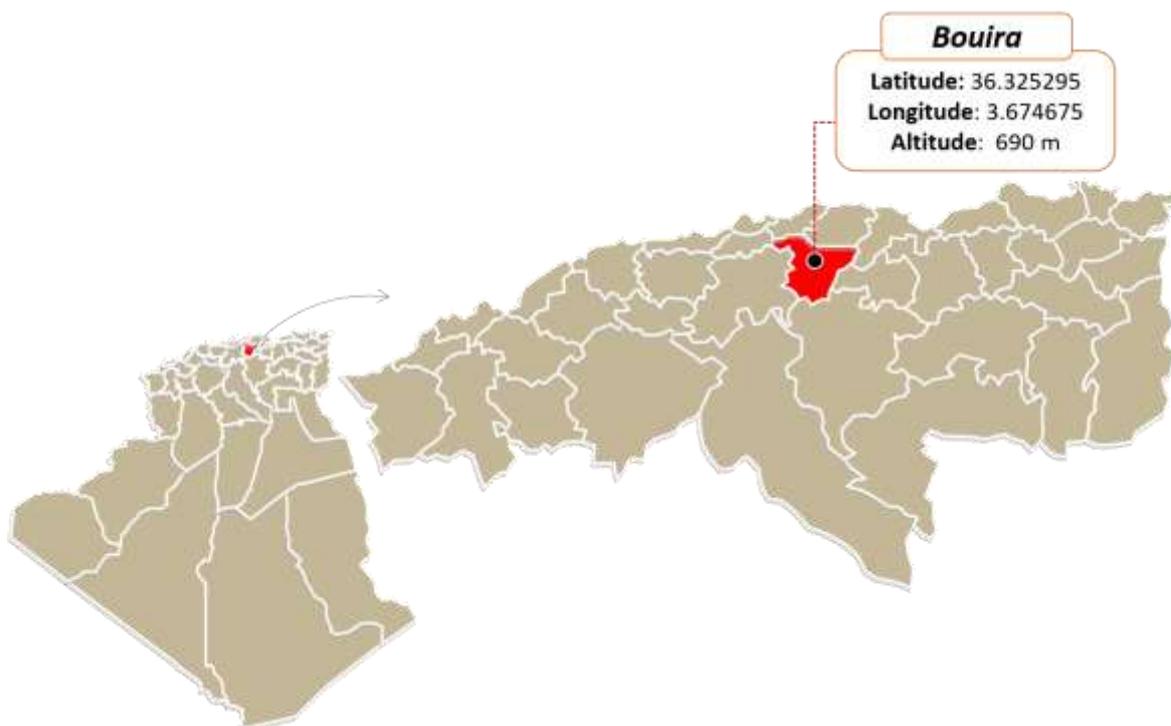


Figure 11 : la Carte géographique qui représente la région de la récolte de la rue et la sauge.

2.2.2 Lavage et Séchage

Après la récolte, les échantillons ont été bien nettoyés avec l'eau courante dans le but d'éliminer toute poussière et impuretés. Après elles étaient lavées avec l'eau distillée, puis séchées à une température de 40 °C à l'étuve. Après séchage, les deux plantes séchées étaient conservées dans un endroit sec et loin de la lumière. Le séchage avait plusieurs buts ; l'arrêt des réactions chimiques afin d'éviter la dégradation et l'oxydation des composés bioactifs, l'obtention d'un meilleur broyage, l'obtention d'une meilleure extraction, uniformisation des taux d'humidité résiduelle des échantillons, la conservation des échantillons par l'élimination d'eau.

2.2.3 Broyage et tamisage

Le matériel végétal séché a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique (Moulinex, AR110510, France) en poudre fine pour permettre une meilleure extraction. Après les poudres obtenues par broyage sont tamisées par un tamis (la taille des particules 200 μm). Ces dernières ont été ensuite conservées dans des flacons en verre couvertes avec du papier aluminium à l'abri de la lumière afin d'éviter la photo oxydation des substances actives des plantes. Les flacons étaient étiquetés par des étiquettes ou le nom

scientifique des plantes, la date de récolte, le lieu de récolte et le diamètre étaient mentionnés.

2.3 Méthodes

2.3.1 Extraction assistée par ultrason (UAE)

La méthode d'extraction effectuée était une extraction assistée par ultrason (UAE). Ce mode d'extraction a pour but d'extraire le maximum de molécules chimiques des feuilles de *Salvia officinalis* L. et la partie aérienne de *Ruta graveolens* L., en utilisant un solvant hydro alcoolique ; eau-éthanol 64%.

2.3.1.1 Principe

L'extraction assistée par ultrasons est une technique qui utilise les ondes ultrasonores. Les ondes ultrasonores sont des ondes mécaniques à une fréquence supérieure au seuil de l'audition humaine 16 KHZ (Picó 2013). Les ultrasons peuvent se propager dans les liquides, les solides et les gaz (Esclapez, García-Pérez et al. 2011). Le milieu de propagation de ces derniers est soumis à une succession de compression et de décompressions. Ces deux phases provoquent la formation des bulles. Les ultrasons entraînent des modifications de la température ainsi la pression à l'intérieur des bulles au moment où la dimension critique est atteinte les bulles implosent. Ce processus est appelé ; cavitation (Mason, Paniwnyk et al. 1996).

Ce processus est appliqué dans l'extraction des substances phytochimiques. Il peut être décrit en quatre étapes ; dans la première étape, la génération des bulles de cavitations près de la surface de la matrice végétale lors de l'application d'ondes ultrasonores. Dans la deuxième étape, les bulles sont effondrés en libérant des microjets avec pression et température vers la surface. Dans la troisième étape, la rupture de la surface de matrice et l'établissement d'un contact direct entre les composants actifs à l'intérieur de la cellule et le solvant. Dans la quatrième étape, la libération des composants actifs dans le milieu liquide (Panja 2018).

2.3.1.2 Les Paramètres qui influencent sur la cavitation

Pour cette technique d'extraction, il est nécessaire de prendre en considération l'influence de certains paramètres tels que, le solvant, la température et le temps d'extraction.

2.3.1.2.1 Le solvant

La nature du solvant joue un rôle très important pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt. Ce dernier doit avoir deux points essentiels : une affinité importante pour les molécules ciblées et grande capacité de dissolution (Chemat, Rombaut et al. 2017). Le choix du solvant est déterminé par la solubilité des métabolites cibles, mais aussi par des paramètres physiques tels que la viscosité, la tension interfaciale et la tension de vapeur (Chemat, Rombaut et al. 2017). Le choix de solvant se base sur l'obtention d'une grande affinité moléculaire entre le solvant et le soluté. De préférence, il faut toujours utiliser des solvants ininflammables, non toxiques et non explosifs (Yilmaz and Toledo 2006).

Afin de dissoudre les composés phénoliques antioxydants polaires, l'eau est souvent utilisée comme un solvant pour les extraire à partir des sources végétales car il est très polaire. Pour les antioxydants peu polaires, des solvants plus hydrophobes sont utilisés. Le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle ainsi que leur mélange avec l'eau sont des solvants très utilisés pour extraire les composés phénoliques (Pinelo, Del Fabbro et al. 2005; Yilmaz and Toledo 2006; Penchev, Angelov et al. 2010). L'eau et l'éthanol, sont les solvants les plus utilisés pour l'obtention d'extraits d'antioxydants phénoliques (Wang and Weller 2006).

2.3.1.2.2 La température

La température a un impact important sur les propriétés du solvant. L'augmentation de la température a plusieurs effets ; la diminution de la solubilité et la diffusivité dans la solution et la réduction de viscosité, elle produit moins d'énergie de cavitation due à la diminution de la tension superficielle et à l'augmentation de la pression de vapeur, elle peut également affecter la stabilité de certains composés phénoliques (Fischer, Carle et al. 2013).

Alors il est important de choisir une température d'extraction en fonction du composé cible de l'extraction et la contrôler afin d'empêcher la dégradation des composés thermolabiles (Chemat, Rombaut et al. 2017; Wen, Zhang et al. 2018).

2.3.1.2.3 Le temps d'extraction

Ce paramètre est étroitement lié à la cinétique d'extraction. La connaissance de cette dernière permet de arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint et de ne pas continuer l'opération au-delà (Wen, Zhang et al. 2018).

2.3.1.3 Les Avantages d'extraction assistée par ultrasons

Ce mode d'extraction présente de multiples avantages ; c'est un moyen écologique et efficace, il nécessite moins de solvant, il préserve les molécules thermolabiles, il peut être utilisé avec des échantillons solides ou liquides et pour extraire des composés organiques ou inorganiques (Ajila, Brar et al. 2011), rendement d'extraction important avec un temps d'extraction réduit, et une méthode peu coûteuse (Panja 2018).

2.3.1.4 Protocole expérimental

Pour cette partie du travail, les poudres obtenues des deux plantes ont été mises à extraction par ultrasons (JP SELECTA SA) ; 1 g de poudre a été mélangé avec 20 ml du solvant, le solvant utilisé a été eau-éthanol à 64 %, la température d'extraction a été réglée à 60 °C pendant 25 minutes. Les deux extraits hydro-alcooliques étaient récupérés dans un premier temps par la suite filtrés avec un papier Watman (N° 02). Le solvant a été ensuite éliminé du filtrat par évaporation dans l'étuve (MEMMERT) à 40 °C afin d'éliminer l'éthanol et le reste de l'extrait a été congelé à une température basse (-20 °C) toute la nuit. Le lendemain, le mélange était lyophilisé dans un lyophilisateur (CHRIST Alpha 1-2 LD PLUS) au cours de 3 étapes. D'abord, un préchauffage durant 20 minutes. Ensuite, la dessiccation primaire durant 30 minutes. Enfin, la dessiccation secondaire durant 7 heures. Après 7 heures, des poudres de différentes couleurs des extraits de *R. graveolens* L. et *Salvia officinalis* L. ont été récupérées dans des eppendorfs et conservées dans le réfrigérateur (Christ) jusqu'à l'utilisation.

2.4 Évaluation de l'activité antioxydante *In vitro* de la rue et de la sauge

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L., différents tests ont été développés ; test de AAT, test de PARF test d'ABTS.

2.4.1 Test de l'activité antioxydante totale (phosphomolybdate d'ammonium)

L'activité antioxydante totale au phosphomolybdate d'ammonium est réalisée selon le protocole de Prieto, Pineda et al. (1999).

2.4.1.1 Principe

C'est un test antioxydant important basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se manifeste par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo (V) à un pH acide (Prieto, Pineda et al. 1999) dont l'absorption maximale est 695 nm (Nagavani, Madhavi et al. 2010).

Ce test présente une différence par rapport aux autres tests, il permet de quantifier l'apport de l'activité antioxydante d'autres composés antioxydants comme les vitamines C, E etc. (Prieto, Pineda et al. 1999).

2.4.1.2 Mode opératoire

Pour cela une gamme de concentration est réalisée (1 mg/ml, 0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml). Après une solution réactionnelle a été préparée par l'acide sulfurique (0,6 m), phosphate de sodium (28 mm), et de molybdate d'ammonium (4 mm), dont 2 ml est mélangé avec 200 μL de chacune des concentrations précédentes. Le mélange est incubé à 95 °C pendant 90 min dans un bain marie (MEMMERT WNB22). L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 695 Nm, après refroidissement à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le blanc était un mélange de 2 ml de la solution réactionnelle préparée et 200 μL d'éthanol. Pour ce test, l'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence.

2.4.2 Test de réduction du Fer (PARF) par la sauge et la rue

Le test de réduction du Fer est réalisé selon le protocole de (Bhatti, Ali et al. 2015).

2.4.2.1 Principe

Le test de réduction du Fer est un test qui a pour but de mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (ferricyanure de potassium) en fer ferreux (Fe^{2+}). Le fer ferrique initialement jaune, se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de la

coloration de jaune à bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydante des plantes (Habibou, Idrissa et al. 2019). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits testés s'augmente si l'absorbance augmente (Hubert 2006).

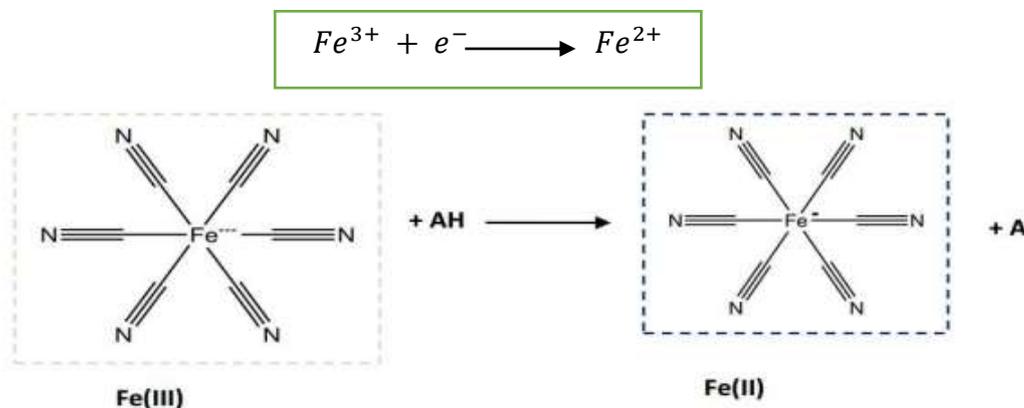


Figure 12 : Mécanisme réactionnel qui intervient lors du test PARF entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant AH (Laraba, Serrat et al. 2016).

2.4.2.2 Mode opératoire

Pour cela, une gamme de concentrations est réalisée (1 mg/ml, 0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml) à chaque concentration 0,5 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 m (pH : 6.6) et 0,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 % ont été ajoutés. Ensuite, le tout est incubé à 50 °C pendant 20 minutes dans un bain marie, puis refroidi à la température ambiante. 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10 % sont ajoutés au milieu réactionnel précédent afin d'arrêter la réaction. Le mélange est centrifugé à 3 000 rpm pendant 10 minutes. 0,5 ml du surnageant sont ajoutés à 0,5 ml d'eau distillée et 0,1 ml d'une solution de chlorure du fer ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) à 0.1 %. Les tubes sont laissés durant 10 minutes à la température ambiante. La lecture des absorbance se fait par un spectromètre (Optima) contre un blanc à 700 Nm.

2.4.3 Test de décoloration de l'ABTS* par les antioxydants de la sauge et de la rue.

Le test d'ABTS* est réalisé selon le protocole de Dahmoune, Spigno et al. (2014)

2.4.3.1 Principe

C'est un test basé sur la réduction du radical-cation coloré connu sous le nom $ABTS^{*+}$ de coloration bleu-verte en $ABTS^*$ incolore. Le développement de sa concentration est suivi à 734 Nm au cours de sa réaction avec les antioxydants (Marc et al. 2004). Ce radical est utilisé pour plusieurs raisons ; évolutions du pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il peut réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (Rice-Evans and Miller 1994). Lorsqu'un antioxydant est additionné à une solution de ce radical cation, il y aura la réduction de ce dernier et une diminution de l'absorbance à 734 Nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration (Re, Pellegrini et al. 1999).

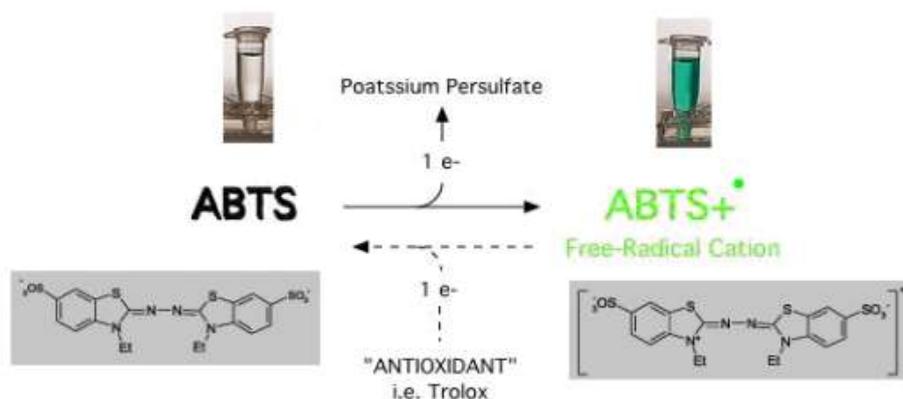


Figure 13 : Réaction de l'ABTS* avec des composés antioxydants (Boligon, Machado et al. 2014).

2.4.3.2 Mode opératoire

Une gamme de concentrations des extraits des plantes (1 mg/ml, 0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml) a été réalisée, la solution d'ABTS a été préparée comme suit : ABTS* à 7 mm + persulfate de potassium à 2,45 mm puis incubée à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures avant l'utilisation, Cette solution a ensuite été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.705 ± 0.02 à 734 Nm

75 μ L des extraits à des différentes concentrations ont été mélangés avec 1425 μ L de la solution diluée d'ABTS*, le mélange a été mélangé au vortex et incubé pendant 6

minutes à l'obscurité et à température ambiante, La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Optima) à 734 Nm contre de l'éthanol à 64 %.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition donné par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs (blanc)} - \text{Abs (extrait)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

Abs (blanc) : 1425 µL d'ABTS + 75 µL d'éthanol, **Abs (Extrait) :** 1425 µL d'ABTS + 75 µL d'éthanol, **Abs (contrôle) :** absorbance de solution d'ABTS.

2.5 Étude de l'activité antimicrobienne *In vitro* de la sauge et de la rue

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien. L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L. a été réalisée selon le protocole de Bolou, Attioua et al. (2011) par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé par puits.

2.5.1 Souches bactériennes

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L., six souches ont été utilisées. (Voir le tableau 07)

Ces souches proviennent du laboratoire de microbiologie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira.

Tableau 07 : Caractéristiques générales des souches bactériennes testées.

Nom de la souche	Référence	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négatif
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Positif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49542	Négatif
<i>Listeria innocua</i>	CLIP 74915	Positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positif

2.5.2 Milieux de cultures utilisés

Selon les souches bactériennes deux milieux de cultures ont été utilisés : Mueller Hinton (MH), gélose nutritive (voir annexe I).

2.5.3 Mode opératoire

Les six souches bactériennes testées ont été revivifiées sur gélose nutritive en boîtes de Pétri par l'utilisation d'une méthode appelée méthode des stries, puis elles ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures pour l'obtention des colonies qui seront par la suite utilisées afin de préparer les suspensions.

Après la revivification, les colonies obtenues ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine, ensuite homogénéisées avec 9 ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai. Après des dilutions ont été préparées dans la même solution jusqu'à l'obtention d'une densité microbienne de 10^8 UFC/ml et une densité optique à 620 Nm comprise entre 0.08 - 0.1. Cette concentration a subi par la suite une autre dilution décimale jusqu'à l'obtention d'une concentration de 10^7 UFC/ml.

Le milieu gélosé de Muller Hinton stérile et liquéfié a été coulé dans des boîtes de pétri vides et stériles. Après séchage des boîtes et solidification, 5 puits ont été faites à l'aide des embouts stériles : 4 puits de ces derniers ont été remplis avec 40 µL des extraits éthanoliques avec une concentration de 2 mg/ml et 1 puits a été rempli avec 40 µL d'éthanol à 64 % comme témoin.

Par l'utilisation des écouvillons stériles, chargés de la suspension bactérienne déjà préparée l'ensemencement par étalement a été fait. Les boîtes ont été par la suite incubées en premier lieu à 4 °C pendant 17-18 heures pour assurer la diffusion des extraits, puis incubés dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

2.6 Évaluation de l'activité antifongique *In vitro* de la sauge et de la rue

L'étude de l'activité antifongique de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L a été réalisée selon le protocole de Bhutia, Zhimo et al. (2016) par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé par puits.

2.6.1 Milieux de cultures utilisés

Selon les micro-organismes testés deux milieux de culture ont été utilisés : Milieu PDA (voir annexe I).

2.6.2 Micro-Organismes testés

L'activité antifongique a été évaluée sur les souches présentées dans la figure (14), Ces souches ont été obtenues au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre, Université de Bouira.

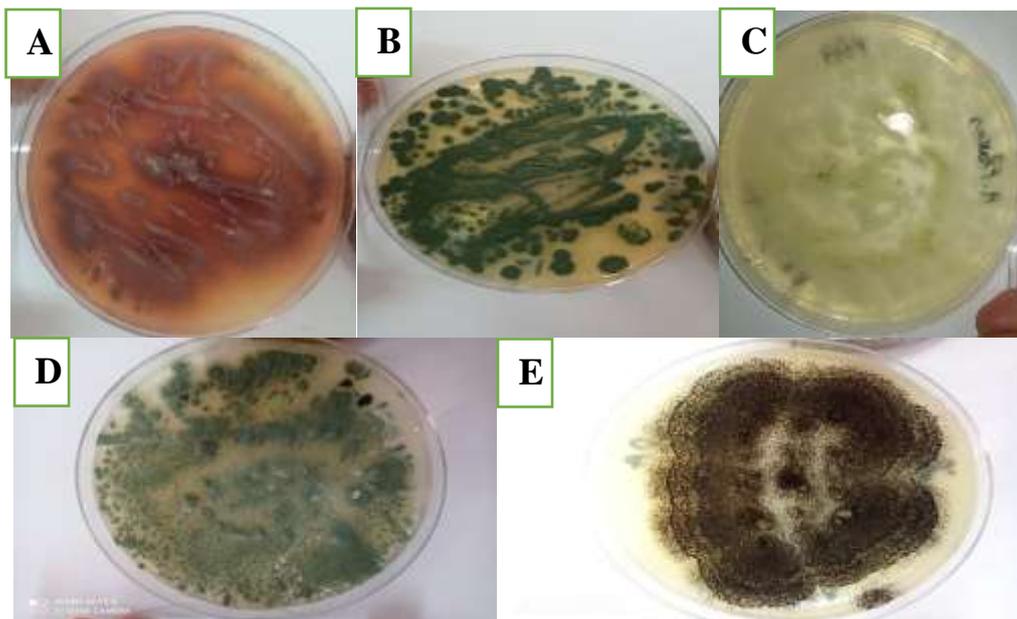


Figure 14 : Photographie représente les souches testées : A : *fusarium verticillioides*, B : *penicillium*, C : *aspergillus flavus*, D : *aspergillus fumigatus*, E : *aspergillus niger*.
(Originale)

2.6.3 Mode opératoire

Les cinq souches fongiques ont été repiquées sur gélose PDA à base de pomme de terre sur des boîtes de pétri, pour obtenir des cultures de champignons jeunes les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 4-5 jours.

Dans des tubes à essai stériles qui contiennent 1 ml des extraits éthanoliques de *Salvia officinalis* L et *Ruta graveolens* L avec une concentration de 10 mg/ml, 9 ml de PDA en surfusion ont été introduites. Après l'homogénéisation de milieu, ce dernier été coulé rapidement dans des boîtes de Pétri vides et stériles. Pour le tube témoin, 1 ml d'éthanol à 64 % a été ajouté et les 9 ml de PDA ont été ajoutées d'une manière

identique par rapport aux deux extraits précédents. Puis placées à l'entour de la zone stérile des becs benzène.

Sur les boîtes pétries qui contiennent les souches fongiques repiquées, des petits disques de ces dernières ont été prélevés à l'aide des embouts stériles et ils ont été rajoutés au centre des boîtes de Pétri déjà préparés à base des extraits à condition la facette qui contient les souches fongiques sera coller directement sur le milieu des boîtes précédentes.

Les boîtes ont été ensuite incubées à 30°C pendant une semaine dans l'étuve (MEMMERT). L'effet antifongique sera déterminé par la mesure des taux d'inhibition des croissances diamétrales des souches fongiques.



Chapitre 02

Résultats et Discussion



3 Résultats et Discussion

3.1 Évaluation de l'activité antioxydante *In vitro* des extraits hydro-alcoolique de la sauge et de la rue

3.1.1 Test de décoloration de radical ABTS*

Dans cet essai le cation radical stable d'ABTS est oxydé par l'ajout de potassium persulfate qui lui donne une coloration bleu vert, la présence des antioxydants neutralise le radical et provoque une décoloration du milieu, par l'apport d'hydrogène ou d'électron au radical (Brand-Williams, Cuvelier et al. 1995; Re, Pellegrini et al. 1999).

La figure (15) suivante présente le pourcentage d'inhibition par les extraits des plantes, la sauge et la rue, ainsi que les IC₅₀ respectives de chaque plante fig. (15).

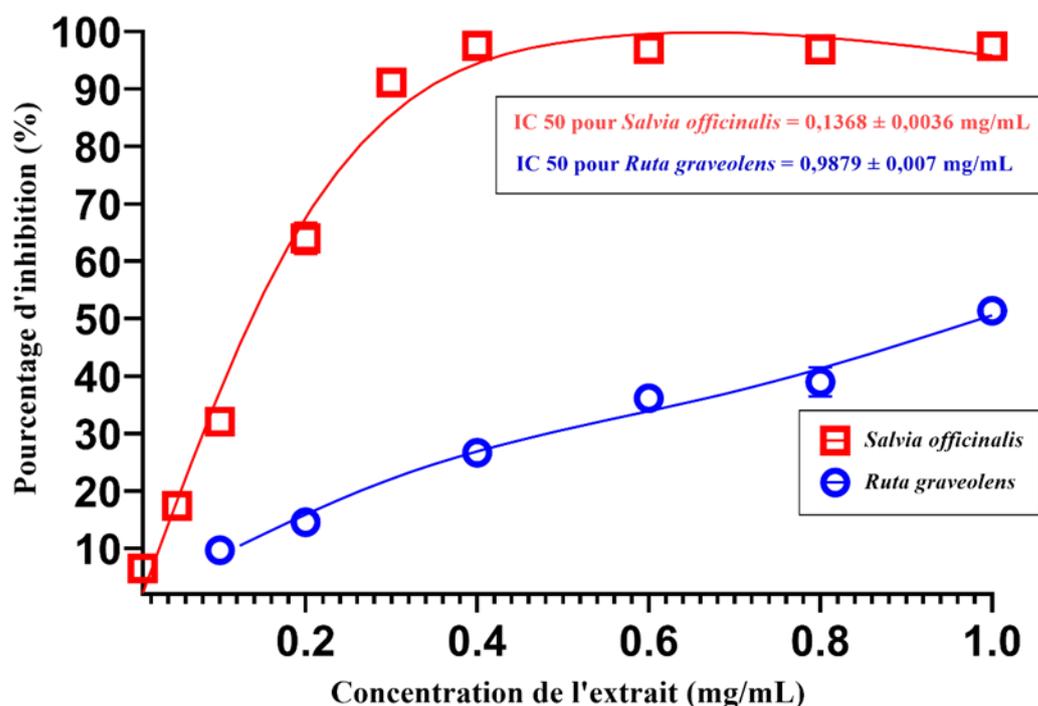


Figure 15 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition radicalaire des extraits de la sauge et la rue.

D'après les résultats observés dans le graph, on déduit une variation du pourcentage d'inhibition des deux extraits des plantes sur le radical ABTS*, une forte activité est aperçue chez la sauge qui s'augmente en fonction de la concentration et puis s'installe relativement à une concentration de 0,4 mg/ml, par contre le graphe

appartenant à la rue dévoile une courbe graduelle qui s'augmente avec l'augmentation de la concentration.

D'autre part l'IC₅₀ de la sauge touche $0,1\ 368 \pm 0,0036$ mg/ml lui accordant une activité antioxydante plus forte que ceux de la rue qui est de $0,9\ 879 \pm 0,007$ mg/ml.

3.1.2 Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des extraits étudiés PARF

L'essai de PARF a été développé pour déterminer l'aptitude de réduction de fer ferreux en ferricyanure des solutions biologiques, comme une mesure de leur capacité antioxydante (Oyaizu 1986).

Les polyphénols sont des réducteurs des oxydants en interagissant avec ceux-ci, ces composés cèdent un électron aux Fe^{3+} causant son réduction en Fe^{2+} à la couleur bleu (Benzie and Strain 1996; Wong, Leong et al. 2006).

Les deux extraits éthanoliques de la sauge et la rue ont été soumis à cet essai suivant le Protocole Bhatti, Ali et al (2015), la courbe suivante montre la densité optique des 2 extraits et l'acide ascorbique pour leur comparer en fonction de la concentration.

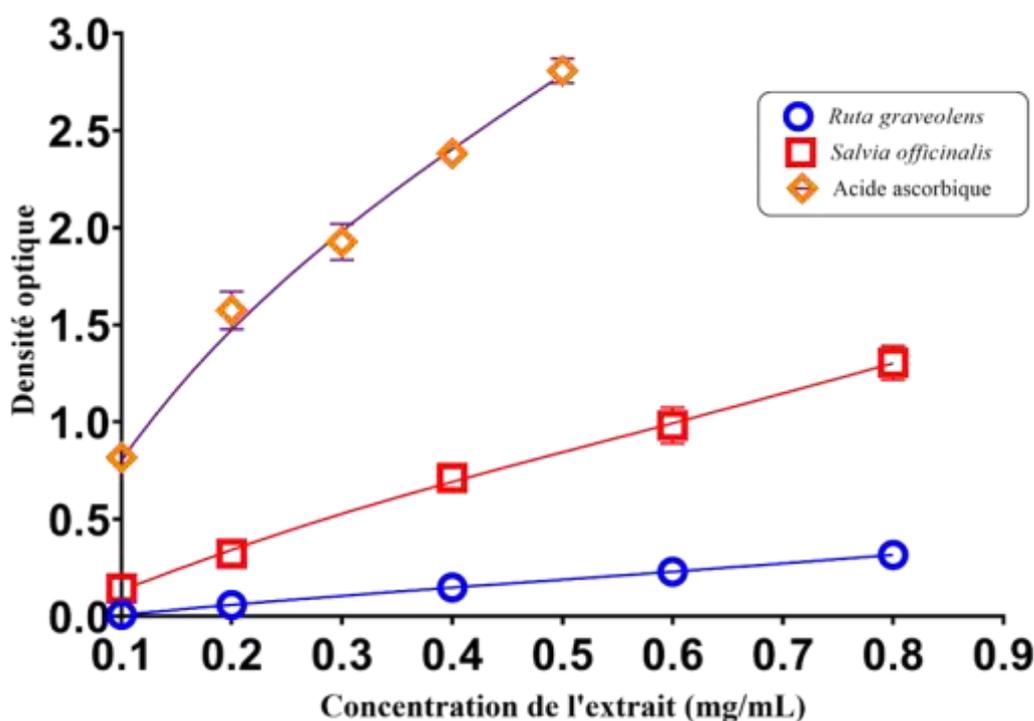


Figure 16 : graphe représentant le pouvoir réducteur des deux extraits de la sauge et de la rue et de l'acide ascorbique

La courbe montre que les extraits de la sauge et la rue ont exercé un pouvoir réducteur important en fonction de la dose, à une concentration de 0,4 mg/ml, la sauge touche une densité optique de $(0,711 \pm 0,01 \text{ mg/ml})$ et la Rue de $(0.149 \pm 0,005 \text{ mg/ml})$ et celle de l'acide ascorbique de $(2,382 \pm 0,0172 \text{ mg/ml})$.

L'extrait méthanolique de la rue a démontré un effet réducteur qui dépend de la concentration (Kataki, Kakoti et al. 2014), ses feuilles ont été la partie avec la meilleure activité antioxydante, une absorbance de 0.93 à une concentration de 4 mg/ml a été soulignée par Diwan, Shinde et al. (2012).

3.1.3 Test de l'activité antioxydante totale par le phosphomolybdate d'ammonium des extraits étudiées

La méthode du phosphomolybdate permet la détection de l'activité totale antioxydante par l'apparition de la couleur verte, il est basé sur la réduction de Mo^{+6} à Mo^{+5} (Baig et al. 2011), le protocole suivi est de Prieto et al (1999), nos résultats sont décrits dans la figure (17).

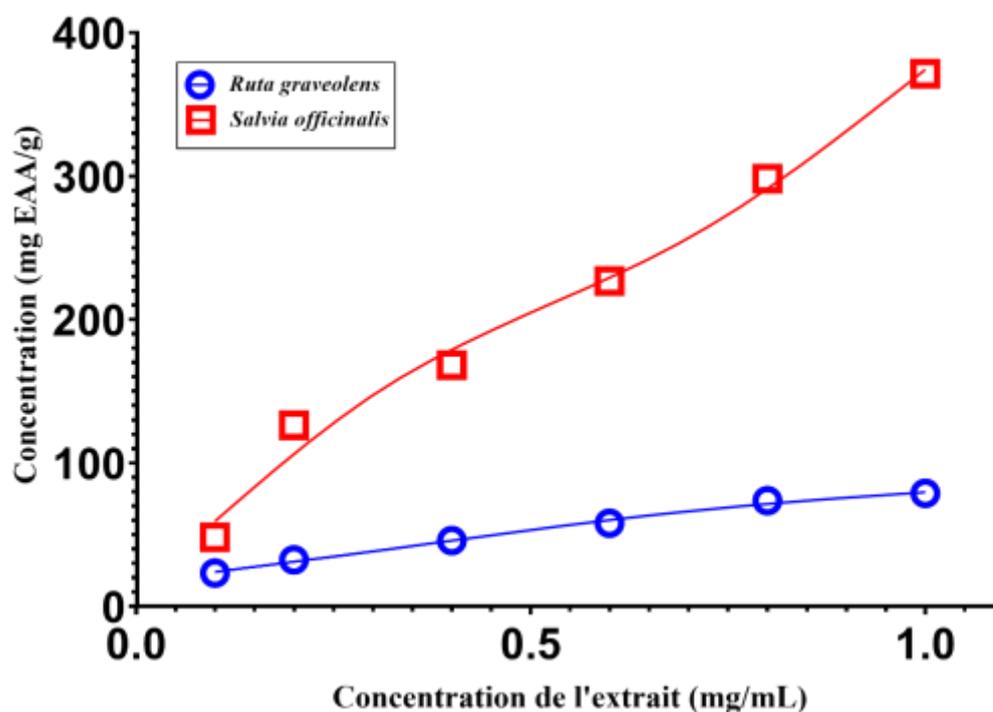


Figure 17 : Capacité antioxydante exprimée en acide ascorbique des extraits de la rue et la sauge par le test AAT.

La figure ci-dessus montre une activité antioxydante plus importante pour la sauge par rapport à celle de la rue avec une augmentation croissante en fonction de la concentration des extraits, à une concentration de 1 mg/ml, l'activité touche 378.42 (mg EAA/g) pour la sauge et 78.89 (Mg EAA/g) chez la rue.

Grzegorzcyk, Matkowski et al. (2007) ont montré que l'extrait de la sauge avec le solvant de méthanol a marqué une activité plus forte comparativement à l'acétone, néanmoins les deux solvants ont pu révéler une activité intéressante.

Selon Gurudeeban, Satyavani et al. (2012) la rue avait une concentration de 91 g EAA/ μ mol dans l'essai de TAA.

3.1.4 Discussion des résultats d'activité antioxydante *In vitro* de la sauge et la rue

Après l'observation de nos résultats et des autres recherches, on peut conclure une concordance dans la capacité antioxydante. La sauge et la rue ont présenté toutes les deux une activité intéressante, toutefois moins puissante pour la rue. L'activité est variable selon beaucoup de repères, Ceci peut être dû à la composition chimique, L'acide caféique qui offre la fonction antioxydante à la sauge (Kamatou, Viljoen et al. (2010), profite d'un deuxième groupement hydroxyle (Sroka, Cisowski et al. 2003) qui augmente son activité. Cet acide a plus d'effet antioxydant que l'acide coumarique trouvé abondamment dans la rue et pour lequel on attribue le potentiel antiradicalaire (Rice-Evans, Miller et al. 1996).

La composition et son changement lors des stades de croissance des plantes influent largement leur potentiel antioxydant, la sauge collectée dans les mois de floraison qui correspond au juin et juillet a enregistré une forte activité due à l'accumulation des acides phénoliques (Szöllösi and Varga 2002; Farhat, Chaouch-Hamada et al. 2014) ce qui peut expliquer les résultats relativement faibles de nos échantillons collectés au mois d'avril.

D'autre part la structure chimique de ces composés est essentielle pour l'activité anti radicalaire, elle est dépendante au nombre des groupements hydroxyles et l'effet stérique (Leja, Mareczek et al. 2007) qui affecte la structure chimique, ainsi que la position de la fonction hydroxyle et la substitution nucléophile, la stabilisation des radicaux phénoxyles résultantes influence ce pouvoir (Mathiesen, Malterud et al. 1997).

Des recherches attribuent le rôle d'activité antioxydante dans des traitements perspectifs des maladies, l'huile de la sauge a des propriétés anti-XOD (xanthine

oxidase) anti-AChE (acétylcholinestérase) et anti-5-LOX (5-lipoxygénase) In vitro, qui entre dans la régulation des maladies de système nerveux (El Euch, Hassine et al. 2019).

D'après le travail de Mahmoud, Ahmed et al. (2015) la rue avec ses composés phénoliques peuvent protéger les reins des dommages induit par l'injection de diethylnitrosamine à travers sa capacité antioxydante. Une autre expérience de Katakai, Kakoti et al. (2014) a attribué à l'extrait méthanoïque des feuilles de la rue des effets inhibitoires sur les enzymes de la voie arachidonique, l'acide arachidonique est libéré et oxydé suite à une blessure ou irritation par les enzymes de la voie arachidonique pour l'initiation d'une réponse anti-inflammatoire (Higgins and Lees 1984).

Une haute température a un effet positif sur l'accumulation des produits phénolique (Toor, Savage et al. 2006), l'augmentation de celle-ci peut-être dû à la réponse au stress oxydatif par la formation des espèces réactives d'oxygène, un mécanisme adapté par les plantes pour faire face aux conditions non favorables comme la salinité, la haute température et la sécheresse (Toor, Savage et al. 2006). Asami, Hong et al. (2003) ont suggéré qu'une pression pathogénique et le stress abiotique et biotique pendant une plantation organique sans l'usage de pesticides peut augmenter le contenu de polyphénols. Le type de solvant utilisé dans l'extraction et la technique elle-même sont des variables très importants sur les molécules bioactifs obtenues (Vieira, Ferreira et al. 2020).

3.2 Tests microbiologiques

3.2.1 Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue

la propriété antibactérienne de l'extrait hydro alcoolique de *salvia officinalis* L. et *ruta graveolens* L. a été évalué vis-à-vis des souches bactériennes gram positifs et gram négatifs qui sont : *Escherichia coli* , *Bacillus cereus* , *salmonella thyphimurium* , *staphylococcus aureus*, *klebsiella pneumoniae*, *pseudomonas aeruginosa*, *listeria innocua*, *enterococcus faecalis* par la méthode de diffusion sur gélose, l'estimation de cette activité a été mesurée par l'évaluation des zones d'inhibition (cm).

3.2.1.1 Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue

À partir des diamètres des zones d'inhibition qui figurent dans le tableau suivant (**tableau 08**) on a pu se renseigner sur l'effet des extraits organiques.

Tableau 08 : les zones d'inhibitions (cm) des extraits des deux plantes sur les bactéries gram positifs et gram négatifs

Gram	Les souches bactériennes	Diamètre de zones d'inhibition (cm)	
		<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>Ruta graveolens</i> L.
Gram négatif (-)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	2,6	2,1
	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC49542)	2,74	-
	<i>Klebseilla pneumoniae</i> (ATCC 700603)	2,8	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	-	-
Gram positif (+)	<i>Listeria innocua</i> (CLIP 74915)	4,7	-
	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	-	-

(-) : indique une absence d'inhibition (Absence de l'activité antibactérienne)

La sauge a montré une activité antibactérienne plus importante que la rue, elle a inhibé la plupart des souches utilisées, pendant que la rue a inhibé uniquement l'espèce *Escherichia coli* avec aucune inhibition sur les autres souches.

3.2.1.2 Résultats des Bactéries à Gram négatif :

L'espèce *Escherichia coli* a été sensible aux deux extraits des deux plantes la sauge et la rue, par contre *Enterococcus faecalis* et *Klebseilla pneumoniae* ont été seulement sensibles à l'extrait de la sauge.

3.2.1.3 Résultats des Bactéries à Gram positif

Les souches à gram négatif *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ont été résistantes aux deux extraits, alors que la sauge a inhibé une zone de 2.5 cm chez *Listeria innocua*.

3.2.1.4 Discussion des résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la sauge et de la rue

L'activité antibactérienne de la grande sauge a été documentée dans plusieurs recherches scientifiques a l'occurrence celle de (Mitić-Ćulafić, Vuković-Gačić et al.

2005; Abdelkader, AHCEN et al. 2014), cette activité implique son huile essentielle et l'extrait éthanolique (Ghorbani and Esmaeilzadeh 2017), validant ses propriétés et son utilisation dans le traitement des inflammations de la bouche et comme une bonne alternative aux antibiotiques et pour la conservation des aliments (Hamidpour, Hamidpour et al. 2014).

La rue de jardin de sa part a figuré dans beaucoup de travaux qui invoquent son activité antibactérienne (Al-Shuneigat, Al-Tarawneh et al. 2015; Salman, Venkatesh et al. 2018).

Ces travaux attestent nos résultats bien qu'ils soient légèrement différents en fonction des souches, le solvant utilisé et sa concentration.

Suivant la méthode la plus utilisée pour mettre en évidence cette activité, la diffusion sur disque qui permet de désigner la zone d'inhibition, les six souches bactériennes ont été mises en expérimentation utilisant l'éthanol comme solvant.

On a pu constater que toutes les souches à l'exception de *S. aureus* et *B. subtilis*, ont été sensibles à l'extrait éthanolique de la sauge.

Le travail de Bozin, Mimica-Dukic et al. (2007), a indiqué une forte activité antibactérienne pour les souches gram positif et gram négatif traitées par l'extrait hydro-alcoolique et l'huile essentielle de la sauge.

D'après notre expérience sur l'efficacité antibactérienne de la rue, uniquement l'espèce *Escherichia coli* a été inhibée, le reste des souches ont tous présenté un résultat négatif, bien que Amabye (2015) a cité une efficacité sur l'espèce *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.

Les méthodes d'extraction, la concentration et le solvant jouent un rôle dans l'activité antibactérienne (Khalil and Li 2011; Amabye 2015). Avec une dilution de 10^7 mg/ml de l'extrait de la rue analysé a inhibé une zone de 2.1 cm, pendant que Amabye (2015) a enregistré une zone de 1.1 cm chez *E. coli* avec une dilution de 10^{10} g/ml.

L'utilisation du solvant éthanolique peut être la cause de nos résultats moins intéressants, identiquement à ceux de Jalali Moghadam, Honarmand et al. (2012) et Guarrera (1999) où aucun effet antibactérien a été signalé. D'après Amabye (2015), le méthanol et le chloroforme ont affiché une meilleure activité que l'éthanol à des basses concentrations, il s'est révélé que le chloroforme qu'il a analysé contient plus de métabolites secondaires censément être l'actif principal de la capacité antibactérienne.

La différence des résultats peut être reliée à la complexité des constituants des plantes, à cause de la variation climatique, le temps de récolte, l'altitude et le sol (Maksimović, Vidic et al. 2007; Khalil and Li 2011), c'est la synergie de leurs composés qui leur confèrent à la capacité antibactérienne (Mitić-Ćulafić, Vuković-Gačić et al. 2005).

L'effet des plantes médicinales contre ces espèces microbiennes se trouve plus prééminent chez les gram positifs que les gram négatifs, comme il a été établi dans les travaux de Al-Shuneigat, Al-Tarawneh et al. (2015) et Palombo and Semple (2001), l'extrait organique ou l'huile essentiel pénètrent à travers la membrane ou ils s'accumulent causant une fuite des composés physiologiques et lui induisant des dommages et l'inhibition d'enzymes et protéines (Marino, Bersani et al. 2001).

La membrane des bactéries gram négatif est dotée d'une couche en peptidoglycanes liée à une couche externe difficilement perméable par les particules hydrophobiques tels les huiles essentielles, présentant une barrière limitant l'entrée sauf aux petites particules hydrophiles, ce qui explique les résultats trouvés dans la littérature concernant l'efficacité sur les bactéries à gram positifs (Cowan 1999; Kudi, Umoh et al. 1999).

3.2.2 Evaluation de l'activité antifongique des extraits de la sauge et de la rue

Le Protocole de Bhutia, Zhimo et al. (2016) a été suivi pour la mise en évidence de cette activité, les champignons *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *penicillium sp* et *fusarium verticillioides*, n'ont présenté aucuns résultats après plus de cinq jours.

3.2.2.1 Discussion des résultats de l'activité antifongique

Les plantes médicinales contiennent des métabolites secondaires ayant une capacité fongicide et fongistatique, pour combattre la recrudescence de la résistance des infections fongique (Rashidi, Mousavi et al. 2012).

Dans notre expérimentation l'éthanol a été le solvant choisi pour l'extraction, l'extrait éthanolique avait des résultats positifs et d'autres négatifs selon des recherches scientifiques (Amabye 2015),

Les feuilles de la sauge extraite dans de 90 % d'éthanol ont perturbé significativement la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* (Farcasanu and Oprea 2006)

les extraits méthanoliques, éthanolique, butyle et éthyle de la rue ont tous démontré une activité inhibitoire sur l'organisme *M.oryzae*, bien que la fraction éthanolique a été la fraction la plus faible en fucoumarines (Arruda, Rodrigues et al. 2017).

Alors même que nos résultats sont négatifs, la sauge et la rue avaient des recours évidents dans plusieurs revus scientifiques.

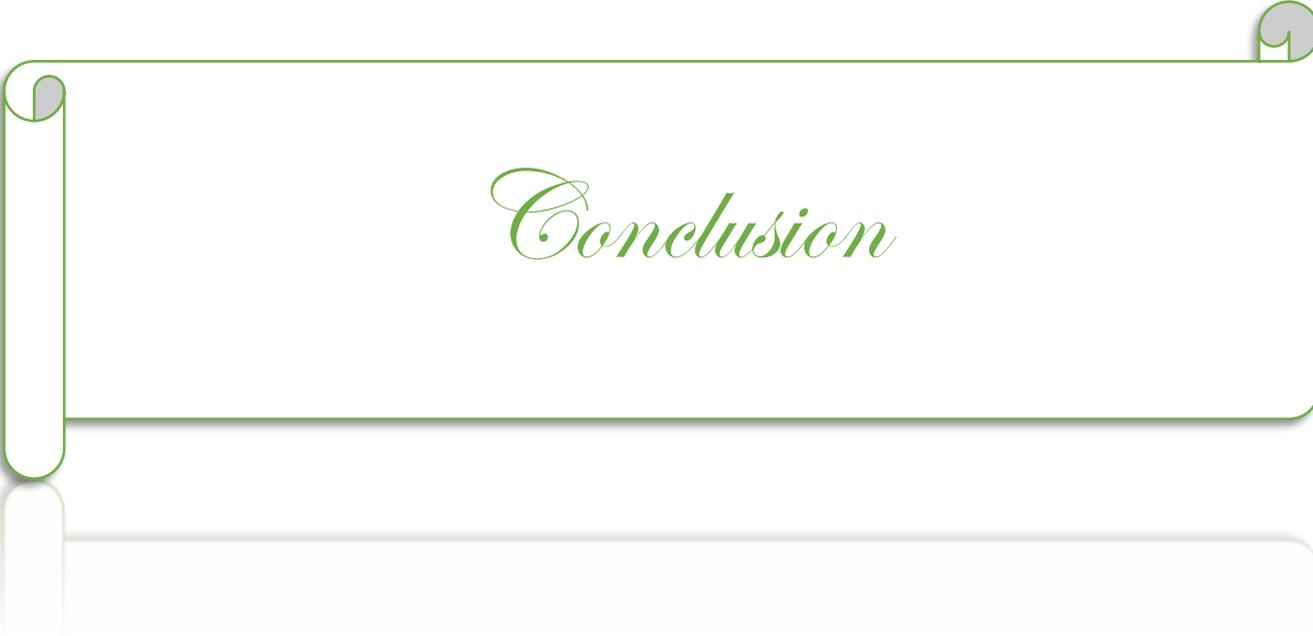
L'huile essentielle de la rue a plus d'effet inhibitoire par rapport à d'autres espèces de la famille rutacée sur les espèces : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum* *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternaria*. (Haddouchi, Chaouche et al. 2013), Les coumarines et les alcaloïdes trouvés chez les extraits de la rue ont des pouvoirs mutagènes contre les champignons (Roelandts 1984).

La sauge a une activité antifongique sur *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, et *Aspergillus flavus* selon Rashidi, Mousavi et al. (2012).

Ces résultats peuvent être dus à plusieurs variables :

- ✓ La quantité des composés varie selon le changement climatique, la période de la collecte, les conditions de croissance, et l'emplacement dans la plante, certains composés se répartissent dans différentes parties pendant différentes périodes de croissance et de saisons (Webster, Taschereau et al. 2008).
- ✓ Le processus d'extraction et le solvant utilisé.(Evans 1996) une différence est observée entre les solvants organiques du méthanol, éthanol, chloroforme et pétrole (Satish, S., Raghavendra, et al.2009), les solvants organiques offrent plus de composés polarisés contrairement à l'eau avec moins de composés polaires (Evans 1996).
- ✓ La non-spécificité de l'extraction qui aboutit à un extrait brut renfermant les formes active et non active, décroissant par conséquent la manifestation de l'activité antifongique (Webster, Taschereau et al. 2008).

- ✓ Une longue durée de stockage influe la synergie entre des composés actifs et par conséquent le potentiel anti fongique de celles-ci (Filipowicz, Kamiński et al. 2003).



Conclusion

Conclusion

Les bénéfices attribués aux plantes médicinales dans les traitements traditionnels datent de longtemps, elles sont actuellement assujetties à des recherches approfondies pour l'identification des bioactifs pharmacologiques et l'établissement d'un lien concret pour leurs effets thérapeutiques.

Dans ce travail et dans l'ordre de la valorisation des plantes algériennes l'étude a été menée sur la sauge officinale et la rue du jardin, pour mettre en évidence leurs activités biologiques surnommées, les deux plantes ont été cultivées dans les régions de Bouira en Algérie.

Dans un premier lieu l'extraction de leurs métabolites secondaires depuis les feuilles a été faite à l'aide d'un solvant eau-éthanol 64% par la technique d'extraction assistée aux ultrasons, les extraits ont été exploités pour l'étude des activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été déterminée par trois tests ABTS, PARF et AAT. Les résultats de ces tests ont révélé une capacité antioxydante variable entre les extraits éthanoliques des deux plantes, la sauge a montré une activité antioxydante plus importante que la rue, elle a affiché un IC_{50} de $(0.1368 \pm 0,0036 \text{ mg/ml})$ suivi par la rue avec un IC_{50} de $(0.9879 \pm 0,007 \text{ mg/ml})$,

L'activité antibactérienne a été estimée par la méthode de diffusion sur gélose par puits. La sauge a inhibé toutes les souches avec des zones d'inhibition qui allaient entre 2,6 à 4,7 cm, à l'exception des souches à Gram négatif *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereu*, la rue a inhibé l'espèce *Escherichia coli* seulement, ceci peut être dû à l'extrait de la rue qui pouvait ne pas contenir une quantité suffisante d'actifs responsables dans l'effet inhibitoire ou bien l'absence des celles-ci.

L'étude sur l'activité antifongique n'a pas montré des résultats positifs, cette expérience reste instructive sur l'effet antifongique de la sauge et la rue pour d'autres études éventuelles.

En perspectives il est intéressant d'apporter des informations approfondies sur les activités de la sauge et la rue avant de s'en servir dans la médecine actuelle.

D'autres aspects intéressants à étudier sont :

- ✓ Utilisation d'autres solvants d'extraction.

- ✓ Exploitation d'autres parties des plantes à des périodes de croissance différentes.
- ✓ Mener des études *In vivo* et *In vitro* sur leur toxicité.
- ✓ Identification et l'isolement de leurs métabolites secondaires.

A decorative horizontal scroll graphic with a green border and grey scroll tabs at the top and bottom corners. The text is centered within the scroll.

Références bibliographiques

A faint, light green reflection of the scroll graphic is visible below the main graphic.

Références

- Abdelkader, M., B. Ahcen, et al. (2014).** "Phytochemical study and biological activity of sage (*Salvia officinalis* L.)." **8(11):** 1231-1235.
- Ajila, C., S. Brar, et al. (2011).** "Extraction and analysis of polyphenols: recent trends." *Critical reviews in biotechnology* **31(3):** 227-249.
- Al-Shuneigat, J. M., I. N. Al-Tarawneh, et al. (2015).** "The chemical composition and the antibacterial properties of *Ruta graveolens* L. essential oil grown in Northern Jordan." **8(2):** 139-143.
- Amabye, T. G. (2015).** "Phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of *Ruta graveolens* L.-A medicinal plant grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia."
- Amabye, T. G. (2015).** "Phytochemical Screening and Evaluation of Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. - A Medicinal Plant Grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia." *Natural Products Chemistry & Research* **03(06).**
- ARRUDA, R., M. d. M. RODRIGUES, et al. (2017).** "Plant extract of *Ruta graveolens* standardized in furanocoumarins: resistance elicitor in rice plants against *Magnaporthe oryzae*."
- Aruoma, O. I. (1998).** "Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease." *Journal of the American oil chemists' society* **75(2):** 199-212.
- Asami, D. K., Y.-J. Hong, et al. (2003).** "Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices." **51(5):** 1237-1241.
- Bayart, M. (2019).** "Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin."
- Bayoud, B., S. Djilani, et al. (2007).** "Antibacterial activity of ethanol extracts and total alkaloids of *Datura stramonium* and *Ruta graveolens*." **1(1):** 78-81.
- Benzie, I. F. and J. J. J. A. b. Strain (1996).** "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay." **239(1):** 70-76.
- Beta, T., S. Nam, et al. (2005).** "Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions." **82(4):** 390-393.
- Bhutia, D. D., Y. Zhimo, et al. (2016).** "Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum musae*, the post harvest anthracnose pathogen of banana cv. Martaman." *Nutrition & Food Science* **46(1):** 2-15.
- Boizot, N. and J.-P. Charpentier (2006).** "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." *Cahier des Techniques de l'INRA:* 79-82.
- Boligon, A. A., M. M. Machado, et al. (2014).** "Technical evaluation of antioxidant activity." *Med chem* **4(7):** 517-522.

- Bozin, B., N. Mimica-Dukic, et al. (2007).** "Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils." **55**(19): 7879-7885.
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995).** "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." **28**(1): 25-30.
- Cazes, J. (2001).** Encyclopedia of Chromatography (Print), CRC press.
- Chemat, F., N. Rombaut, et al. (2017).** "Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review." Ultrasonics sonochemistry **34**: 540-560.
- Chevallier, A. (1997).** Encyclopédie des plantes médicinales, Sélection du Reader's Digest (Canada).
- Cos, P., L. Ying, et al. (1998).** "Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers." **61**(1): 71-76.
- Coste, E. (2015).** Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae): caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique.
- Cowan, M. M. J. C. m. r. (1999).** "Plant products as antimicrobial agents." **12**(4): 564-582.
- Cox, S., C. Mann, et al. (2001).** "Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*." **91**(3): 492-497.
- Dewick, P. M. (1995).** "The biosynthesis of shikimate metabolites." Natural product reports **12**(2): 101-133.
- Di Pasqua, R., G. Betts, et al. (2007).** "Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils." **55**(12): 4863-4870.
- Diwan, R., A. Shinde, et al. (2012).** "Phytochemical composition and antioxidant potential of *Ruta graveolens* L. In vitro culture lines." **2012**.
- Doerper, S. (2008).** Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique, Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Doyle, M. P., F. Busta, et al. (2006).** "Antimicrobial resistance: Implications for the food system: An expert report, funded by the IFT Foundation." **5**(3): 71-137.
- Džidić, S., J. Šušković, et al. (2008).** "Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects." **46**(1).
- Eickhorst, K., V. DeLeo, et al. (2007).** "Rue the herb: *Ruta graveolens* associated phytophototoxicity." Dermatitis **18**(1): 52-55.
- El Euch, S. K., D. Hassine, et al. (2019).** "*Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities." **120**: 253-260.
- El Sayed, K., M. S. Al-Said, et al. (2000).** "New quinoline alkaloids from *Ruta chalepensis*." **63**(7): 995-997.

- Esclapez, M., J. V. García-Pérez, et al. (2011).** "Ultrasound-assisted extraction of natural products." *Food Engineering Reviews* **3**(2): 108-120.
- Evans, W. C. (1996).** Trease and Evans' pharmacognosy. London; Philadelphia, WB Saunders.
- Farcasanu, I. C. and E. J. A. U. d. B. C. Oprea, Anul XV (2006).** "Ethanol extracts of *Salvia officinalis* exhibit antifungal properties against *Saccharomyces cerevisiae* cells." **1**: 51-55.
- Farhat, M. B., R. Chaouch-Hamada, et al. (2014).** "Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time." **54**: 78-85.
- Fennouche, N., N. Boualita, et al. (2008).** Contribution a l'etude du mécanisme de biosynthèse des polyphénols chez les plantes médicinales, Université de jijel.
- Ferrazzano, G. F., I. Amato, et al. (2011).** "Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review." *Molecules* **16**(2): 1486-1507.
- Ferrazzano, G. F., I. Amato, et al. (2011).** "Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review." **16**(2): 1486-1507.
- Filipowicz, N., M. Kamiński, et al. (2003).** "Antibacterial and antifungal activity of *juniper berry* oil and its selected components." **17**(3): 227-231.
- Fischer, U. A., R. Carle, et al. (2013).** "Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and model solutions." *Food Chemistry* **138**(2-3): 1800-1809.
- Garabeth, F., D. Bouaoun, et al. (2007).** "Étude quantitative des coumarines d'une plante sauvage Prangos asperula Boissier." *Phytothérapie* **5**(5): 259-263.
- Ghannoum, M. A. and L. B. J. C. m. r. Rice (1999).** "Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance." **12**(4): 501-517.
- Ghestem, A., E. Seguin, et al. (2001).** "Le préparateur en pharmacie, dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie." *Homéopathie*. Ed. TEC et DOC.
- Ghorbani, A. and M. Esmaeilzadeh (2017).** "Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components." *J Tradit Complement Med* **7**(4): 433-440.
- Griffin, D. H. (1996).** Fungal physiology, John Wiley & Sons.
- Grzegorzcyk, I., A. Matkowski, et al. (2007).** "Antioxidant activity of extracts from In vitro cultures of *Salvia officinalis* L." **104**(2): 536-541.
- Guarrera, P. M. J. J. o. e. (1999).** "Traditional antihelminthic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy." **68**(1-3): 183-192.
- Gurudeeban, S., K. Satyavani, et al. (2012).** "Effect of antioxidant and anti-aggregating properties of micro-propagated plantlets of *Ruta graveolens*." **11**(6): 1497-1504.
- Habibou, H. H., M. Idrissa, et al. (2019).** "Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr." *European Scientific Journal ESJ* **15**(12).

- Haddouchi, F., T. M. Chaouche, et al. (2013).** "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria." **141**(1): 253-258.
- Hadj Salem, J. (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.
- Halliwell, B. (1995).** How to characterize an antioxidant: an update. Biochemical Society Symposium.
- Hamidpour, M., R. Hamidpour, et al. (2014).** "Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer." *J Tradit Complement Med* **4**(2): 82-88.
- Hammiche, V. and M. Azzouz (2013).** "Les rues: ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité." *Phytothérapie* **11**(1): 22-30.
- Hayouni, E. A., I. Chraïef, et al. (2008).** "Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat." **125**(3): 242-251.
- Hennebelle, T., S. Sahpaz, et al. (2004).** "Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif." *Phytothérapie* **2**(1): 3-6.
- Higgins, A. and P. J. E. V. J. Lees (1984).** "The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs." **16**(3): 163-175.
- Hooper, D. C. J. E. i. d. (2001).** "Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance." **7**(2): 337.
- Hubert, J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja: étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines.
- Ivanova, A., B. Mikhova, et al. (2005).** "Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*." **76**(3-4): 344-347.
- jalali Moghadam, M. A., H. Honarmand, et al. (2012).** "Study on antibacterial effect of *Ruta graveolens* extracts on pathogenic bacteria." **3**(9): 4542-4545.
- Jalsenjak, V., S. Peljnjak, et al. (1987).** "Microcapsules of sage oil: essential oils content and antimicrobial activity." **42**(6): 419-420.
- Jean, B. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.), Lavoisier.
- Kamatou, G. P., A. M. Viljoen, et al. (2010).** "Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species." **119**(2): 684-688.
- Kataki, M. S., B. B. Kakoti, et al. (2014).** "Garden rue inhibits the arachidonic acid pathway, scavenges free radicals, and elevates FRAP: role in inflammation." **12**(3): 172-179.
- Khalil, R. and Z.-G. J. A. J. o. B. Li (2011).** "Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria." **10**(42): 8397-8402.

- Khan, A., N. ur Rehman, et al. (2011).** "Antidiarrheal and antispasmodic activities of *Salvia officinalis* are mediated through activation of K⁺ channels." **6**(2): 111-116.
- Khayate-Nouri, M. H., A. Namvaran-Abbasabad, et al. (2013).** "Salvia officinalis and cisplatin effects on pentylenetetrazole induced seizure threshold." **15**(11): 1-3.
- Korkina, L. G. and I. B. J. A. i. p. Afanas' Ev (1996).** "Antioxidant and chelating properties of flavonoids." **38**: 151-163.
- Koudou, P. J. (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines, Ph. D. Dissertation, Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso.
- Kudi, A., J. Umoh, et al. (1999).** "Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity." **67**(2): 225-228.
- Lamarti, A., A. Badoc, et al. (1994).** "BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (II-La chaîne isoprénique." Bull. Soc. Pharm. Bordeaux **133**: 79-99.
- Laraba, M., A. Serrat, et al. (2016).** "Etude In vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale." Mémoire de master en toxicologie et santé, Université des Frères Mentouri Constantine. P: 40-41.
- Leja, M., A. Mareczek, et al. (2007).** "Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species." **100**(1): 237-240.
- Li, X.-Z. and H. J. D. Nikaido (2009).** "Efflux-mediated drug resistance in bacteria." **69**(12): 1555-1623.
- Liao, K.-l., M.-c. J. J. o. a. Yin, et al. (2000).** "Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient." **48**(6): 2266-2270.
- Lima, C. F., P. B. Andrade, et al. (2005).** "The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats." **97**(2): 383-389.
- Lu, Y. and L. Y. J. P. Foo (1999).** "Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*." **51**(1): 91-94.
- Madi, A. J. R. M., Mentouri Constantine University, Constantine (2010).** "Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques."
- Mahmoud, A. M., R. R. Ahmed, et al. (2015).** "Ruta graveolens and its active constituent rutin protect against diethylnitrosamine-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress." **5**(10): 016-021.
- Maksimović, M., D. Vidic, et al. (2007).** "Effect of the environmental conditions on essential oil profile in two Dinaric *Salvia* species: *S. brachyodon* Vandas and *S. officinalis* L." **35**(8): 473-478.
- Manallah, A. (2018).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *olea europaea*L.
- Mansourabadi, A. H., H. M. Sadeghi, et al. (2016).** "Anti-inflammatory and analgesic properties of *salvigenin*, *Salvia officinalis* flavonoid extracted." **2**(1): 31-41.

- Marino, M., C. Bersani, et al. (2001).** "Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae." **67**(3): 187-195.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (1996).** "The uses of ultrasound in food technology." *Ultrasonics sonochemistry* **3**(3): S253-S260.
- Mathiesen, L., K. E. Malterud, et al. (1997).** "Hydrogen bond formation as basis for radical scavenging activity: a structure–activity study of C-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale* and structurally related acetophenones." **22**(1-2): 307-311.
- Mc Clanahan, C. J. B. (2009).** "Antifungals." **4**(10).
- McCord, J. M. J. T. A. j. o. m. (2000).** "The evolution of free radicals and oxidative stress." **108**(8): 652-659.
- Meddah, D. and H. Deloum (2007).** LES TERPENES, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.
- Milesi, S., B. Massot, et al. (2001).** "*Ruta graveolens* L.: a promising species for the production of furanocoumarins." **161**(1): 189-199.
- Mitić-Ćulafić, D., B. S. Vuković-Gačić, et al. (2005).** "Comparative study on the antibacterial activity of volatiles from sage (*Salvia officinalis* L.)." **57**(3): 173-178.
- Morel, J.-M. (2008).** *Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain*, Grancher.
- Nagavani, V., Y. Madhavi, et al. (2010).** "Free radical scavenging activity and qualitative analysis of polyphenols by RP-HPLC in the flowers of *Couroupita guianensis* Abul." *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry* **9**(9).
- Oussalah, M., S. Caillet, et al. (2007).** "Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*." **18**(5): 414-420.
- Oyaizu, M. J. J. J. N. (1986).** "Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine." **44**: 307-315.
- Palombo, E. A. and S. J. J. J. o. e. Semple (2001).** "Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants." **77**(2-3): 151-157.
- Pandey, P., A. Mehta, et al. (2011).** "Antioxidant property, total Phenolic content and inhibition of α -amylase activity of *Ruta graveolens* L. leaves extract." **4**: 1735-1737.
- Panja, P. (2018).** "Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials." *Current Opinion in Food Science* **23**: 173-182.
- Park, S.-H., Y.-B. Sim, et al. (2010).** "Antinociception effect and mechanism of *Ruta graveolens* L. in mice." **53**(5): 593-597.
- Paulini, H. and O. J. M. Schimmer (1989).** "Mutagenicity testing of rutacridone epoxide and rutacridone, alkaloids in *Ruta graveolens* L., using the *Salmonella*/microsome assay." **4**(1): 45-50.

- Penchev, P., G. Angelov, et al. (2010).** "Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)." *Revue de génie industriel* **5**: 115-123.
- Picó, Y. (2013).** "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **43**: 84-99.
- Pinelo, M., P. Del Fabbro, et al. (2005).** "Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts." *Food Chemistry* **92**(1): 109-117.
- Pollio, A., A. De Natale, et al. (2008).** "Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta spp.*(rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices." **116**(3): 469-482.
- Preethi, K., G. Kuttan, et al. (2006).** "Anti-tumour activity of *Ruta graveolens* extract." **7**(3): 439.
- Prieto, P., M. Pineda, et al. (1999).** "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E." *Analytical biochemistry* **269**(2): 337-341.
- Prigent, G. (2016).** Étude de la sensibilité aux échinocandines de *Candida* SPP. chez des transplantés hépatiques à l'hôpital Henri Mondor, Éditeur inconnu.
- Privitera, G., E. Napoli, et al. (2014).** "In vitro anti-proliferative effect of *Salvia officinalis* essential oil and its three main components on human lung cancer cells." **2**(10): 1159-1168.
- Radulescu, V., S. Chiliment, et al. (2004).** "Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*." **1027**(1-2): 121-126.
- Rami, K. and L. Zheng Guo (2011).** "Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria." *African Journal of Biotechnology* **10**(42): 8397-8402.
- Rashidi, A., B. Mousavi, et al. (2012).** "Evaluation of antifungal effect of *Lavandula officinalis*, *Salvia officinalis* L., *Sumac*, *Glycyrrhiza glabra*, and *Althaea officinalis* extracts on *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, and *Aspergillus flavus* species." **6**(2): 309-313.
- Ratheesh, M. and A. J. A. j. o. B. Helen (2007).** "Anti-inflammatory activity of *Ruta graveolens* Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats." **6**(10).
- Re, R., N. Pellegrini, et al. (1999).** "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* **26**(9-10): 1231-1237.
- Re, R., N. Pellegrini, et al. (1999).** "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." **26**(9-10): 1231-1237.
- Rebstein, M. and C. Soerensen (2011).** *Chimie avancée: préparation au bac et à la maturité*, PPUR Presses polytechniques.
- Rice-Evans, C. and N. J. Miller (1994).** "[241 Total antioxidant status in plasma and body fluids." *Methods in enzymology* **234**: 279-293.

- Rice-Evans, C. A., N. J. Miller, et al. (1996).** "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids." **20**(7): 933-956.
- Roelandts, R. J. A. o. d. (1984).** "Mutagenicity and carcinogenicity of methoxsalen plus UV-A." **120**(5): 662-669.
- Rolland, Y. (2004).** "Antioxydants naturels végétaux." Oléagineux, Corps gras, Lipides **11**(6): 419-424.
- Roux, D. and O. Catier (2007).** "Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3e éd." Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.
- Saieed, P., R. M. Reza, et al. (2006).** "Inhibitory effects of *Ruta graveolens* L. extract on guinea pig liver aldehyde oxidase." **54**(1): 9-13.
- Salman, H. A., S. Venkatesh, et al. (2018).** "Determination of antibacterial activity and metabolite profile of *Ruta graveolens* against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*." J Lab Physicians **10**(3): 320-325.
- Sivaraj, C., R. Nikhishaa Sree, et al. (2018).** "Antioxidant activities and GC-MS analysis of essential oil extracted from *Salvia officinalis* L." **7**(2): 1440-1444.
- Springman, A. C., D. W. Lacher, et al. (2009).** "Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes." **191**(17): 5419-5427.
- Sroka, Z., W. J. F. Cisowski, et al. (2003).** "Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids." **41**(6): 753-758.
- Stöckigt, J., Y. Sheludko, et al. (2002).** "High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups." Journal of chromatography A **967**(1): 85-113.
- Szöllösi, R. and I. S. I. J. A. B. S. Varga (2002).** "Total antioxidant power in some species of Labiatae: Adaptation of FRAP method." **46**(3-4): 125-127.
- Teuscher, E., R. Anton, et al. (2005).** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc.
- Thomas, C., M. M. Mackey, et al. (2009).** "Hydroxyl radical is produced via the Fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress: implications for diseases associated with iron accumulation." **14**(3): 102-108.
- Tomasz Kubrak, T., R. Rafał Podgórski, et al. (2017).** "Natural and synthetic coumarins and their pharmacological activity." European journal of clinical and experimental medicine(2): 169-175.
- Toor, R. K., G. P. Savage, et al. (2006).** "Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes." **19**(1): 20-27.
- Tsimogiannis, D. I. and V. Oreopoulou (2006).** "The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members." Innovative Food Science & Emerging Technologies **7**(1-2): 140-146.
- Turgis, M., J. Han, et al. (2009).** "Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhi*." **20**(12): 1073-1079.

- Veličković, D. T., N. V. Randelović, et al. (2003).** "Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L." **68**(1): 17-24.
- Vermerris, W. and R. Nicholson (2007).** Phenolic compound biochemistry, Springer Science & Business Media.
- Vieira, S. F., H. Ferreira, et al. (2020).** "Antioxidant and anti-inflammatory activities of cytocompatible *salvia officinalis* extracts: a comparison between traditional and soxhlet extraction." **9**(11): 1157.
- Walch, S. G., L. Ngaba Tinzoh, et al. (2011).** "Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of *Salvia officinalis* L.(sage tea)." **2**: 79.
- Walker, G. M., N. A. J. F. b. White, et al. (2017).** "Introduction to fungal physiology." 1-35.
- Wang, L. and C. L. Weller (2006).** "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants." *Trends in Food Science & Technology* **17**(6): 300-312.
- Webster, D., P. Taschereau, et al. (2008).** "Antifungal activity of medicinal plant extracts; preliminary screening studies." **115**(1): 140-146.
- Wen, C., J. Zhang, et al. (2018).** "Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops - A review." *Ultrason Sonochem* **48**: 538-549.
- Wong, S. P., L. P. Leong, et al. (2006).** "Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants." **99**(4): 775-783.
- Xavier, C. P., C. F. Lima, et al. (2009).** "*Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, and rosmarinic acid induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway." **61**(4): 564-571.
- Yaacob, K. B., C. M. Abdullah, et al. (1989).** "Essential oil of *Ruta graveolens* L." **1**(5): 203-207.
- Yadav, S. and U. J. I. J. F. A. L. S. Mukundan (2011).** "In vitro antioxidant properties of *Salvia coccinea* Buc'hoz ex etl. and *Salvia officinalis* L." **1**: 232-238.
- Yilmaz, Y. and R. T. Toledo (2006).** "Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols." *Journal of Food Composition and Analysis* **19**(1): 41-48.
- Zeinali, N., M. Altarawneh, et al. (2016).** "New mechanistic insights: Why do plants produce isoprene?" *Acs Omega* **1**(2): 220-225.

Annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de cultures

➤ **Muller-Hinton :**

- Infusion de viande de boeuf déshydraté.....	300g
- Hydrolysate de caséine.....	17.5g
- Amidon	1.5g
- Agar-agar.....	17g
- Eau distillée.....	1l

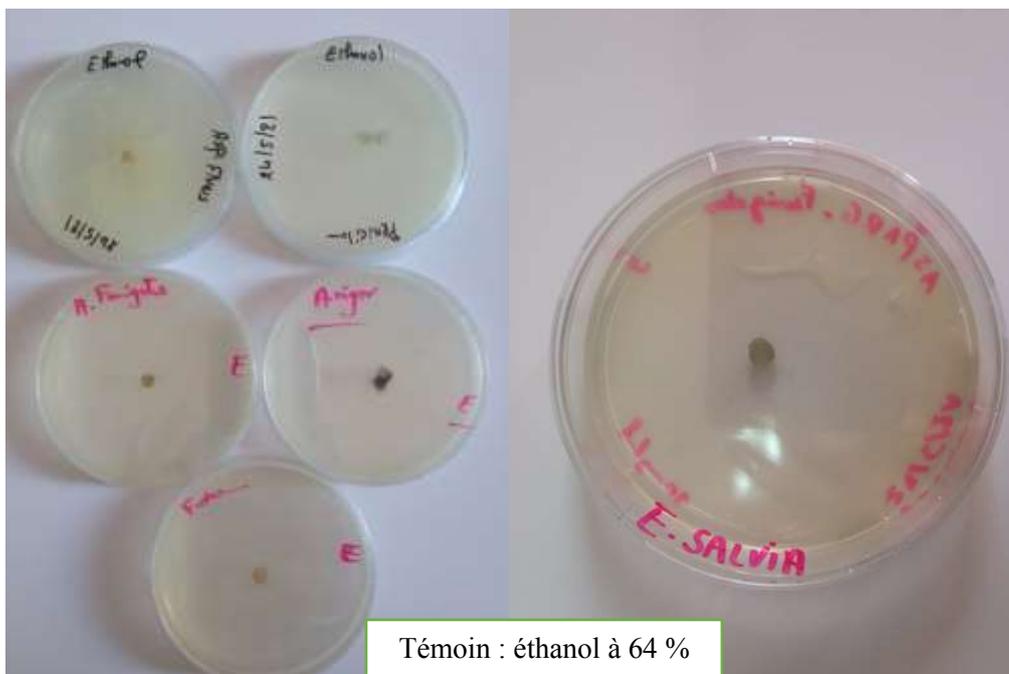
➤ **Gélose nutritive**

- Extrait de boeuf.....	1g
- Extrait de levure.....	2g
- Peptone.....	5g
- chlorure de sodium.....	5g

➤ **PDA**

- Pomme de terre	200g
- Agar-agar.....	17g
- Glucose.....	20g
- Antibiotique.....	1 gélule

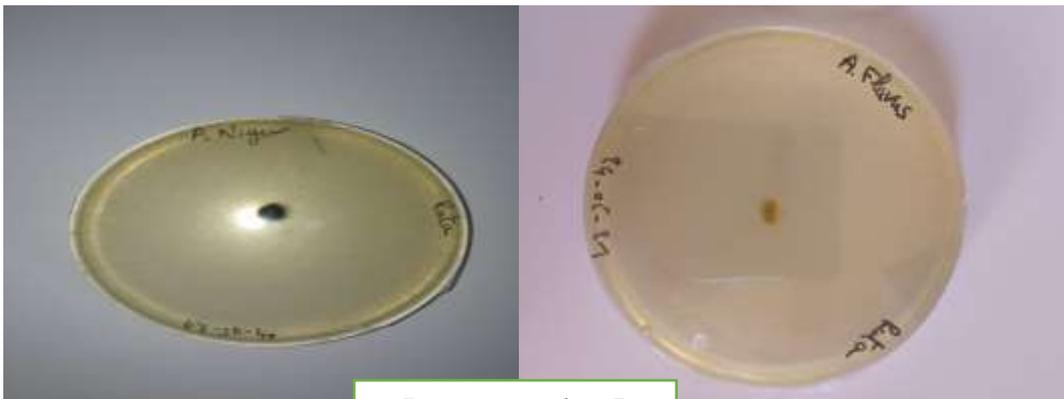
Annexe 03 : résultats de l'activité antifongiques des extraits éthanoliques de *salvia officinalis* L et *ruta graveolens* L.





Salvia officinalis L





Ruta graveolens L



Résumé

Cette étude a été portée sur l'évaluation des activités biologiques de deux plantes médicinales *Salvia officinalis* L. et *Ruta graveolens* L., leurs composés bioactifs ont été extraits par la méthode de l'extraction assistée par ultrasons. L'activité antioxydante *in vitro* a été estimée par le test au radical d'ABTS^{•+}, du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium et avec l'activité antioxydante totale au phosphomolybdate, d'après ces tests l'extrait de la sauge avait une activité antioxydante plus importante que l'extrait de la rue, le pourcentage d'inhibition de l'extrait de la sauge a été $0.1368 \pm 0,0036$ mg/ml et $0.9879 \pm 0,007$ mg/ml pour l'extrait de la rue. L'activité antibactérienne a été testée sur 6 souches bactériennes dont 3 à Gram positif et 3 à Gram négatif, la zone d'inhibition la plus importante appartient à l'extrait de la sauge face à *Listeria innocua* avec un diamètre d'inhibition de 4,7 cm, l'extrait de la rue n'a inhibé que *Escherichia coli* avec un diamètre de 2,1 cm, quant à l'activité antifongique, les extraits n'ont montré aucuns résultats pour les deux espèces.

Les mots clés

Ruta graveolens L. ; *Salvia officinalis* L. ; Plantes médicinales ; polyphénols ; activité antioxydante ; activités antimicrobiennes ; radicaux libres.

المخلص

أجريت هذه الدراسة حول تقييم الأنشطة البيولوجية للنباتين *Salvia officinalis* L. و *Ruta graveolens* L. اللتان تم استخلاصهما بطريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية، وتم تقدير النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة ثلاثة اختبارات هم ABTS، PARF، وAAT، حيث سجلت نبتة الميرمية نشاطا اكبر بالمقارنة مع الفيجن في جميع هاته الاختبارات. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على 6 سلالات بكتيرية بما في ذلك 3 موجبة الغرام و 3 سلبية الغرام و قدر نطاق التثبيط الاعلى للميرمية ضد *Listeria innocua* اما بالنسبة للفيجن فانه كان ضد *Escherichia coli* و في الاخير فإن النشاط المضاد للفطريات لم يظهر اي نتيجة لدى كلتا النباتين.

الكلمات المفتاحية

Salvia officinalis L. ; *Ruta graveolens* L. ; نباتات عطرية ; بوليفينولات ; النشاط المضاد للأوكسدة ; النشاط المضاد للميكروبات ; الشوارد الحرة.