



DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°...../ SNV/2026

THÈSE

Présentée par

SELLOUM Mounir

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIQUE

Spécialité: MICROBIOLOGIE

THÈME

**Activités antimicrobienne et antioxydante des extraits de
Ruta chalepensis L.**

Soutenue publiquement le : 17/02/ 2026

DEVANT LE JURY

Président	Harzallah Daoud	Pr. U. Setif 1 FA
Directeur	Belhattab Rachid	Pr. U. Sétif 1 FA
Examineur	Benabdallah Hassiba	Pr. U. Sétif 1 FA
Examineur	Hendel Noui	Pr. Univ. M'sila
Examineur	Dahia Mustapha	Pr. Univ. Djelfa
Examineur	Ghadbane Mouloud	Pr. Univ. M'sila

REMERCIEMENTS

*Avant tout, je remercie **Allah**, le tout puissant, de m'avoir donné la volonté, la force et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.*

*J'exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon directeur de thèse, **Pr. Belhattab Rachid** qui m'a orienté et dirigé au long de toutes mes années de recherche. Sa disponibilité, ses précieux conseils, sa compétence et sa compréhension m'ont permis de mener à terme ce travail.*

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :

***Pr. Harzallah Daoud** de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.
Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.*

***Pr. Benabdallah Hassiba, Pr. Hendel Noui , Pr. Dahia Mustapha et Pr. Ghadbane Mouloud** pour avoir accepté d'examiner ce travail.
Soyez assuré de ma profonde gratitude.*

*Merci aux membres du laboratoire de microbiologie du CHU de Sétif ;
laboratoire de biologie des systèmes microbiens (LBSM) école normale supérieure de kouba*

*Mes remerciements sont aussi adressés au **Pr Thamer Cheriet** qui m'a aidé à réaliser l'analyse chimique des extraits, **Pr Hendel Noui**, **Dr Kherbach Abdallah** , **Dr Harrar Nacer**, **Pr Aouf Abdelhakim**, **Dr Benchikh Omar**, **Pr Khenchouche Abdelhalim**, **Zerroug Mohamed Mihoub**, **Dr Arieche Mounira**, **Dr Kada Seoussen**.*

*Merci aussi aux collègues, **Dr Sarri Djamel**, **Pr Sarri Madani**, **Dr Guettouache Mourad**, **Dr Mhameddi Allaa**, **Dr Djellid Youcef**, **Dr Mokhnache Mohamed** , **Pr Bounar Rabah**, **Serti Smail**, **Seghiri Kamel** pour leurs aide et conseils.*

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

*C'est avec l'aide et la grâce de **Allah** que j'ai achevé ce modeste travail que*

Je dédie :

Aux âmes de mes chers parents, que Dieu leur accorde la récompense de ce travail.

À ma chère épouse qui a partagé les difficultés de la vie avec moi.

À mon fils et à mes filles, chacun par son nom que Dieu les protège.

À tous mes frères et leurs enfants

À toutes mes sœurs et leurs enfants

À mon frère Beldjarou Farouk

A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التركيبة الكيميائية، تقدير عديدات الفينول و الفلافونويدات، تقييم النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات والمضاد للأوكسدة للمستخلصات الميثانومائية لنبته *Ruta.chalepensis* مستخلص قبل الازهار (EAVF) ، أثناء الازهار (EPF) و بعد الازهار (EAPF) و ذلك من عينات تم جمعها خلال ثلاث فترات من النمو قبل الازهار، أثناء الازهار و بعد الازهار.

بين تحليل المستخلصات بطريقة HPLC-DAD-ESI/MS وجود العديد من المستقلبات الثانوية منها الكرسيتين ، القرافيولين، البركابتين، ايزوامبيراتون ،الكالبيين ،الروتامارين و البيتا كاروتان كما بينت الدراسة أن مستخلص عينات ما قبل الازهار تحتوي على أعلى كمية من المركبات الفينولية والفلافونويدات و التي قدرت بـ $84,54 \pm 1,66$ مكغ مكافئ حمض قاليك/ مغ مستخلص و $25,15 \pm 0,88$ مكغ مكافئ كرسيتين / مغ مستخلص على التوالي. أظهرت النشاطية المضادة للبكتيريا ضد سبع عزلات باستعمال تقنية الانتشار على الأقراص أن العزلات السالبة غرام و الموجبة غرام كانت حساسة للعديد من المستخلصات بدرجات متفاوتة و ذلك بأقطار تثبيط متفاوتة تراوحت بين $8,67 \pm 0,58$ و $18,00 \pm 1,00$ ملم بينما أظهر تقدير التركيز الأدنى المثبط للنمو و التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا قيما معتبرة تراوحت بين $1,95$ و $31,25$ مغ/مل بالنسبة للأول و $3,9$ و $62,5$ مغ/مل بالنسبة للثاني على الترتيب. أما فيما يخص النشاطية المضادة للفطريات بينت النتائج أن المستخلصات كانت ذات فعالية تجاه العديد من الفطريات الممرضة للنبات وكذا الملوثة للأغذية بنسب تثبيط تراوحت بين 25 % و 97 %.

من جهة أخرى، تم تقدير النشاطية المضادة للأوكسدة للمستخلصات الثلاثة باستعمال عدة تقنيات في الزجاج. بينت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص عينات بعد الازهار يمتلك قدرة ازاحية عالية مضادة لجذر DPPH ($14,18 \pm CI_{50}$) (1,02 مكغ/مل)،. كما ابدت هذه المستخلصات نسب عالية في اختبار النشاطية المضادة للأوكسدة في اختبار ابيضاض البيتاكاروتين و فعالية ارجاع جد معتبرة. كخلاصة، يمكن اعتبار *Ruta chalepensis* مصدرا واعداداً للمضادات المكروبية ومضادات الأوكسدة.

الكلمات المفاتيح : *Ruta chalepensis* ، التركيب الكيميائي، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للأوكسدة.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de la composition chimique, la teneur en composés phénoliques ainsi que les activités antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits hydrométhanoliques de *Ruta.chalepensis* (*R. chalepensis*) récolté pendant trois périodes différentes : avant (AVF), pendant (PF) et après (APF) floraison. Trois extraits hydrométhanoliques sont alors préparés. L'analyse chimique par HPLC-DAD-ESI/MS a permis d'identifier les métabolites secondaires suivants : quercétine, graveoline, bergapten, isoimperatorin, chalepin, rutamarin et β -carotène dans les trois extraits. L'extrait EAVF a présenté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de $84,54 \pm 1,66 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec et $25,15 \pm 0,88 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec respectivement. L'activité antibactérienne a été réalisée sur sept souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque (DD), la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été déterminées. Les résultats ont montré une sensibilité bactérienne importante des bactéries Gram- et Gram+ qui ont montré des $\varnothing$ (08,67 à 17,67 mm) soit en termes de CMI (01,95 et 31,25 mg/ml) et des CMB (3,9 et 62,5 mg/ml). L'activité antifongique a été évaluée sur 8 souches de champignons de contamination alimentaire et phytopathogènes, deux méthodes ont été appliquées sur milieu solide, les extraits de *R. chalepensis* ont montré un effet d'inhibition important vis-à-vis des souches testées allant de 25 % à 97% d'inhibition. L'activité antioxydante a été évaluée selon quatre méthodes. A l'issue des tests d'activité antioxydante *in vitro*, les EAVF, EPF et EAPF ont montré un effet scavenger très puissant du radical DPPH avec des valeurs de IC_{50} qui varient de $14,18 \pm 1,02$ à $30,96 \pm 1,80 \mu\text{g/ml}$; Ces extraits ont également inhibé l'oxydation du β -carotène, notamment l'EAPF avec un pourcentage d'inhibition de $49,06 \pm 0,15$, concernant la capacité antioxydante totale CAT; L'EPF a exercé la plus forte capacité antioxydante ($160,59 \pm 5,78 \mu\text{g AAE/mg}$ d'extrait sec). Aussi, les extraits ont exhibé de puissants pouvoirs réducteurs du fer avec des valeurs de $100,61 \pm 1,25$ à $139,99 \pm 2,08 \mu\text{g/ml}$. En conclusion, les résultats ont révélé que les extraits de *R. chalepensis* possèdent de fortes propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes, soulignant leur potentiel comme sources naturelles pour le développement de nouveaux agents antibactériens et antioxydants.

Mots-clés : *R. chalepensis*, composés phénoliques, HPLC-DAD-ESI/MS activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

The aim of this study is to determine the chemical composition, phenolic content, as well as the antibacterial, antifungal and antioxidant activities of hydromethanolic extracts from *R. chalepensis* collected at three different periods: before flowering (BF), during flowering (DF) and after flowering (AF). Three hydromethanolic extracts were prepared: the before flowering extract (BFE), during flowering extract (DFE) and after flowering extract (AFE). Hydromethanolic extracts analysis was conducted regarding their chemical composition by HPLC-DAD-ESI/MS method, quercetin, graveolin, bergapten, isoimperatorin, chalepin, rutamarin and β -carotene were detected. Also, total phenolics and flavonoids contents were determined. The AFE displayed the maximum polyphenol and flavonoid levels; 84.54 ± 1.66 μg GAE/mg dry extract and 25.15 ± 0.88 μg QE/mg dry extract, respectively. Antibacterial activity was evaluated against seven bacterial strains using disc diffusion (DD) method and minimal inhibitory concentration (MIC). The results of the studied plant showed an important antibacterial activity against both Gram-negative and Gram-positive bacteria. The bacterial strains showed sensitivity ranging from moderate to high, either in terms of ID (08.67 to 17.67 mm) or in terms of MIC (01.95 and 31.25 mg/ml). These extracts also exhibited excellent activity against eight filamentous fungi growth when tested by incorporation of plant extracts into the culture medium method at (10%) reduced the growth from 25 % to 97% of all fungi. On the other hand, The antioxidant activity was assessed using four methods; DPPH ,with IC_{50} ranging between 14.18 ± 1.02 and 30.96 ± 1.80 $\mu\text{g/mL}$, β -carotene/linoleic acid, with IC_{50} ranging between $34,86 \pm 0,78$ and $49,06 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ and reducing power, with EC_{50} varied between $100,61 \pm 1,25$ and $139,99 \pm 2,08$ $\mu\text{g/ml}$ and TAC, with values ranging between $125,12 \pm 2,47$ and 160.59 ± 5.78 μg AAE/mg extract. In conclusion, the results revealed that *R. chalepensis* hydromethanolic extracts have strong antibacterial and antioxidant properties, highlighting their potential as natural sources for developing novel antibacterial and antioxidant agents.

Keywords: *R. chalepensis*, phenolic compounds, HPLC-DAD-ESI/MS, antimicrobial activity, antioxidant activity.

LISTE DES ABREVIATIONS

AAE	Ascorbic Acid Equivalent
ADN	Acide Desoxy ribo Nucleique
ARN	Acide Ribo Nucleique
BHT	Butylated hydroxytoluene
CI₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMB	Concentration minimale bactéricide
DI	Diametre d'inhibition
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAVF	Extrait Avant la floraison
EAPF	Extrait Apres la floraison
EPF	Extrait pendant la floraison
EAE	Extrait d'acétate éthyle
EAG	Equivalent d'acide gallique
EQ	Equivalent de quercétine
EVc	Equivalent d'acide ascorbique
HPLC-/MS	High Performance liquid Chromatography / Mass Spectrophotometry
OMS	Organisation mondiale de la santé
ROS	Espèce réactive de l'oxygène
SD	Standard deviation
SEM	Erreur standard de la moyenne
TAC	Capacité antioxydante totale
ZI	Zone d'inhibition

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Différentes réactions qui conduisent à la formation d'espèces réactives de l'oxygène.....	8
Figure 2. Morphologie de <i>Ruta chalepensis</i>	13
Figure 3. Site de collecte de la plante étudiée ; <i>Ruta chalepensis</i>	17
Figure 4. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	21
Figure 5. Droite d'étalonnage de la quercétine.....	22
Figure 6. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique.	27
Figure 7. Profil LC-DAD-ESI/MS des extraits hydro-méthanoliques EAVF, EPF et EAPF de <i>R. chalepensis</i>	30
Figure 8. Profil LC-ESI/MS(+) de l'EAVF contenant quercétine (1), graveoline (2), bergapten (3), isoimperatorin (4), chalepin (7), rutamarin (9), β -carotène (11).	31
Figure 9. Spectre ESI/MS(+) du composé 1 (quercétine 3-O-glucoside).	32
Figure 10. Les fragments typiques pour la quercétine 3-O-glucoside (1).	32
Figure 11. Spectre ESI/MS(+) de composé 2 (graveoline).	33
Figure 12. Les fragments typiques pour la graveoline (2).....	33
Figure 13. Spectre ESI/MS(+) de composé 3 (bergaptène).....	32
Figure 14. Les fragments typiques pour le bergaptène (3).	34
Figure 15. Spectre ESI/MS(+) du composé 4 (isoimperatorine).	35
Figure 16. Les fragments typiques pour l'isoimperatorine (4).	35
Figure 17. Spectre ESI/MS(+) du composé 7 (chalepin).....	36
Figure 18. Les fragments typiques pour chalepin (7).	36
Figure 19. Spectre ESI/MS(+) du composé 9 (rutamarine).	37
Figure 20. Les fragments typiques pour la rutamarine (9).	37
Figure 21. Spectre ESI/MS(+) du composé 11 (β -carotène).	38
Figure 22. Les fragments typiques pour la β -carotène (11).....	38
Figure 23. Croissance du champignon <i>Alternaria alternata</i> sur PDA sous l'effet des extraits EAVF ; EPF ; EAPF et le témoin.	48
Figure 24. Croissance du champignon <i>Fusarium oxysporum</i> sur PDA sous l'effet des extraits EAVF ; EPF ; EAPF et le témoin.....	49
Figure 25. Croissance du champignon <i>Fusarium culmorum</i> sur PDA sous l'effet des extraits EAVF ; EPF ; EAPF et le témoin.....	50
Figure 26. Graphique montrant le changement de couleur du DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante	51

Figure 27. Activité antiradicalaire des extraits hydrométhanoliques EAVF, EPF, EAPF de <i>R. chalepensis</i> et du BHT vis-à-vis du radical DPPH•	54
Figure 28. Effet scavenger du radical DPPH des extraits EAVF, EPF, EAPF de <i>R. chalepensis</i> , exprimé par les valeurs IC ₅₀ (µg/ml) et de BHT.....	54
Figure 29. Cinétique de Blanchiment du β-carotène en présence et en absence des extraits EAVF, EPF, EAPF de <i>R. chalepensis</i> , et du BHT..	56
Figure 30. Comparaison entre les pourcentages d'inhibition d'oxydation du β-carotène des extraits EAVF, EPF, EAPF de <i>R. chalepensis</i> , et du BHT apres 2 h d'incubation	56
Figure 31. Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique de <i>R. chalepensis</i> E AV (A), EF (B), EAP (C) et de BHT (D).	57
Figure 32. Les valeurs d'EC ₅₀ des extraits hydrométhanolique de <i>R. chalepensis</i> EAVF,EPF, EAPF et du BHT.....	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classes des composés phénoliques des plantes	10
Tableau 2. Résultats des tests phytochimiques des extraits de <i>R. chalepensis</i>	29
Tableau 3. Données obtenues des spectres de masse du profil LC-DAD-ESI/MS de l'extrait <i>R. chalepensis</i>	38
Tableau 4. Rendement d'extraction, teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de <i>R. Chalepensis</i>	40
Tableau 5. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des trois extraits EAVF, EPF, EAPF, et de l'Ampicilline utilisé comme standard.	42
Tableau 6. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Concentrations minimales bactéricides (CMB) des trois extraits EAVF, EPF, EAPF en utilisant la méthode des micro-dilutions.	45
Tableau 7. Zones d'inhibition des champignons filamenteux produites par les trois extraits EAVF, EPF, EAPF après 72 h d'incubation à 28 °C DI (mm).	46
Tableau 8. Valeurs d'CI ₅₀ des extraits hydromethanoliques de la plante <i>R. chalepensis</i> et de l'antioxydant synthétiques BHT.	52

SOMMAIRE

Résumé.....	iii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX	viii
Introduction	Erreur ! Signet non défini.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Généralités.....	Erreur ! Signet non défini.
I.1. Activité antimicrobienne	4
I.1.1. Infections bactériennes	4
I.1.2. Traitement des infections bactériennes par les antibiotiques	4
I.1.3. Phytopathogénéicité fongique et détérioration des aliments.....	5
I.1.4. Potentiel antifongique des plantes.....	6
I.2. Stress oxydant	6
I.2.1. Radicaux libres et espèces réactives.....	7
I.2.2. Sources des espèces réactives oxygénées.....	7
I.2.3. Antioxydants	9
I.3. Etude et classification botanique de <i>Ruta chalepensis</i>	12
I.3.1. Présentation de la plante.....	12
I.3.2. Origine et répartition géographique	12
I.3.3. Description botanique	13
I.3.4. Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques	14
I.3.5. Composition chimique de <i>Ruta chalepensis</i>	15

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II. Matériel et méthodes.....	Erreur ! Signet non défini.
II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Matériel végétal	17
II.1.2. Microorganismes	17
II.1.3. Produits chimiques.....	18
II.2. Méthodes.....	18
II.2.1. Préparation des extraits hydro-méthanoliques.....	18
II.2.2. Analyses phytochimiques qualitatives de la plante <i>Ruta chalepensis</i>	19
II.2.3. Profil chimique des extraits hydrométhanoliques de <i>R. chalepensis</i> par HPLC-DAD-ESI/MS.....	20
II.2.4. Analyse phytochimiques quantitative des extraits de <i>Ruta chalepensis</i>	21
II.2.5. Activité antimicrobienne.....	22
II.2.6. Activité antioxydante	24
II.2.7. Analyse statistique	27

RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre III. Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
III.1. Rendement d'extraction.....	28

III.2. Analyse phytochimique des extraits	29
III.2.1. Analyse qualitative	29
III.2.2. Tests quantitatifs phytochimiques	39
III.3. Activité antimicrobienne	41
III.3.1. Activité antibactérienne	41
III.3.2. Activité Antifongique	45
III.4. Activité antioxydante.....	50
III.4.1. Test de DPPH	50
III.4.2. Test de Blanchiment de Béta-carotène	55
III.4.3. Pouvoir réducteur	57
III.4.4. Test de capacité antioxydante totale CAT	58
Conclusion et perspectives	Erreur ! Signet non défini.
Références bibliographiques.....	61

Introduction

Les toxi-infections d'origine alimentaire demeurent un problème de santé majeur dans le monde, avec des répercussions majeures sur les systèmes de santé publique, la stabilité économique et la sécurité alimentaire. Ces maladies proviennent principalement de deux mécanismes : la contamination microbienne par des organismes pathogènes capables de provoquer des infections et des intoxications graves malgré la présence protectrice du microbiome humain (Severino *et al.*, 2025), et l'altération oxydative entraînant la détérioration des aliments (Sökmen *et al.*, 2004). Ces risques touchent tous les pays, quel que soit leur niveau de développement, la consommation d'aliments contaminés favorise la prolifération d'agents pathogènes entraînant des intoxications aiguës et des risques sanitaires importants (Celiktas *et al.*, 2007). L'émergence d'organismes multirésistants aux antibiotiques est due à la surconsommation d'antibiotiques en médecine humaine, en agriculture et en élevage, ce qui a aggravé le problème et créé une crise de santé publique en parallèle. Cela a compliqué encore davantage la gestion des maladies d'origine alimentaire (Elshobary *et al.*, 2025 ; Marino *et al.*, 2025). Cette situation a accéléré la recherche de nouvelles approches thérapeutiques, notamment l'étude de substances bioactives plus sûres, motivée par la virulence microbienne croissante et la toxicité potentielle des médicaments antimicrobiens synthétiques (Magri *et al.*, 2023, Veiko *et al.*, 2023).

Les plantes médicinales sont depuis longtemps au cœur des systèmes humains et de santé, occupant une place importante dans l'alimentation, la thérapie et l'hygiène dès les premières civilisations de l'Égypte, de la Chine et de la Grèce (Jindal & Seth, 2022). Des données épidémiologiques récentes recueillies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) indiquent que 80 % de la population mondiale continue d'utiliser des médicaments à base de plantes dans le cadre de ses soins de santé primaires (O.M.S, 2019). Les plantes médicinales sont comestibles et représentent une source précieuse de composés bioactifs aux applications multifonctionnelles, servant d'additifs alimentaires naturels, d'agents pharmaceutiques et de composants industriels. Leur pertinence pharmacologique durables sont attestées par leur intégration continue dans les systèmes de médecine traditionnelle et les approches thérapeutiques modernes, les analyses phytochimiques validant les fondements scientifiques de leur utilisation historique (Chihomvu *et al.*, 2024 ; Pallarés *et al.*, 2025).

Les extraits de plantes s'avèrent de nouveaux agents antimicrobiens efficaces et prometteurs, notamment contre les agents pathogènes résistants aux antibiotiques (Manso

et al., 2021). Leurs composants bioactifs comprennent des composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui ont des effets thérapeutiques, notamment anticancéreux, antidiabétiques, antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018 ; Fraga *et al.*, 2019). Ces composés naturels sont particulièrement précieux comme antioxydants, car ils réduisent les dommages causés par les radicaux libres grâce à des mécanismes tels que le don d'hydrogène, l'extinction de l'oxygène singulet, la chélation des métaux et la capture directe des radicaux (Kacem *et al.*, 2015).

Le genre *Ruta*, originaire de la région méditerranéenne, comprend une quarantaine d'espèces d'arbustes odorants. Parmi celles-ci, *Ruta graveolens*, *Ruta chalepensis* et *Ruta montana* (Jianu *et al.*, 2021). *Ruta chalepensis*, communément appelée rue frangée, est largement utilisée en médecine traditionnelle méditerranéenne (Yesuf *et al.*, 2023). Elle était connue pour traiter diverses affections, notamment les troubles gastro-intestinaux (Usman *et al.*, 2022, Molares *et al.*, 2023), les migraines et la fatigue oculaire (Ahmed *et al.*, 2023), les névralgies, les rhumatismes et les troubles menstruels (Martínez-Pérez *et al.*, 2017). Elle possède aussi des propriétés analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires, spasmolytiques et anticonvulsivantes (Althaher *et al.*, 2024). Plusieurs extraits de *Ruta chalepensis* sont remarquablement riches en composés bioactifs variés, principalement des composés phénoliques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des huiles essentielles. Des analyses phytochimiques ont confirmé la présence de composés clés comme la rutine, la quercétine et des furanocoumarines telles que la xanthotoxine et le bergaptène (Bekkar *et al.*, 2021). Ces composés sont reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Si les applications traditionnelles de *Ruta chalepensis* sont largement répandues, des recherches en cours continuent de valider et d'explorer ses prétendus bienfaits thérapeutiques, notamment ses activités insecticides, antioxydantes et antimicrobiennes (Szewczyk *et al.*, 2022 ; Yücel *et al.*, 2023).

Cette étude examine la composition chimique notamment la teneur en composés phénoliques de *Ruta chalepensis*. Pour ce faire, nous avons analysé des extraits prélevés à trois stades phénologiques distincts: avant, pendant et après la floraison. L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque, ainsi que la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

L'activité antifongique a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque, ainsi que par la méthode d'incorporation directe au milieu de culture. Le potentiel antioxydant a été évaluée par quatre tests : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), blanchiment du beta carotène, réduction du fer et la capacité antioxydante totale (CAT). Ces tests visent à apporter des informations précieuses sur le potentiel de *Ruta chalepensis* comme conservateur alimentaire naturel.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE
Chapitre I : Généralités

I.1. Activité antimicrobienne

I.1.1. Infections bactériennes

Les infections bactériennes représentent un enjeu majeur de santé publique. Elles peuvent se manifester dans n'importe quel organe humain. Ces infections peuvent être causées par la destruction directe des cellules par les bactéries ou par la réponse inflammatoire de l'organisme. Les pathogènes se transmettent à l'homme par l'eau, l'air, la nourriture ou des vecteurs vivants. Les principaux modes de transmission sont le contact direct, les gouttelettes, les véhicules et les vecteurs. Des mesures préventives efficaces existent et ont un impact considérable sur la morbidité et la mortalité notamment le traitement de l'eau, la vaccination et le respect des règles d'hygiène personnelle (Doron et Gorbach, 2010).

I.1.2. Traitement des infections bactériennes par les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances conçues pour cibler et détruire les microorganismes indésirables, principalement les cellules bactériennes, chez l'homme. La plupart des antibiotiques sont aujourd'hui de nature synthétique ou semi-synthétique, bien que certains soient d'origine naturelle. Les antibiotiques agissent en ciblant des fonctions vitales de la cellule bactérienne. Ils peuvent être classés en quatre grandes catégories selon leur mode d'action : Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne : empêche la bactérie de construire sa couche protectrice externe. Inhibition de la synthèse des protéines : bloque la production de protéines essentielles à la vie de la bactérie. Inhibition de la synthèse de l'ADN : empêche la bactérie de répliquer son matériel génétique. Inhibition de la synthèse de l'ARN : bloque la transcription de l'ADN en ARN, une étape nécessaire à la production de protéines (Kohanski *et al.*, 2010).

À noter que la plupart des antibiotiques naturels agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne et des protéines, à l'exception des Rifamycines, qui bloquent spécifiquement la synthèse de l'ARN (Singh, 2012).

I.1.3. Phytopathogénécité fongique et détérioration des aliments

La phytopathogénécité fongique se réfère à la capacité des champignons à causer des maladies aux plantes, entraînant des détériorations significatives des cultures agricoles et forestières. Ce processus complexe implique une série d'étapes : l'adhésion du champignon à la surface de la plante, la pénétration des tissus végétaux, la colonisation et la production de facteurs de virulence. Ces derniers incluent la sécrétion d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires de la plante, et la production de toxines qui empoisonnent les cellules végétales (Dean *et al.*, 2012).

La détérioration qui en résulte peut prendre diverses formes, telles que la pourriture des fruits, les flétrissures des feuilles, ou des lésions sur les tiges et les racines. Les recherches récentes mettent en évidence le rôle crucial des métabolites secondaires produits par les champignons, qui agissent comme des médiateurs dans l'interaction avec la plante hôte (Fisher *et al.*, 2012). De plus, les études se concentrent sur la compréhension des signaux chimiques échangés entre le champignon et la plante, et sur les mécanismes de résistance des plantes, ce qui ouvre de nouvelles voies pour le développement de stratégies de biocontrôle plus efficaces (Vicedo *et al.*, 2021).

Les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine pouvant être contaminées sont les matières premières comme les fruits et les fruits secs, les céréales, mais également les produits transformés comme le pain, la farine, les pâtes ou les jus de fruits ainsi que les viandes. Une même denrée peut être sujette à de multiples contaminations, ce qui pose le problème de synergie. Chez l'homme, certaines de ces mycotoxines (aflatoxines, stérigmatocystine, ochratoxine A, fumonisines, fusarine) ont un effet insidieux dans la mesure où elles sont cancérogènes après exposition à long terme à faible dose via l'alimentation ou par inhalation de poussières en milieu professionnel (Pfohl Leszkowicz, 2009).

Les moisissures, au-delà de causer des pertes économiques par la détérioration des aliments, ont un impact direct sur la santé humaine. Trois familles principales de moisissures sont particulièrement préoccupantes : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les champignons capables de produire des toxines (*mycotoxines*) sont classés en quatre groupes selon le stade de développement de la plante où ils interviennent. Pathogènes pour la plante, attaquent activement la plante et élaborent leurs toxines. Un exemple est *Fusarium graminearum*, qui produit la zéaralénone. Champignons de plantes sénescences ou stressées, se développent sur des plantes déjà affaiblies. C'est le cas de *Fusarium*

moniliforme (producteur de fumonisines) et *Aspergillus flavus* (producteur d'aflatoxines), contaminants de la récolte : Ils colonisent la plante, la rendant vulnérable à la contamination par les mycotoxines au moment de la récolte. *Fusarium roseum*, producteur de trichothécènes, en est un exemple. Champignons du sol et de stockage : prolifèrent dans le sol ou sur les matériaux de putréfaction, et leur développement se poursuit pendant le stockage des aliments (Pfohl-Leszkowicz, 2009).

I.1.4. Potentiel antifongique des plantes

La thérapie antifongique actuelle est confrontée à un défi majeur : la toxicité élevée de nombreux médicaments. Cette toxicité s'explique principalement par les similarités entre les cellules fongiques et les cellules humaines, ce qui rend difficile la conception de traitements qui ciblent uniquement le champignon sans endommager l'hôte (Ostrosky-Zeichner *et al.*, 2010 ; Pierce *et al.*, 2013). Face à ce problème, la recherche de nouveaux antifongiques est une priorité continue. L'objectif est de trouver des agents idéaux qui possèdent un large spectre d'activité, des structures moléculaires diverses et, surtout, moins d'effets secondaires (Carrillo-Muñoz *et al.*, 2006 ; Wiederhold et Patterson, 2015).

Les plantes constituent une source précieuse et prometteuse pour répondre à ce besoin. Elles sont capables de produire une grande diversité de composés bioactifs, tels que des huiles essentielles, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des peptides. Ces molécules, qui protègent naturellement les plantes contre les attaques fongiques (en particulier dans les forêts tropicales), pourraient être utilisées directement ou servir de modèles pour la synthèse de nouveaux médicaments plus sûrs et plus efficaces (Scorzoni *et al.*, 2016).

I.2. Stress oxydant

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de défense antioxydante d'un organisme. Lorsque la production de ROS est excessive et soutenue, elle peut entraîner des dommages irréversibles aux lipides, aux protéines et à l'ADN (Sies, 2020). Ce déséquilibre est fortement impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, les troubles neurodégénératifs et le cancer. De plus, les lésions cellulaires et moléculaires provoquées par les ROS sont considérées comme un facteur clé du processus de vieillissement (Schieber & Chandel, 2014 ; Liguori *et al.*, 2018).

I.2.1. Radicaux libres et espèces réactives

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui possèdent au moins un électron non apparié, ce qui les rend intrinsèquement instables et extrêmement réactifs. Cette instabilité les pousse à réagir avec d'autres composés, y compris les macromolécules essentielles comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques, souvent en créant des réactions en chaîne (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Le terme plus large d'espèces réactives englobe ces radicaux libres ainsi que d'autres molécules non radicalaires mais tout aussi dommageables. On distingue principalement deux grandes catégories : Espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui inclut les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$), ainsi que des espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2). Espèces réactives de l'azote (RNS) : Ce groupe est représenté par des radicaux libres comme le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$) et des espèces non radicalaires comme le peroxynitrite ($ONOO^-$). Ces espèces réactives sont les acteurs clés du stress oxydant et des dommages cellulaires qu'il engendre (Sies & Jones, 2020).

I.2.2. Sources des espèces réactives oxygénées

I.2.2.1. Sources endogènes

Les ROS et les RNS proviennent de diverses sources au sein de l'organisme. Bien que produits de manière physiologique, leur surproduction peut être à l'origine du stress oxydant. Les principales sources sont : Les mitochondries, la source principale de ROS. Au cours de la respiration cellulaire, une fuite d'électrons se produit au niveau des complexes I et III de la chaîne de transport d'électrons. Cette fuite réduit partiellement l'oxygène moléculaire en anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). Ce mécanisme est à la base de la production basale de ROS dans la plupart des cellules (Murphy, 2021). Plusieurs systèmes enzymatiques jouent aussi un rôle majeur dans la production de ROS et RNS : NADPH oxydase (NOX) une famille d'enzymes essentielle à la réponse immunitaire, elle se trouve dans les phagocytes, où elle produit de grandes quantités d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) lors de l'inflammation. Des formes de NOX sont également présentes dans les cellules non phagocytaires, générant des radicaux en plus faible quantité (Lambeth & Ganesan, 2022). La xanthine oxydo-réductase (XOR) : Lors du métabolisme des purines, catalyse la production d'acide urique tout en générant de l'anion superoxyde. La nitric oxide synthase (NOS) : produit le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$), un radical libre azoté qui peut, à son tour, réagir pour former le peroxynitrite ($ONOO^-$), un oxydant puissant. Autres enzymes : Le

cytochrome P450, les enzymes des peroxysomes, les lipooxygénases et les cyclooxygénases contribuent également à la production de ROS et de RNS dans différents contextes cellulaires (Forstermann & Sessa, 2021).

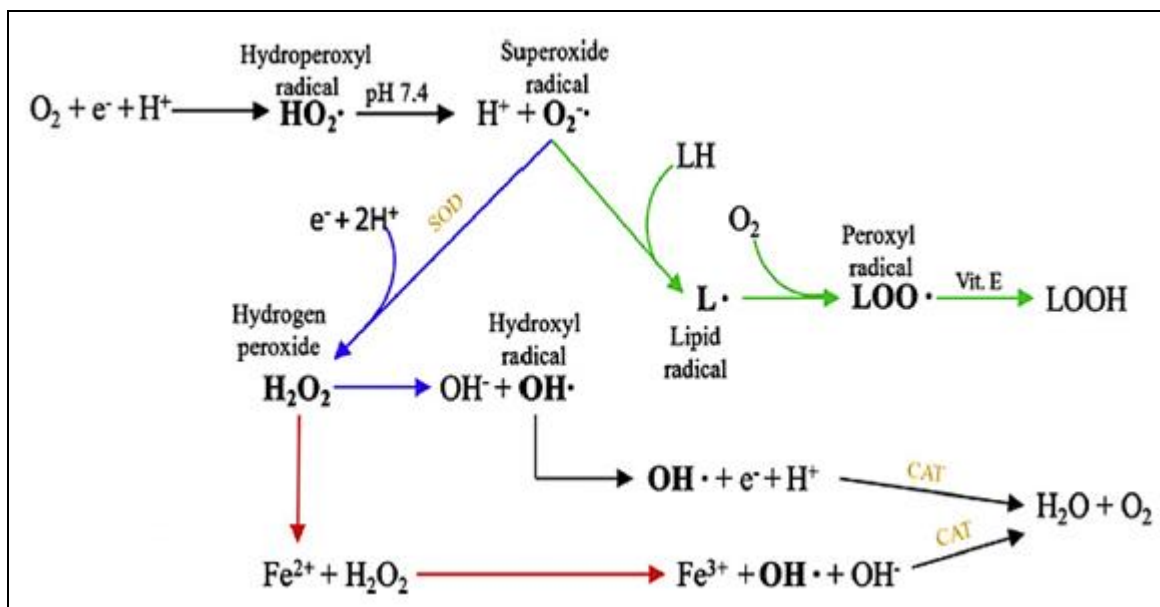


Figure 1. Différentes réactions qui conduisent à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (Carocho & Ferreira, 2013).

1.2.2.2. Sources exogènes

Les ROS peuvent également provenir de sources exogènes, c'est-à-dire de l'environnement extérieur. Ces facteurs externes contribuent à la production de ROS, surchargeant les défenses antioxydantes de l'organisme et favorisant le stress oxydant. Certains sont des agents chimiques et médicaments qui forment une grande variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, métaux lourds) et de médicaments (comme certains anticancéreux ou antibiotiques) peuvent initier la production de ROS par divers mécanismes, notamment en interférant avec les processus cellulaires normaux et en augmentant la charge oxydative (Forman & Zhang, 2021). D'autres sont les rayonnements tels que les rayons UV, les rayons X ou les rayons gamma, peuvent générer directement des radicaux libres en dissociant les molécules d'eau, un processus appelé radiolyse. Cela déclenche une cascade de réactions qui endommagent les cellules et les tissus (Azim *et al.*, 2022). Enfin les polluants environnementaux, comme la fumée de cigarette, les particules fines et les gaz industriels sont des sources majeures de ROS. Ces substances toxiques peuvent attaquer directement les cellules, notamment au niveau des poumons lors de l'inhalation, et provoquer un stress oxydant systémique (Paoletti *et al.*, 2021).

I.2.3. Antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui, même en faible concentration, a la capacité de retarder ou de prévenir l'oxydation de divers substrats biologiques (lipides, protéines, ADN) en neutralisant les radicaux libres ou en inhibant leur formation. Cette action est essentielle pour maintenir l'équilibre cellulaire et prévenir le stress oxydatif, un état de déséquilibre lié au développement de nombreuses maladies (Halliwell et Gutteridge, 2015). Le corps humain possède un système de défense antioxydant sophistiqué, combinant des antioxydants endogènes et exogènes.

I.2.3.1. Antioxydants endogènes

Ce sont les molécules produites naturellement par l'organisme pour se protéger. On distingue les antioxydants enzymatiques, comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), qui catalysent des réactions de neutralisation des radicaux libres. On trouve aussi des antioxydants non enzymatiques tels que le glutathion, la bilirubine et l'acide urique (Lushchak et storey, 2021).

I.2.3.2. Antioxydants exogènes

Le corps ne pouvant pas produire tous les antioxydants nécessaires, il doit les obtenir à travers l'alimentation. Ces composés, d'origine naturelle ou synthétique, incluent des vitamines essentielles comme la vitamine C et la vitamine E, ainsi que des polyphénols et des caroténoïdes trouvés en abondance dans les fruits, les légumes et les céréales complètes. Ces antioxydants alimentaires agissent en synergie avec les défenses endogènes pour une protection optimale (Bhatia et Sharma, 2021).

II-4- Substances bioactives

Les substances bioactives représentent un vaste groupe de composés naturels qui, bien que non essentiels à la survie comme les nutriments de base, exercent des effets physiologiques ou pharmacologiques significatifs sur le corps humain. On les trouve principalement dans les plantes, mais aussi chez certains animaux et micro-organismes. Ces molécules, souvent présentes en petites quantités dans notre alimentation, jouent un rôle crucial dans les mécanismes de défense de leurs organismes d'origine, par exemple en tant qu'antioxydants, pigments ou agents de signalisation (Gallo, 2022).

La recherche récente a mis en lumière leur importance croissante dans le domaine de la nutrition et de la santé. Des études ont démontré qu'une consommation régulière de

ces composés, via une alimentation riche en fruits, légumes, céréales complètes et légumineuses, est associée à une réduction du risque de plusieurs maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires et certains types de cancer. Les polyphénols présents dans le thé vert, les caroténoïdes des carottes et des tomates, ou encore les flavonoïdes des agrumes et des baies, sont intensivement étudiés pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Yuqian Xu *et al.*, 2025).

I.2.3.3. Polyphénols

En fonction du nombre de cycles phénoliques et de leurs propriétés structurales, les polyphénols sont classés en plusieurs catégories distinctes. Les principales classes de polyphénols que l'on trouve dans les aliments sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Shahidi et Ambigaipalan, 2015 ; D'Archivio *et al.*, 2024). Le Tableau 1 présente une classification plus détaillée des composés phénoliques des plantes, mettant en évidence la diversité de leurs structures.

Tableau 1. Classes des composés phénoliques des plantes (Shahidi et Ambigaipalan, 2015).

Classes de polyphénols	Structure de base	Exemples de sous-classes et composés
Flavonoïdes	$C_6-C_3-C_6$	Flavonols (quercétine), Flavones (apigénine), Flavanones (hespéridine), Anthocyanidines (cyanidine), Isoflavones (génistéine), Proanthocyanidines (tanins condensés)
Acides phénoliques	C_6-C_1 (hydroxybenzoïques) C_6-C_3 (hydroxycinnamiques)	Acide gallique, acide protocatéchique Acide caféique, acide férulique, acide coumarique
Stilbènes	$C_6-C_2-C_6$	Resvératrol
Lignanes	$(C_6-C_3)_2$	Secoisolariciresinol
Tanins	$(C_6-C_2-C_6)_n$	Tanins hydrolysables (gallotanins, ellagitanins), Tanins condensés (proanthocyanidines)

I.2.3.3.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, une des classes principales de polyphénols, sont couramment divisés en deux groupes en fonction de leur squelette carboné. Les acides hydroxybenzoïques ont une structure de base en C6-C1 (un anneau benzénique et une chaîne à un carbone), tandis que les acides hydroxycinnamiques possèdent une structure en C6-C3 (un anneau benzénique et une chaîne à trois carbones). Ces composés peuvent se présenter sous leur forme libre ou conjuguée, souvent liés à des sucres ou d'autres molécules (Durazzo *et al.*, 2019 ; Visioli *et al.*, 2020).

I.2.3.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe majeure de polyphénols, abondamment présents dans les fruits, les légumes et diverses plantes, où ils sont souvent responsables de leur couleur. Les chercheurs ont estimé que plus de 9 000 flavonoïdes sont identifiés à ce jour, un nombre qui continue de croître. Ces composés sont des molécules de faible poids moléculaire, caractérisées par un squelette carboné en C6-C3-C6. Cette structure de base se compose de deux cycles aromatiques (nommés A et B) reliés par une chaîne à trois carbones qui forme généralement un cycle hétérocyclique (appelé cycle C) (Visioli *et al.* 2020).

La diversité des flavonoïdes repose principalement sur les variations de substitution et de saturation au niveau du cycle C. Ces modifications structurales donnent naissance aux six principales sous-classes : les flavones, les flavonols, les flavanols (aussi appelés catéchines), les flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines. Parmi ces classes, les flavones et les flavonols sont considérés comme les plus répandus et les plus diversifiés sur le plan structurel (D'Archivio *et al.*, 2024 ; Procházková *et al.*, 2024).

De plus, des substitutions chimiques comme l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation ou la sulfatation peuvent survenir sur les cycles A et B. Ces modifications supplémentaires génèrent une vaste gamme de composés au sein de chaque sous-classe, contribuant à la richesse et à la complexité de la famille des flavonoïdes (Procházková *et al.*, 2024).

I.2.3.4. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins, ont suscité un intérêt croissant pour leurs puissantes activités antimicrobiennes. Ces composés naturels peuvent inhiber divers facteurs de virulence microbiens, comme la

formation de biofilms, l'adhérence des micro-organismes aux cellules hôtes et la neutralisation des toxines bactériennes (Chibane *et al.*, 2019 ; Procházková *et al.*, 2024). De plus, ils peuvent agir en synergie avec les antibiotiques conventionnels, offrant une piste prometteuse pour lutter contre la résistance microbienne croissante.

En raison de ces propriétés, les polyphénols sont étudiés comme alternatives naturelles aux conservateurs synthétiques dans l'industrie alimentaire et pour le développement de nouvelles thérapies contre les maladies infectieuses (D'Archivio *et al.*, 2024).

Leur mécanisme d'action dépend de leurs classes chimiques : L'activité antimicrobienne des acides phénoliques est principalement due à leur caractère lipophile. Les acides phénoliques non dissociés peuvent traverser la membrane cellulaire microbienne, acidifiant ainsi le cytoplasme et entraînant la mort cellulaire. Leur efficacité dépend de facteurs tels que le pH, la présence de groupes hydroxyl ou méthoxyl et la saturation de leur chaîne latérale (Clérivet *et al.*, 1996). Les flavonoïdes agissent en formant des complexes avec les protéines solubles et les parois cellulaires bactériennes, perturbant ainsi les fonctions microbiennes. De plus, les flavonoïdes hautement lipophiles peuvent directement endommager la membrane cellulaire, entraînant une fuite du contenu intracellulaire et la mort de la cellule. Ils peuvent également inhiber des enzymes microbiennes essentielles, comme l'ATP synthase (Procházková *et al.*, 2024).

I.3. Etude et classification botanique de *Ruta chalepensis*

I.3.1. Présentation de la plante

Le nom générique *Ruta* de la famille des Rutacées est souvent associé au mot grec "reuo," qui signifie "libérer." Cette étymologie fait allusion aux usages médicaux traditionnels de ces plantes, reconnues pour leur capacité à "libérer" ou à soulager diverses affections (Perrin, 2017). L'épithète spécifique "*chalepensis*" fait référence à la ville d'Alep en Syrie, indiquant la probable origine géographique des premiers spécimens utilisés pour la classification de cette espèce, ou l'abondance de cette plante dans la région.

I.3.2. Origine et répartition géographique

Ruta chalepensis est une espèce originaire du bassin méditerranéen et des îles Canaries. Elle a été largement naturalisée et est aujourd'hui cultivée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales en tant que plante médicinale ou ornementale (Verma *et al.*, 2021). En Algérie, *Ruta chalepensis* est une plante très répandue, poussant

spontanément dans les zones rocailleuses et les habitats secs du nord du pays, notamment dans la région du Tell. Sa présence y est attestée par de nombreuses études ethnobotaniques (Koudri *et al.*, 2022).

I.3.3. Description botanique

Ruta chalepensis est un sous-arbrisseau vivace, très ramifié et dégageant une forte odeur caractéristique. Les feuilles sont alternes, bi- ou tri-pennées, et divisées en segments étroits, de forme oblongue-lancéolée. L'inflorescence est une cyme terminale portant de petites fleurs jaunes. Les pétales sont souvent ciliés sur les bords. Le fruit est une capsule globuleuse et bosselée, contenant de petites graines (**Figure 2**) (Perrin, 2017).

I.3.3.1. Systématique

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Sapindales
- Famille : Rutaceae
- Genre : *Ruta*
- Espèce : *chalepensis* (Wiert *et al.*, 2006)



Figure 2. Morphologie de *Ruta chalepensis* (Wiert *et al.*, 2006).

I.3.4. Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques

Ruta chalepensis est une plante aux applications variées, particulièrement reconnue pour :

I.3.4.1. Utilisations médicinales et propriétés pharmacologiques

Ruta chalepensis, aussi connue sous le nom de rue d'Alep, est largement utilisée dans la médecine traditionnelle de plusieurs régions pour ses vertus thérapeutiques variées. Les recherches modernes ont commencé à explorer les bases scientifiques de ces usages.

Des études récentes ont confirmé que les extraits de *Ruta chalepensis* possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques importantes, notamment des effets anti-inflammatoires et antioxydants, ce qui pourrait expliquer son usage traditionnel pour traiter des affections comme le rhumatisme et la goutte. Ces effets sont souvent liés à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes, qui agissent également comme de puissants antioxydants, protégeant les cellules contre les dommages du stress oxydatif (Verma *et al.*, 2021). Pour l'activité antimicrobienne, la plante présente une forte activité contre diverses bactéries et champignons, ce qui justifie son utilisation pour traiter des infections (Perrin, 2017). La plante a des effets spasmolytiques par action sur les contractions musculaires lisses explique son utilisation traditionnelle pour soulager les maux d'estomac, les coliques et les troubles menstruels (Verma *et al.*, 2021).

Les applications traditionnelles de la plante varient en fonction des cultures, mais on retrouve des usages similaires dans différentes parties du monde : En Afrique, les extraits de *Ruta chalepensis* sont utilisés pour leurs propriétés utérotoniques, antidiarrhéiques et pour traiter les symptômes de la grippe, la fièvre, du rhume et des maladies cardiovasculaires. Elle est aussi employée pour apaiser les convulsions chez les enfants (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013). Au Moyen-Orient et dans les pays arabes, la rue d'Alep est traditionnellement employée pour ses effets anti-inflammatoires et analgésiques, notamment pour le traitement des rhumatismes et de la goutte. On la retrouve également dans des préparations pour traiter l'anxiété et d'autres troubles mentaux (Perrin, 2017). En Algérie, elle est couramment utilisée comme fébrifuge, pour traiter les piqûres de serpents et d'insectes, les maux de tête et les troubles respiratoires comme l'asthme, les troubles digestifs comme les nausées et la constipation, ainsi que pour soulager les névroses (Kouidri *et al.*, 2022).

I.3.5. Composition chimique de *Ruta chalepensis*

Les études phytochimiques récentes ont mis en évidence une grande richesse avec la présence de plusieurs classes de composés bioactifs de *Ruta chalepensis* dont les huiles essentielles, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les coumarines.

I.3.5.1. Huiles essentielles

La composition des huiles essentielles de *Ruta chalepensis* est l'un des domaines les plus étudiés, bien qu'elle puisse varier considérablement en fonction de l'origine géographique, du climat, du stade de développement de la plante et de la partie utilisée. Cependant, plusieurs études s'accordent sur le fait que les cétones constituent la classe de composés majoritaires en particulier la 2-undécanone (aussi appelée méthyl nonyl cétone) et la 2-nonanone, sont les constituants les plus dominants, représentant souvent une part très importante de l'huile (Merghache *et al.*, 2009 ; D'Archivio *et al.*, 2024). Des échantillons provenant d'Algérie et d'Iran ont montré des concentrations élevées de ces deux composés. On trouve également des alcools (comme le 2-nonanol), des esters (comme l'acétate de 2-méthyl-octyle), des terpènes (comme le bêta-phéllandène) et des acides gras.

I.3.5.2. Flavonoïdes

Des analyses par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) des extraits de *Ruta chalepensis* ont permis d'identifier des flavonoïdes, classe de polyphénols connue pour ses propriétés antioxydantes, tels que la quercétine, la myricétine et le kaempférol dans les extraits éthanoliques de la plante (El-Kadi *et al.*, 2025). La présence de flavonoïdes tels que la rutine est également documentée, contribuant aux activités pharmacologiques de la plante (Rout *et al.*, 2023).

I.3.5.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont une autre classe importante de métabolites secondaires présents dans la plante, souvent liés à ses effets pharmacologiques de type acridone et furoquinoléine. D'autres alcaloïdes comme la γ -fagarine, la skimianine et la chalepensine ont été notamment isolés (Al-Majmaie *et al.*, 2021). Ces composés sont étudiés pour leurs activités biologiques, notamment antimicrobiennes.

I.3.5.4. Autres composés

Ruta chalepensis est une source notable de coumarines et de furocoumarines (comme le psoralène et le bergaptène), qui sont connus pour leurs propriétés photoactives et sont utilisés en dermatologie. Tanins et saponines : Des analyses phytochimiques qualitatives ont également révélé la présence de tanins et de saponines dans les extraits de la plante, contribuant à son profil bioactif complexe (Kacem *et al.*, 2015).

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II : Matériels et méthodes

I.4. Matériels

I.4.1. Matériel végétal

La matière végétale *Ruta chalepensis* a été récoltée à partir de la région de Djebel Messaad situé dans la région de Bou Saâda au sud de la wilaya de M'sila, situé à 35° 13' 9" Nord 4° 10' 54" Est de l'Algérie (Figure 3). Durant trois périodes différentes, avant la floraison (AF), pendant la floraison (F) et après la floraison (PF) de la plante. La caractérisation a été faite au niveau du département de SNV, Faculté des Sciences, université de M'sila par le Docteur Sarri Djamel. Les échantillons ont subi un séchage à l'abri de la lumière dans un endroit sec et aéré pendant plusieurs jours, jusqu'à dessiccation complète, ensuite conservés jusqu'à leur utilisation.

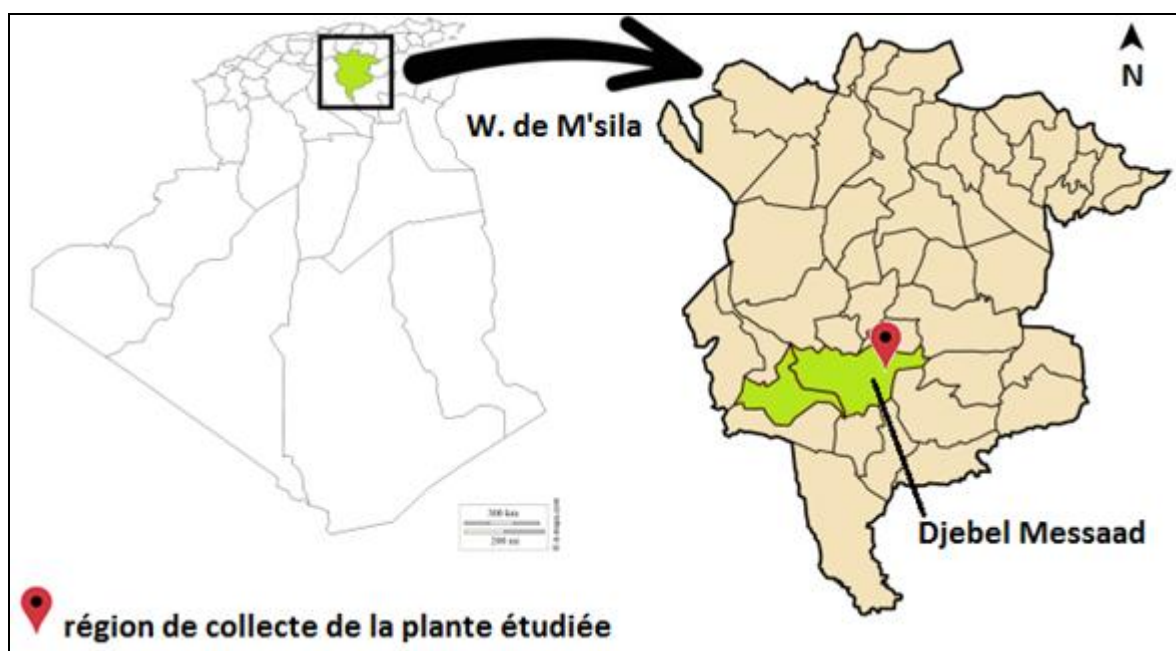


Figure 3. Site de collecte de la plante étudiée ; *Ruta chalepensis*.

I.4.2. Microorganismes

I.4.2.1. Souches bactériennes

Trois souches bactériennes à Gram-négatif : *Escherichia coli* ATCC 7835, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13076, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* (isolat clinique) et quatre souches bactériennes à Gram-positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25022, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* (isolat clinique), *Bacillus cereus*

(isolat clinique), Ces souches bactériennes sont fournies par le laboratoire de microbiologie du CHU de Sétif.

I.4.2.2. Souches fongiques

Neuf souches fongiques ont été utilisées : *Candida albicans*, *Aletrnaria alternata* ; *Asergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* fournies par le laboratoire de microbiologie appliqué de Setif et *Diplodia mutila* MAEC09 ; *Diplodia corticola* ; *Neofusicoccum parvum* MAEC 36 ; *Diplodia corticola* MAEC fournies par le laboratoire de biologie des systèmes microbiens(LBSM) école normale supérieure de kouba.

I.4.3. Produits chimiques

Les produits chimiques et les solvants organiques utilisés dans cette étude sont tous de grade analytique et sont procurés auprès de Sigma- Aldrich (Allemagne) et Fluka (France), Prolabo (France).

I.5. Méthodes

I.5.1. Préparation des extraits hydro-méthanoliques

Une extraction hydroalcoolique de *Ruta chalepensis* par macération a été effectuée selon la méthode décrite par Motamed et Naghibi, (2010). Brièvement 100 g de la plante séchés ont été mélangés avec 1000 mL de solvant méthanol /eau (70:30) (v/v) pendant 24h sous agitation, la procédure a été répétée trois fois, chaque 24h, ensuite une filtration a été faite. Les trois filtrats sont exposés à l'évaporation dans un appareil de rotavapeur (BUCHI) dans le but d'éliminer le solvant organique, méthanol. L'extrait obtenue est placé à l'étuve à 45°C afin d'obtenir un extrait sec, la poudre obtenue a été conservé à 4 °C pour être utiliser plus tard. Le rendement d'extraction de chaque échantillon a été déterminé selon la formule suivante :

$$R \% = M/M_0 \times 100$$

R % : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

I.5.2. Analyses phytochimiques qualitatives de la plante *Ruta chalepensis*

I.5.2.1. Screening phytochimiques

Les métabolites secondaires sont mis en évidence par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes familles de molécules existantes dans les extraits des plantes (Bruneton, 1999). Il s'agit d'analyses qualitatives basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Les différentes familles de composés chimiques recherchées dans cette étude sont les suivantes :

I.5.2.1.1. Polyphenols totaux

Dans un tube à essai, 0,5 g de la poudre de la plante *Ruta chalepensis* est mis en ébullition dans 2 mL d'eau distillée, ensuite le mélange est filtré, puis 5% du FeCl_3 (v/w) sont ajoutés au filtrat, L'apparition d'une coloration marron verdâtre ou bien bleu noir révèle la présence des polyphenols (Rai *et al.*, 2013).

I.5.2.1.2. Flavonoïdes

Dans un tube à essai 0,5 g d'extrait à tester est mélangé avec 10 mL d'eau distillée, ensuite 5 mL d'une solution d'ammoniac diluée sont ajoutés au filtrat aqueux avec 1 mL d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration rose, jaune révèle la présence des flavonoïdes (Waddood *et al.*, 2013).

I.5.2.1.3. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant 5 mL d'eau distillée à 0,5 g de la poudre de l'extrait, ensuite quelques gouttes de solution de FeCl_3 à 1% sont ajoutées. Une coloration bleu-noire, vert ou vert-bleu indique la présence de tanins (Sahu *et al.*, 2012).

I.5.2.1.4. Alcaloïdes

Test de Wagner : prendre 2 ml d'extrait de plante dans un tube à essai et ajouter 2 gouttes du réactif Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes (Yeo *et al.*, 2011).

I.5.2.1.5. Quinones

La présence des quinones est mise en évidence en ajoutant, à 0,5 g de la poudre 20 mL d'eau distillée, le mélange est chauffé jusqu'à ébullition, ensuite filtré. Finalement 1

mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré est ajouté à 1 mL du filtrat, La couleur rouge indique la présence des quinines (Vijayalakshmi et Ravindhran, 2012).

I.5.2.1.6. Proanthocyanes

Dans un tube à essai, 2 mL d'extrait à tester et 2mLd'acide chlorhydrique (HCl 37%) sont mélangés, et mis dans un bain marie pendant 5 minutes. L'apparition d'une coloration rouge, révèle la présence des proanthocyanes (Karumi *et al.*, 2004).

I.5.2.1.7. Anthraquinones

La présence des quinones est mise en évidence en ajoutant, à 1 mL de l'extrait 2 à 3 gouttes de solution de KOH à 10%, puis agiter. Un virage de couleur de la phase aqueuse vers le rouge indique la présence des anthraquinones (Oloyede, 2005).

I.5.2.1.8. Terpenoides

Prendre 5 mL d'extrait de plante dans un tube à essai et ajouter 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. L'apparition d'une coloration marronne à l'interface révèle la présence des terpénoïdes (Edeoga *et al.*, 2005).

I.5.3. Profil chimique des extraits hydrométhanoliques de *R. chalepensis* par HPLC-DAD-ESI/MS

L'analyse LC-MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe liquide Hewlett – Packard (Palo Alto, Californie, États-Unis) modèle 1100 couplé à la fois à un détecteur à réseau de photodiodes (Agilent, Palo Alto, Californie, États-Unis) série 1100 et à un spectromètre de masse Esquire LC – piège à ions (Bruker Daltonics, Billerica, MA, États-Unis) équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI). Les principaux composants ont été séparés dans les conditions suivantes : colonne Macherey-Nagel Nucleosil C18 (diamètre intérieur 250 mm × 4.6 mm, diamètre de particule de 5 µm, extrémité coiffée), le détecteur à réseau de photodiodes (PDA) a été réglé à 330 nm; un système d'élution 8 : 2 H_2O (+ 1 mL d'acétate d'ammonium 10 mM) : CH_3CN (+ 1 mL d'acétate d'ammonium 10 mM); l'éluant a été utilisé pendant 30 min, puis à 0 : 100 progressivement jusqu'à 56 min; la division de l'effluent de la colonne a été appliquée pour atteindre un débit de 1 mL/min dans le spectromètre de masse. De l'azote de haute pureté a été utilisé comme nébuliseur à 35 psi, ainsi que comme gaz de séchage à 300°C, à un débit constant de 6 L/min. Les spectres de balayage complet ont été acquis en mode ions négatifs et positifs dans la région m/z 100–1000. Les informations structurales pour les

compositions ont été obtenues à partir des fragments de dissociation induits par collision dans la source sur les ions précurseurs sélectionnés (Cheriet *et al.*, 2025).

I.5.4. Analyse phytochimiques quantitative des extraits de *Ruta chalepensis*

I.5.4.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits hydrométhanolique de *Ruta chalepensis* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Li *et al.*, (2007).

Un volume de 200 μ L des solutions d'extraits à 1 mg/ml sont ajoutées à 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, 800 μ L de carbonates de sodium (75 g/L) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir 2 heures à température ambiante, puis la lecture est faite à 765 nm. L'acide gallique (0-140 μ g/mL) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée (Figure 4). Le résultat est exprimé en μ g d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/ mg d'extrait). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

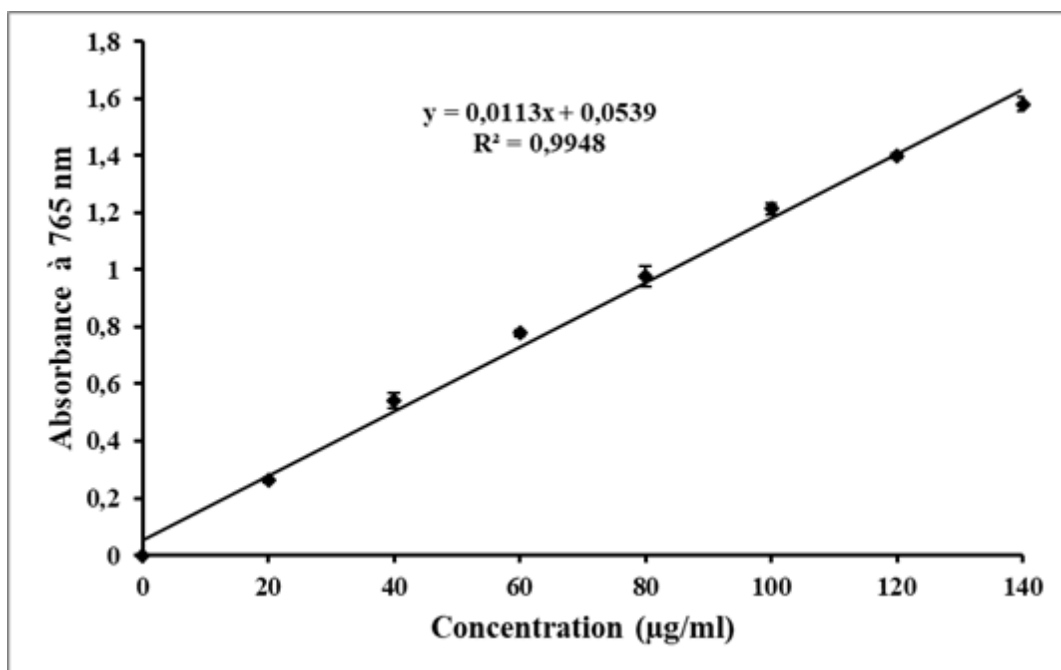


Figure 4. Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne $\pm$ SD de trois mesures).

I.5.4.2. Dosage des Flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Ruta chalepensis* est réalisée par la méthode de Bahorun *et al.*, (1996). Un volume de 1mL d'extrait est mis dans un tube à essai ensuite 1 mL de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % est additionné. Le mélange est incubé 15 minutes à température ambiante, puis la lecture est faite à 430 nm. La quercétine (0-20 µg/ml) est utilisée comme standard (Figure 5). Le résultat est exprimé en µg d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/ mg d'extrait). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

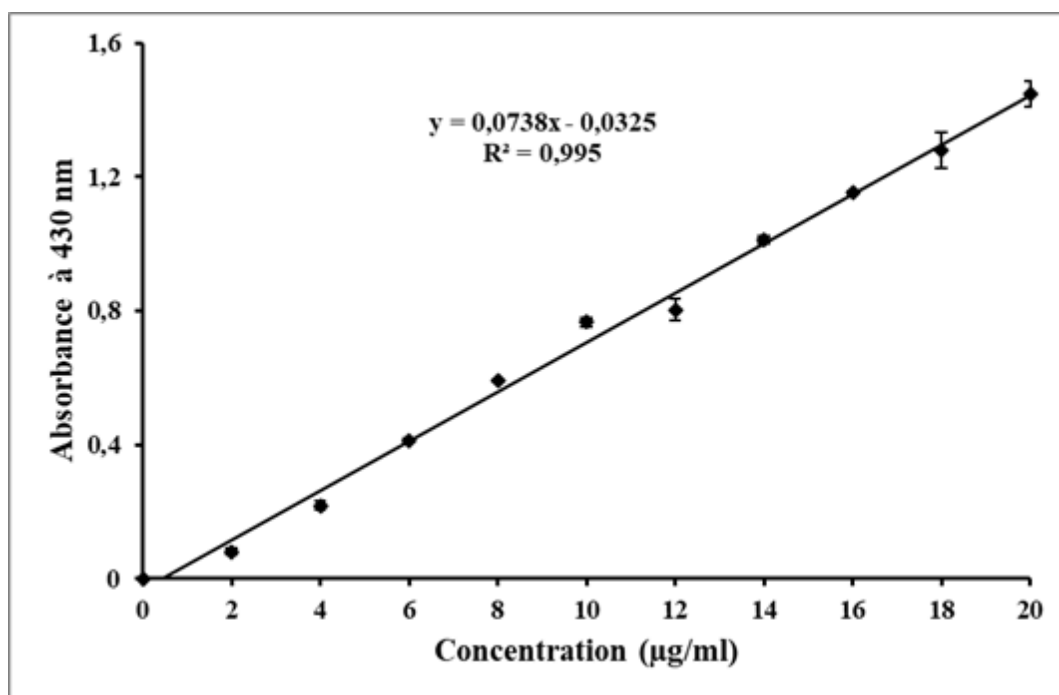


Figure 5. Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne $\pm$ SD de trois mesures).

I.5.5. Activité antimicrobienne

I.5.5.1. Activité antibactérienne

I.5.5.1.1. Activité antibactérienne par la méthode des disques

L'activité antibactérienne des extraits hydro-méthanolique de *R. chalepensis* est évaluée par la méthode de disques diffusion vis-à-vis de sept souches bactériennes (à Gram⁺ et à Gram⁻). Les différentes souches bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu gélose nutritive, puis incubées à 37°C pendant 24h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5

McFarland. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemer de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton par technique d'écouvillonnage. Ensuite, des disques de 6 mm de diamètre ont été mis sur la gélose puis, imprégnés chacun de 30 μ L d'extrait (500 mg/ml). Les disques de contrôles négatifs sont imprégnés par le DMSO, l'Ampicilline est utilisée comme contrôle positif.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 h. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une zone d'inhibition (auréole) autour des disques. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Une substance est considérée active, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Szewczyk *et al.*, 2022).

I.5.5.1.2. Détermination de la CMI et la CMB

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été déterminés comme précédemment décrit par Yehouénou *et al.* (2010). Brièvement, 100 μ L de bouillon Mueller-Hinton contenant du rouge de phénol à 0,02 g/L ont été distribués dans chaque puit d'une microplaque à 96 puits. cent microlitres de la solution mère de l'extrait ont ensuite été ajoutés à chacun des puits de la première colonne (A, C, D, E, F, G, H) de la microplaque sauf celui de la seconde rangée (B). Des dilutions au demi ont été réalisées jusqu'au 12ème puits dans chaque rangée et les 100 μ L du dernier puits ont été rejetés. Ensuite, 100 μ L de bouillon Mueller-Hinton ne contenant pas du rouge de phénol ont été ajoutés dans le premier puit de la seconde rangée et avant de procéder à des dilutions successives toujours de raison 2. La concentration d'extrait sera de l'ordre de (100 mg/mL) pour chacun des premiers puits de la plaque.

Tous les puits ont étéensemencés, sauf ceux de la première rangée, en y introduisant 100 μ L de suspension bactérienne à 10^6 UFC/mL, densité égale à l'échelle 0.5 de McFarland. La suspension bactérienne a été remplacée par du bouillon Muller Hinton sans rouge de phénol dans les puits de la première rangée. La microplaque a enfin été recouverte avec le couvercle puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures. La première rangée représente le témoin négatif tandis que la seconde, le témoin positif.

A la lecture, l'obtention d'une couleur jaune indique une multiplication bactérienne. La persistance de la couleur rouge initiale signifie l'absence de croissance des germes.

I.5.5.2. Activité antifongique

I.5.5.2.1. Méthode des disques

La méthode d'agar de diffusion a été effectuée pour l'évaluation des extraits de *R. chalepensis* selon Sadeghi *et al.* (2010) avec une légère modification. 100 µL d'une suspension sporale (10^6 CFU / mL, 0,5 Mc Farland) de chaque champignon ont été étalés uniformément à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sur milieu PDA, des disques de papier de 6 mm imbibés avec 30 µL d'extrait de plante à une concentration de 200 mg/mL sont ensuite placés sur le tapis sporale. Les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 72 heures. Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif. La zone d'inhibition a été déterminée pour évaluer l'activité antifongique. Les expériences ont été réalisées en triplicata et la moyenne de la zone d'inhibition de chaque champignon testé a été mesurée.

I.5.5.2.2. Méthode d'incorporation directe de l'extrait dans le milieu de culture

Ce test antifongique est réalisé selon Soliman and Badeaa, (2002) avec quelques modifications. Chaque extrait de *R. chalepensis* a été solubilisé dans le DMSO puis incorporée dans le milieu de culture PDA refroidi à 45°C. Une concentration finale (10 mg/mL) a été appliquée. Des boîtes de Pétri contenant chacune 15 mL de milieu sont aseptiquement ensemencés au centre avec un disque du champignon à tester pris du bord actif d'une culture âgée de 7 jours. Les témoins sont supplémentés uniquement de DMSO. Les boîtes inoculées sont incubées à 25°C à l'obscurité. Chaque test est réalisé en triplicata. Le développement du champignon est suivi quotidiennement par la mesure du diamètre de la colonie jusqu'au 7^{ème} jour. L'activité antifongique au 7^{ème} jour est exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (% ICM) selon la formule :

$$\% \text{ ICM} = [(\text{diamètre du témoin} - \text{diamètre du test}) / \text{diamètre du témoin}] \times 100$$

I.5.6. Activité antioxydante

L'activité antioxydante *in vitro* des extraits a été réalisée par quatre techniques biochimiques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment de β-carotène, la méthode de FRAP et la capacité antioxydante totale (CAT).

I.5.6.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits hydromethanolique de *R. chalepensis* vis-à-vis du radical DPPH est effectuée selon la méthode décrite par Que *et al.*

(2006). Un volume de 500 μL de la solution de DPPH (0,1 mM) est ajouté à 500 μL d'extrait à différentes concentrations (5 - 90 $\mu\text{g/mL}$). Le BHT est utilisé comme antioxydant standard. Le mélange réactionnel est incubé 30 min à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = (\text{AC} - \text{AT} / \text{AC}) \times 100$$

AC : absorbance du contrôle.

AT : absorbance du test.

La concentration ayant la capacité de piéger 50% du radical DPPH (CI_{50}) est déterminée.

I.5.6.2. Test de blanchiment de β -carotène

Dans cet essai, l'oxydation de l'acide linoléique produit de nombreux produits d'oxydation (hydroperoxydes lipidiques, des diènes conjugués, et des sous-produits volatils) qui attaquent le chromophore de β -carotène, ce qui entraîne le blanchiment de sa couleur caractéristique. Cependant, la présence d'antioxydant inhibe le blanchiment du β -carotène par les produits formés de l'oxydation de l'acide linoléique (Zouari *et al.*, 2011).

La capacité des extraits étudiés à prévenir le blanchiment du β -carotène est déterminée selon la méthode de Sevgi *et al.* (2015), basée sur la capacité des extraits à inhiber la formation des hydroperoxydes diène conjugués durant l'oxydation de l'acide linoléique. Brièvement, 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme est mélangé avec 25 μL d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme sous vide à 45°C, 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés au mélange qui sera vigoureusement agité. Le milieu réactionnel contient 2,5 mL de l'émulsion de β -carotène/acide linoléique et 0,5 mL d'extraits (2 mg/mL) ou de l'antioxydant de référence (BHT). Le mélange est placé dans un bain-marie et incubé à 50°C pendant 2 heures. L'oxydation de l'émulsion est suivie par la mesure de l'absorbance au temps zéro et après chaque 20 min pendant 2 h à 490 nm. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au contrôle selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = [(1 - (\text{At}_0 - \text{At}_{120}) \text{ test} / (\text{At}_0 - \text{At}_{120}) \text{ contrôle})] \times 100$$

At_0 : absorbance au temps $t = 0$.

At_{120} : absorbance au temps $t = 120$ min.

I.5.6.3. Pouvoir réducteur des extraits

Le pouvoir réducteur des extraits de *R. chalepensis* a été déterminé selon le protocole décrit par Rohit *et al.*, (2012). Des solutions d'extraits et d'antioxydant de référence BHT à différentes concentrations sont initialement mélangées avec 625 μ L du tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 625 μ L de $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Après 20 min d'incubation à 50°C suivie d'un refroidissement, 625 μ L de TCA (10%) et 625 μ L de $FeCl_3$ (0,1%) sont ajoutés au milieu réactionnel, et l'absorbance est lue à 700 nm contre un blanc sans $FeCl_3$. L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur. La valeur d'EC₅₀ est calculée à partir de la courbe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

I.5.6.4. Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée 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 pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

La capacité antioxydante totale des extraits de *R. chaleensis* est estimée par dosage du phosphomolybdène selon la méthode décrite par Prieto *et al.*, (1999). Un volume de 100 μ L des solutions d'extraits ou du standard acide ascorbique est ajouté à 900 μ L d'un réactif composé d'acide sulfurique (0.6 M), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Le mélange est incubé à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm. La capacité antioxydante totale est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide ascorbique (Vc) par milligramme d'extrait (μ g EVc/mg d'extrait), et calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (**Figure 6**).

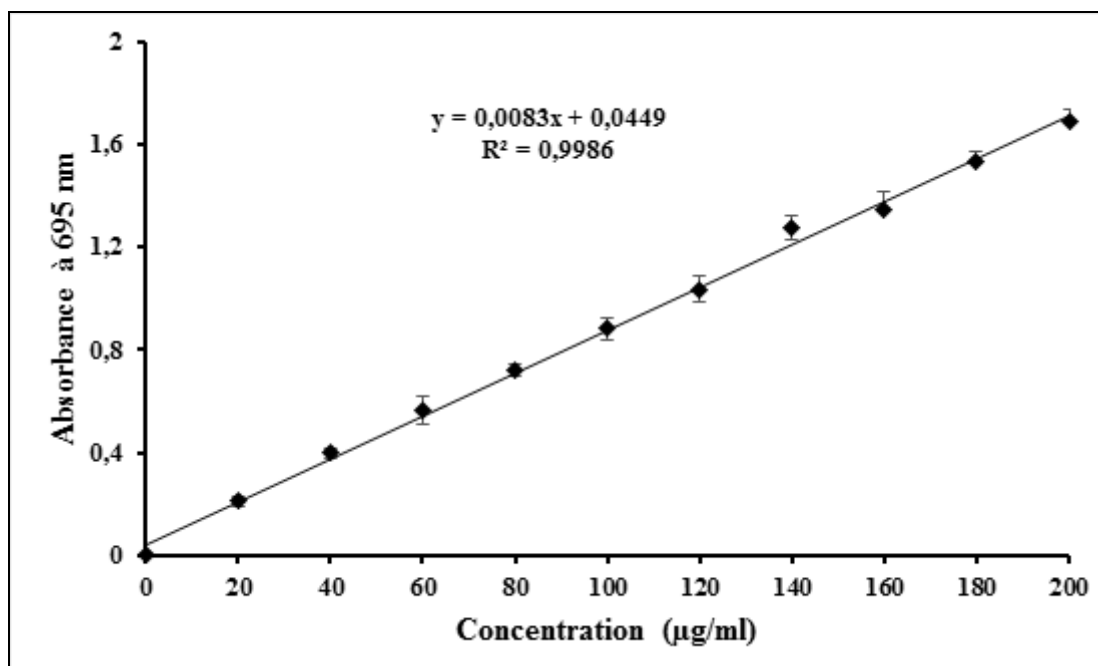


Figure 6. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique (moyenne $\pm$ SD de trois mesures).

I.5.7. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (déviati on standard), et en moyenne $\pm$ SEM (erreur standard de la moyenne). Les résultats ont été analysés par l'analyse de variance à un facteur suivie du test de Tukey pour la comparaison des résultats en présence des extraits avec les contrôles négatifs (en absence des extraits). La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est $< 0,05$.

Chapitre III :

Résultats et discussion

I.6. Rendement d'extraction

L'extraction des principes actifs de la plante *R. Chalepensis* a été réalisée par un solvant hydro-alcoolique, méthanol/eau (7/3, V/V) à partir de trois échantillons de cette plante récolté dans la région de Djebel Messaad, Wilaya de Msila, avant la floraison (AVF), pendant la floraison (PF) et après la floraison (APF).

Selon Mahmoudi *et al.*, (2013), la macération semble être la meilleure méthode pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes. L'extraction par le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios permettent une bonne récupération de composés phénoliques (Barros *et al.*, 2010). L'utilisation de la poudre plutôt que la plante non broyée améliore l'extraction en augmentant la surface de contact entre l'échantillon et le solvant, facilitant ainsi sa pénétration à l'intérieur des cellules (Jones et Kinghorn, 2005).

Les résultats obtenus présentés dans le Tableau 03, montrent une variabilité significative dans les rendements d'extraction des trois échantillons de *R. chalepensis*. L'extraire EAVF présente le rendement le plus élevé ($28,97 \pm 0,61\%$), suivi par l'EPF ($18,54 \pm 1,04\%$), tandis que l'EAPF affiche une valeur faible ($16,00 \pm 0,32\%$). Cette différence entre les rendements est attribuée principalement à la période de collecte de l'échantillon, qui est un facteur clé influençant la composition chimique et, par conséquent, le rendement d'extraction des métabolites secondaires.

En comparant ces résultats avec ceux de la littérature, on observe également une hétérogénéité des rendements, ce qui souligne l'influence des facteurs géographiques. Bekkar *et al.*, (2021) ont rapporté un rendement de 13,2% pour l'extraire méthanolique de *R. chalepensis* collectée dans la région de Mascara. Le rendement le plus faible obtenu dans cette étude (EAPF à 16,00%) est comparable à ce dernier, tandis que les autres rendements (EPF et EAVF) sont nettement plus élevés.

Les travaux de Barbouchi *et al.*, (2024) sur *R. chalepensis* du Maroc montrent une plage de rendements pour l'extraire méthanolique variant entre 14% et 30%. Les rendements d'extraction pour l'EPF (18,54%) et l'EAVF (28,97%) de *R. chalepensis* de cette étude se situent dans cette fourchette. Particulièrement, le rendement de l'EAVF (28,97%) est très proche du rendement maximal (30%) rapporté par Barbouchi *et al.*, (2024), suggérant que l'extraire EAVF pourrait être potentiellement riche en composés solubles dans le solvant utilisé, en raison de la période de collecte optimale pour cet échantillon.

Enfin, Kacem *et al.*, (2015) ont trouvé un rendement de 14,52% pour l'extrait hydro-méthanolique de *R. chalepensis* de Tunisie. Ce rendement est comparable à notre valeur la plus basse (EAPF), et inférieur à nos autres extraits. La différence dans le solvant d'extraction hydro-méthanolique versus l'autres solvant peut également expliquer cette disparité, car le choix du solvant affecte directement la polarité des composés extraits et donc le rendement global.

En conclusion, la variabilité des rendements d'extraction observée dans nos échantillons et dans la littérature met en évidence l'importance de facteurs tels que la période de collecte, l'origine géographique de la plante et le type de solvant utilisé. La période de collecte, semble être un facteur prépondérant expliquant la différence de rendement entre nos trois échantillons, suggérant que l'EAVF a été collecté pendant une période où la plante était particulièrement riche en métabolites extractibles.

I.7. Analyse phytochimique des extraits

I.7.1. Analyse qualitative

I.7.1.1. Screening phytochimiques

Les métabolites secondaires sont mis en évidence par une étude phytochimique qui consiste à détecter les différentes familles de molécules existantes dans les extraits de plantes (Bruneton, 1999). Il s'agit d'analyses qualitatives basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Les différentes familles de composés chimiques recherchées dans cette étude sont regroupées dans le Tableau 02.

Tableau 2. Résultats des tests phytochimiques des extraits de *R. chalepensis*.

	Avant la floraison	Pendant la floraison	Après la floraison
Polyphénols totaux	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+
Tanins	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+
Quinones	+	+	+
Proanthocyane	–	–	–
Anthraquinone	–	–	–
Terpénoides	–	–	–

+: Présence ; – : Absence

Selon le **Tableau 02**, les trois extraits de la plante *R. chalepensis* contiennent des polyphenols, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des quinones contrairement aux proanthocyanes, anthraquinone et terpénoides qui ne sont pas présents. Plusieurs composés

présents dans cette étude sont similaires à ceux présentés par Attou, (2011). Cela peut être expliqué par la même origine de l'espèce utilisée (le même pays). Une étude menée par Barbouchi *et al.*, (2024) a confirmé la présence des flavonoides ; des triterpènes anthraquinones combinés et des tanins ce qui est en concordance avec nos résultats qui sont aussi renforcé par l'étude phytochimique réalisé par Sara Hussein Altayeb *et al.* (2024).

I.7.1.2. Profil chimique des extraits hydrométhanoliques de *R. chalepensis* obtenu par HPLC-DAD-ESI/MS

D'après l'analyse des profils LC-DAD-ESI/MS des extraits de *R. chalepensis* ; EAVF, EPF et EAPF, on a constaté que les trois extraits sont totalement identiques, mais la seule différence observée était l'intensité des pics (**Figure 7**). En effet, l'EAVF présente une intensité supérieure par rapport à l'EPF et à l'EAPF. Cette variation dans la concentration des composés en fonction du stade de développement de la plante est un phénomène bien connu en phytochimie, où les conditions environnementales et les besoins métaboliques de la plante influencent la biosynthèse des métabolites secondaires. Cette observation suggère que la meilleure phase pour investiguer la composition chimique de *R. chalepensis* est celle avant floraison.

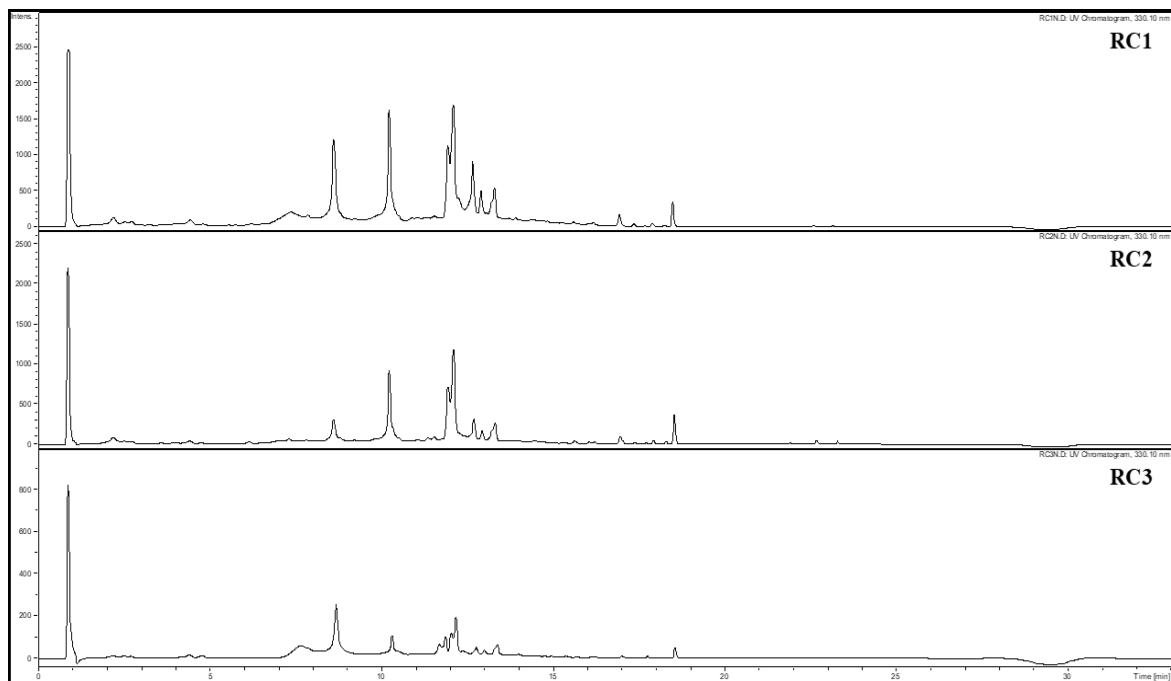


Figure 7. Profil LC-DAD-ESI/MS des extraits hydro-méthanoliques EAVF(RC1), EPF (RC2) et EAPF (RC3) de *R. chalepensis*.

Dans le but d'identifier la composition chimique des extraits étudiés de *R. chalepensis*, sachant que les trois extraits ont déjà montrés un profil LC-DAD-ESI/MS

identique, on a décidé d'étudier l'EAVF car c'était le plus riche quantitativement. Quatorze pics majoritaires ont été observés dans le profil LC-DAD-ESI/MS (+) (**Figure 8**) dont sept sont identifiés en se basant sur leurs masses et fragmentations obtenus (**Tableau 3**).

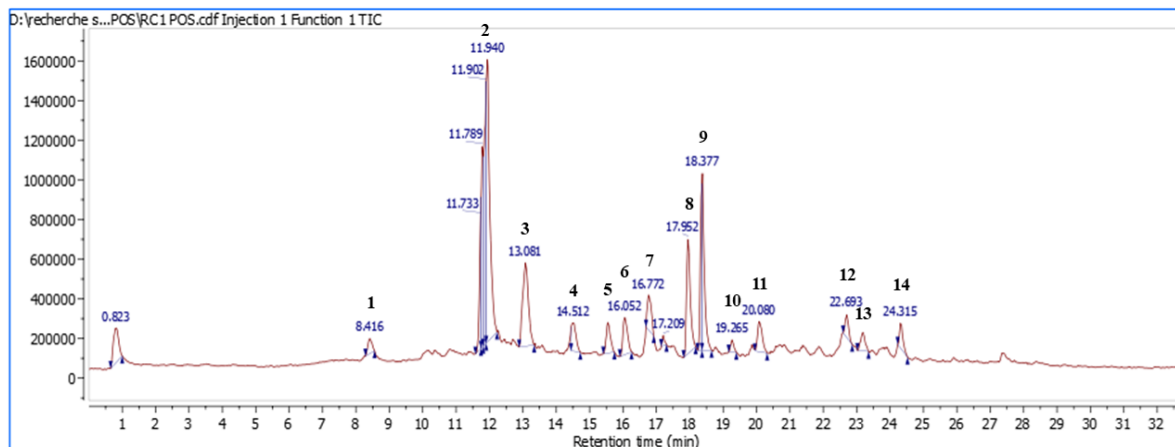


Figure 8. Profil LC-ESI/MS(+) de l'EAVF contenant quercétine (1), gravéoline (2), bergapten (3), isoimperatorin (4), chalepin (7), rutamarin (9), β -carotène (11).

I.7.1.2.1. Quercétine 3-O-glucoside

L'analyse de spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 9**) montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 464.15 et un pic de base à m/z 302.25 (correspondant à la quercétine aglycone), avec une différence de 162 Da (unité de glucose). Les fragments à m/z 287.450, 218.350 et 175.950 Da confirment cette structure. La quercétine et ses glycosides sont des flavonoïdes couramment trouvés dans les plantes et sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Bien que les documents fournis ne détaillent pas l'identification spécifique de la quercétine 3-O-glucoside avec la structure chimique (**Figure 10**), la présence de flavonoïdes est confirmée dans *R. chalepensis* par d'autres études mais avec une autre forme quercétine 3-D-galactoside (Mokhtar *et al.*, 2022).

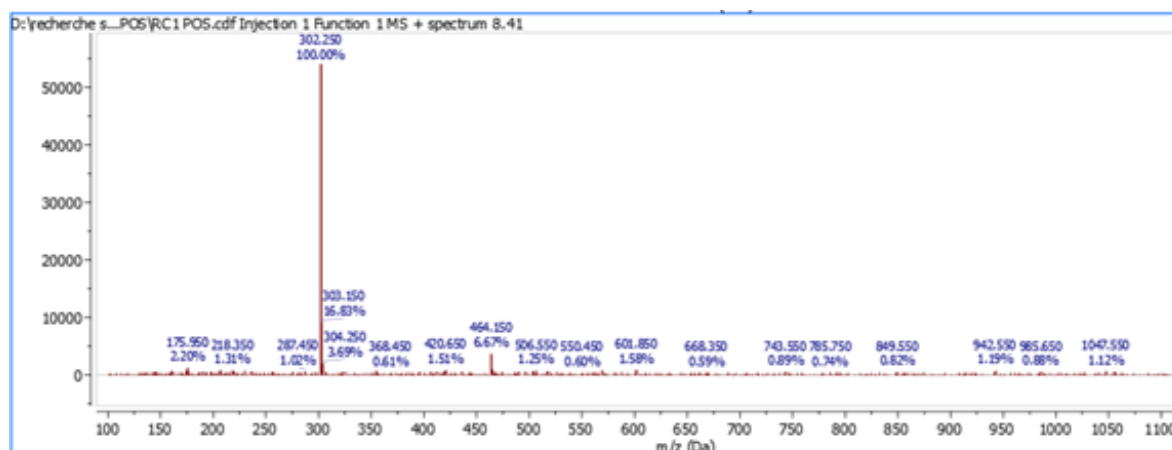


Figure 9. Spectre ESI/MS(+) de composé 1 (quercétine 3-O-glucoside).

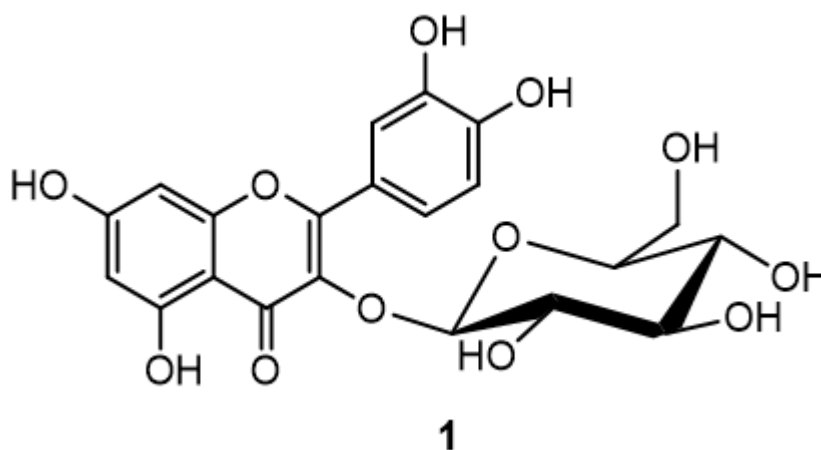


Figure 10. Les fragments typiques pour la quercétine 3-O-glucoside (1).

I.7.1.2.2. Gravéoline

L'analyse de spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 11**) montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 279.250, cette masse est connue pour la molécule gravéoline et des ions fragments à m/z 216.150, 200.950, 173.50, 159.950 et 144.850 Da confirment cette structure. La gravéoline (**Figure 12**) est un alcaloïde quinolone, et sa présence est déjà documentée dans *Ruta* spp. L'étude de Rodríguez-Garza *et al.*, (2025), mentionne une teneur élevée en alcaloïdes dans les extraits de *R. chalepensis*, ce qui est en accord avec cette identification.

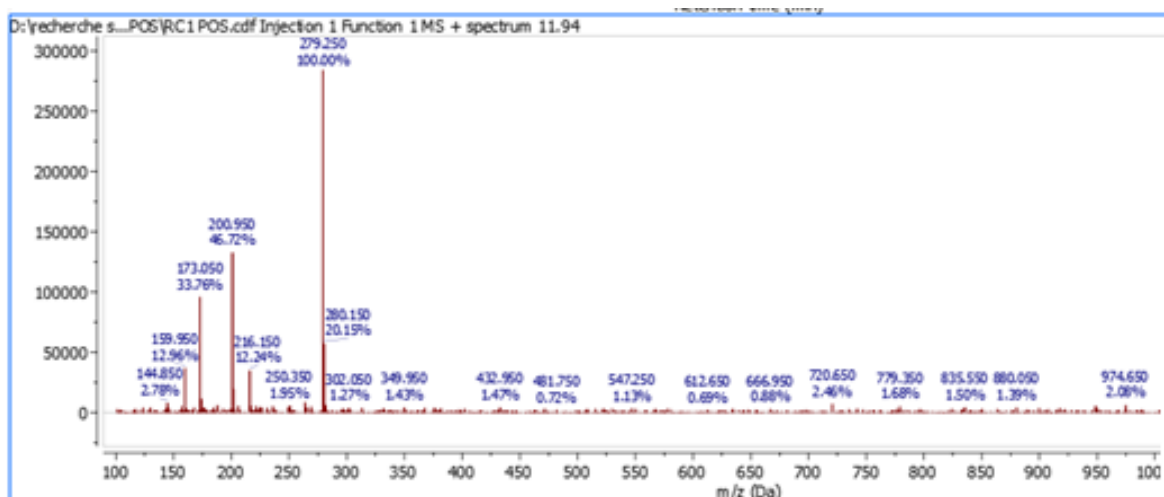


Figure 11. Spectre ESI/MS(+) de composé 2 (gravéoline).

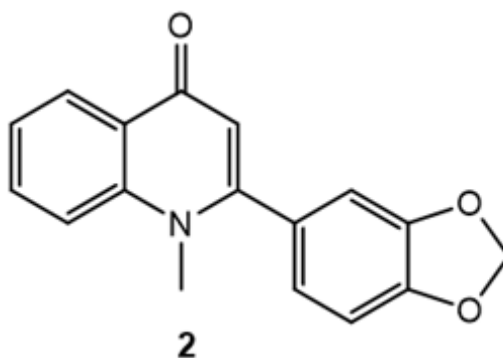


Figure 12. Les fragments typiques pour gravéoline (2).

I.7.1.2.3. Bergaptene

L'analyse de spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 13**) montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 216.050 et des fragments à m/z 200.950, 172.950, 160.050 Da, ce qui correspond à un composé nommé bergaptene, avec la structure chimique (**Figure 14**) qui est une furano coumarine. Les travaux de Szewczyk *et al.*, (2022) confirme que *R. chalepensis* est riche en coumarines.

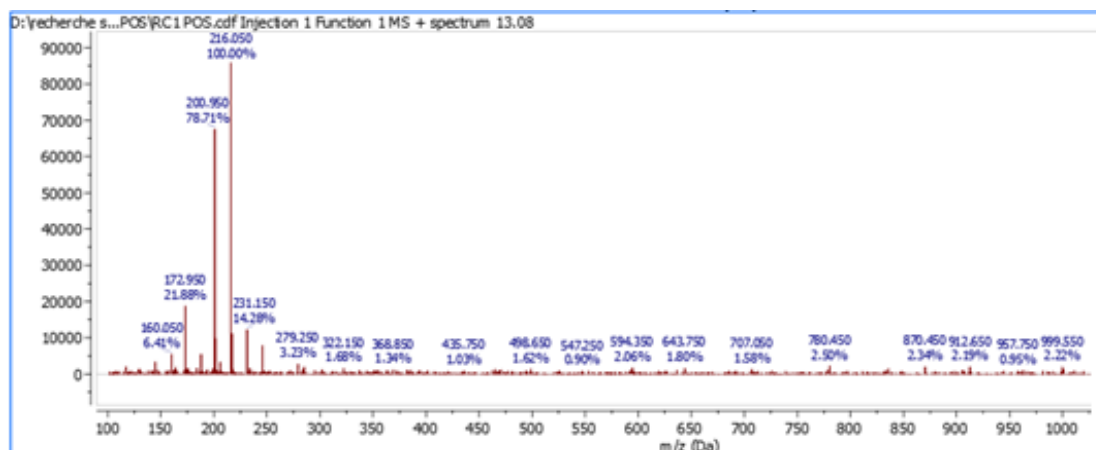


Figure 13. Spectre ESI/MS(+) de composé 3 (bergaptene).

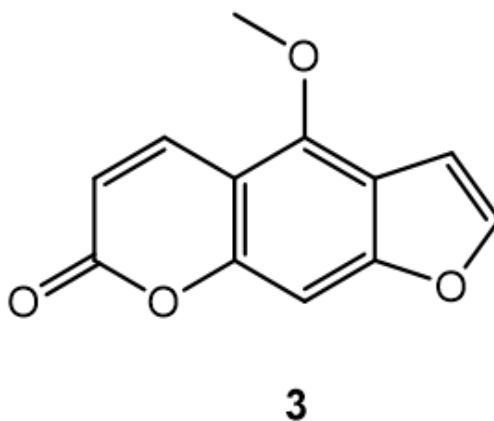


Figure 14. Les fragments typiques pour bergaptene (3).

I.7.1.2.4. Isoimpératorine

Par l'examen du spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 15**), on a observé la présence d'un pic moléculaire avec une masse de 270.250 g/mol, déjà rapporté pour la molécule isoimperatorine (**Figure 16**), identifié précédemment dans l'espèce étudiée (Szewczyk *et al*, (2022)). Cette molécule est confirmée par les pics de fragments à m/z 252.250, 224.250, 206.150, 175.850, 118.250 Da.

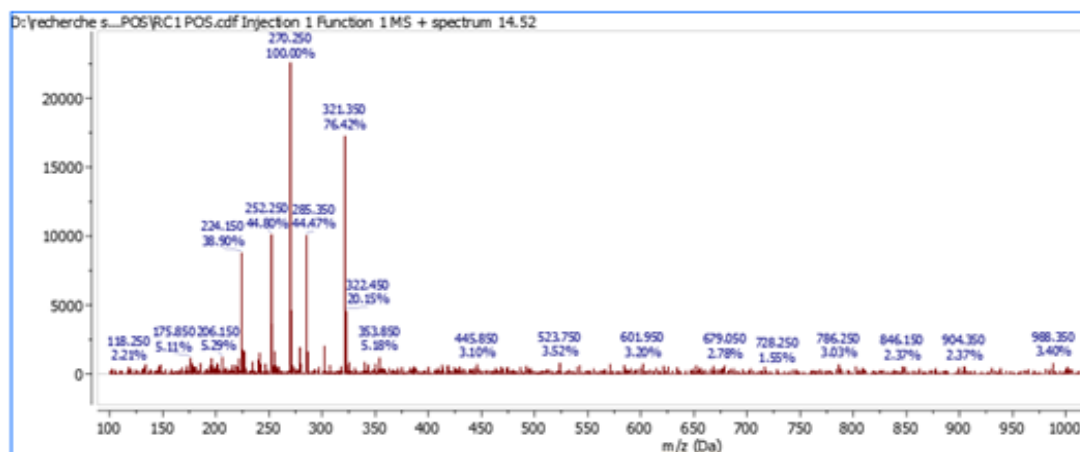


Figure 15. Spectre ESI/MS(+) de composé 4 (isoimperatorine).

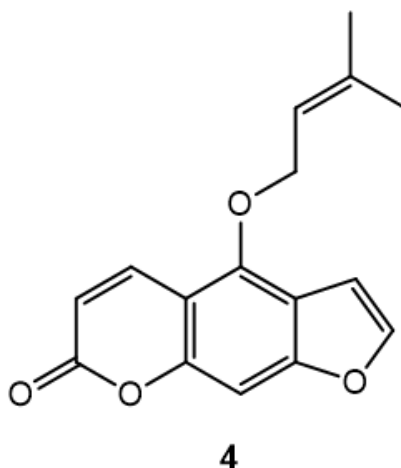


Figure 16. Les fragments typiques pour isoimperatorine (4).

I.7.1.2.5. Chalépine

Après l'examen du spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 17**), on a observé la présence d'un pic moléculaire avec une masse de 314.450 g/mol, déjà rapporté pour la molécule chalépine (**Figure 18**), identifié précédemment dans l'espèce étudiée (Altayeb *et al.*, 2024). Cette molécule est confirmée par les pics de fragments à m/z 272.350, 258.250, 254.250, 240.250, 200.050, 158.050 Da.

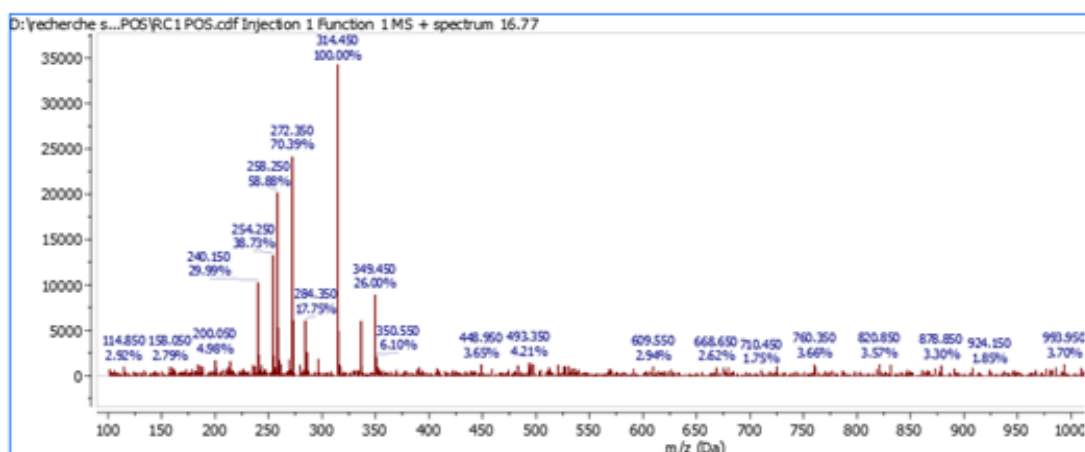


Figure 17. Spectre ESI/MS(+) de composé 7 (chalépine).

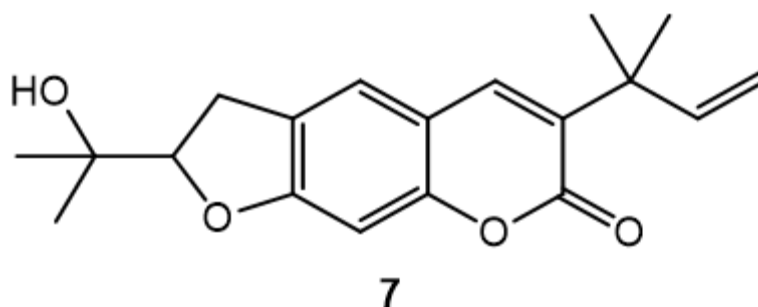


Figure 18. Les fragments typiques pour la chalépine (7).

I.7.1.2.6. Rutamarin

Après l'examen du spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 19**), on a observé la présence d'un pic moléculaire avec une masse de 356.450 g/mol, déjà rapporté pour la molécule rutamarine (**Figure 20**), identifiée précédemment dans l'espèce étudiée (Al-Majmaie *et al.*, 2021). Cette molécule est confirmée par les pics de fragments à m/z 314.35, 296.35, 286.45, 254.25, 240.25, 155.55 Da.

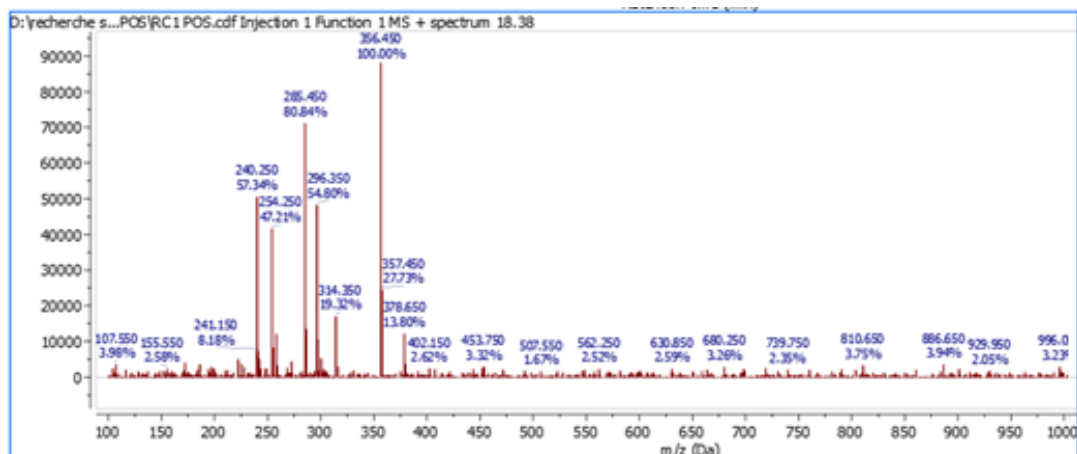


Figure 19. Spectre ESI/MS(+) de composé 9 (rutamarin).

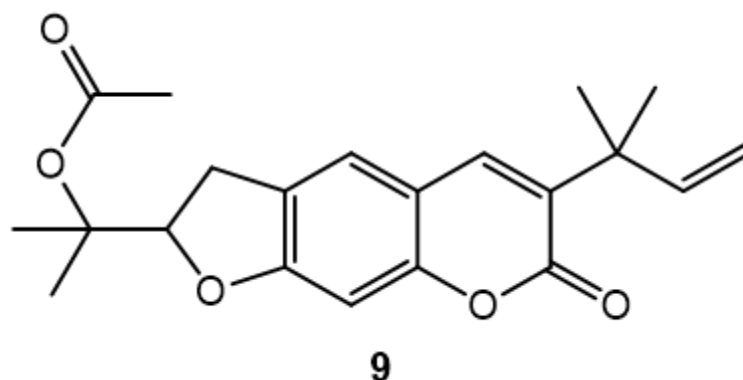


Figure 20. Les fragments typiques pour la rutamarin (9).

I.7.1.3. Beta Carotène

Après l'examen du spectre de masse ESI/MS(+) (**Figure 21**), on a observé la présence d'un pic moléculaire avec une masse de 536.660 g/mol, déjà rapporté pour la molécule β -carotène (**Figure 22**), identifié précédemment dans l'espèce étudiée (Althaher *et al.*, 2024). Cette molécule est confirmée par les pics de fragments à m/z 352.550, 313.550, 260.350 Da.

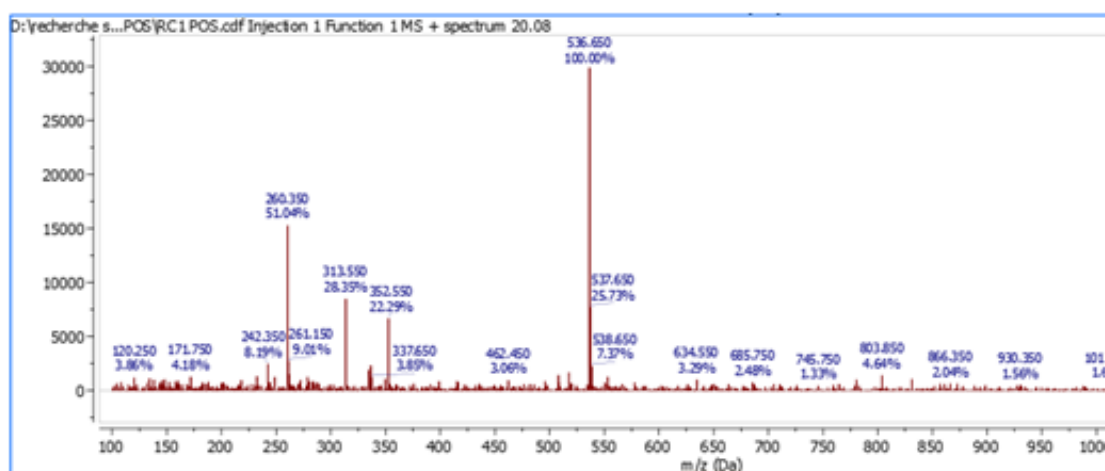


Figure 21. Spectre ESI/MS(+) de composé 11 (β -carotène).

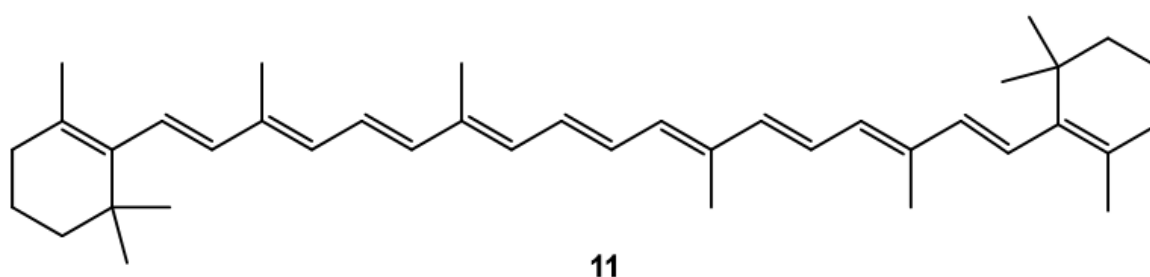


Figure 22. Les fragments typiques pour la β -carotène (11).

Tableau 3. Données obtenues des spectres de masse du profil LC-DAD-ESI/MS de l'extrait *R. chalepensis*.

N°.	t _R	Composé	MS	Ions positifs observés
1	8.416	Quercétine-3-O-glucoside	302.25	287.45, 218.35, 175.95
2	11.940	Gravéoline	279.25	216.15, 200.95, 173.5, 159.95, 144.85
3	13.081	Bergaptène	216.05	200.95, 172.95, 160.05
4	14.512	Isoimperatorine	270.25	252.25, 224.25, 206.15, 175.85, 118.25
5	15.546	Inconnu	243.25	170.95, 157.95
6	16.052	Inconnu	471.65	257.35, 202.05, 174.05, 146.05, 130.05
7	16.772	Chalépine	314.45	272.35, 258.25, 254.25, 240.25, 200.05, 158.05
8	17.952	Inconnu	271.45	234.05, 209.75, 158.05
9	18.377	Rutamarine	356.45	314.35, 296.35, 286.45, 254.25, 240.25, 155.55
10	19.265	Inconnu	352.55	334.55, 260.35, 242.15, 134.15
11	20.080	β -carotène	536.66	352.55, 313.55, 260.35
12	22.693	Inconnu	380.66	340.65, 284.45, 266.45, 248.05, 178.05
13	23.182	Inconnu	606.55	432.65, 322.65, 271.45, 218.05, 148.25
14	24.315	Inconnu	612.75	515.05, 428.75, 334.550, 164.05, 107.35

La littérature générale sur *R. chalepensis* corrobore la richesse de cette plante en composés phytochimiques, notamment les coumarines, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les phénols, qui sont souvent associés à ses activités biologiques. Bien que les études de Kacem *et al.*, (2015) et Bekkar *et al.*, (2021) ont mentionnés la présence des composés phénoliques et des coumarines. Cependant, la détection des composés : isoimpératorine, chalépine et Bêta-carotène dans les extraits de *R. chalepensis* est en accord avec plusieurs études (Mokhtar *et al.*, 2022 ; Sara Hussein Altayeb *et al.*, 2024 ; Althaher *et al.*, 2024)

I.7.2. Tests quantitatifs phytochimiques

I.7.2.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoides

Les propriétés biologiques (L'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante) de la plupart des extraits des plantes médicinales ont été attribuées à leurs teneurs en composés phénoliques. Pour cette raison, dans ce présent travail l'extraction de ces composés actifs à partir de *R. chalepensis* et la détermination de leurs teneurs ont été réalisés.

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols. Cette méthode a été choisie en raison de sa fiabilité et la disponibilité du réactif (Djeridane *et al.*, 2010). La concentration des polyphénols totaux de *R. chalepensis*, est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

Les résultats montrent que l'extrait de *R. chalepensis* après la floraison (EAPF) contient la plus grande concentration en polyphenols par rapport aux deux autres extraits avant la floraison (EAVF) et durant la floraison (EPF) (**Tableau 4**). Les études menées par Althaher *et al.*, (2024) en Jordanie ont estimé la teneur en polyphénols de l'extrait de *R. chalepensis* à $25,21 \pm 0,30$ mg GAE/g d'extrait. Ces résultats sont inférieurs à ceux de l'extrait de *R. chalepensis* après la floraison (EAPF). D'autres résultats rapportés par Kacem *et al.*, (2015) ont montré une concentration très élevée en polyphénols $142 \pm 4,24$ mg GAE/g d'extrait. De même Barbouchi *et al.*, (2024) ont montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *R. chalepensis* possède des teneurs en polyphénols plus élevées $163,72 \pm 0,72$ mg GAE/g d'extrait et ont mentionné que les fleurs de cette plante sont plus riches en polyphénols que les tiges et les feuilles. D'après une étude menée par Bekkar *et al.*, (2021) dans la région de Mascara, dans l'ouest de l'Algérie, la teneur en

polyphénols est deux fois et demi supérieure à celle de la présente étude. La plante *R. chalepensis* est une plante répartie dans la majorité des pays du bassin méditerranéen ; toutefois les conditions géographiques et climatiques peuvent entraîner des différences significatives sur les concentrations des composés bioactifs des plantes, ce qui se répercute sur leurs activités biologiques.

Concernant les flavonoïdes, leurs concentrations ont été déduites à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g} / \text{mL}$) et exprimée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait (mg EQ / g). Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 4**.

Les valeurs de la concentration en flavonoïdes des différents extraits ont varié entre $17,73 \pm 0,34$ et $27,15 \pm 0,28$ mg EQ/g d'extrait, la grande concentration a été observée dans l'extrait AVF poursuivi par l'extrait APF et enfin l'extrait PF. Ces résultats sont presque similaires à ceux trouvés par Barbouchi *et al.*, (2024), ($27,43 \pm 0,19$ μg EAG/mg d'extrait). Cependant, Bekkar *et al.*, (2021), ont estimés le contenu en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *R. chalepensis* à $67,69 \pm 0,0017$ μg EAG/mg d'extrait. Alors que Kacem *et al.*, (2015) ont obtenu une faible valeur ($9,32 \pm 0,44$ μg EAG/mg d'extrait) en utilisant le même solvant d'extraction mais avec des ratios différents. Les extraits de la même espèce collectés en Tunisie, au Maroc et en Algérie ont présenté des différences remarquables et cela est due à la variation des conditions climatiques et aussi à la période de collecte.

Tableau 4. Rendement d'extraction, teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de *R. Chalepensis*.

Extrait	Rendement (%) (w/w)	Teneur en polyphénols (mg GAE/g d'extrait)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)
EAVF	28,97	$78,00 \pm 0,12$	$27,15 \pm 0,28$
EPF	18,54	$70,36 \pm 0,04$	$17,73 \pm 0,34$
EAPF	16,00	$84,57 \pm 1,66$	$25,85 \pm 0,88$

Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ SD (n=3).

Les résultats obtenus confirment que *R. chalepensis* est une source notable de polyphénols et de flavonoïdes. La variabilité observée entre nos échantillons, notamment la concentration élevée en polyphénols de l'EAPF malgré un rendement d'extraction le plus faible, pourrait être liée à des différences dans la composition phytochimique influencées

par des facteurs tels que la période de récolte. La comparaison avec la littérature existante corrobore la richesse de *R. chalepensis* en métabolites secondaires bioactifs.

I.8. Activité antimicrobienne

I.8.1. Activité antibactérienne

I.8.1.1. Activité antibactérienne des trois extraits

Le développement de la résistance aux antibiotiques par les agents pathogènes a incité la communauté scientifique à mener un grand nombre de recherches afin de trouver des approches de traitement alternatives. La riche diversité des métabolites secondaires végétaux a été reconnue comme une ressource précieuse dans ce contexte (Vaou *et al.*, 2021). Dans cette étude, l'activité antibactérienne des extraits de *R. chalepensis* a été évaluée contre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Les diamètres des zones d'inhibition (ZI) ont été déterminés par la technique de diffusion sur disque. La lipophilie, la quantité du composé, le type de milieu de culture, le pH et le volume de gélose sont autant de facteurs susceptibles d'influencer significativement la zone d'inhibition. Pour garantir la cohérence et éviter des résultats faussement positifs ou négatifs, ces éléments doivent être rigoureusement évalués lors de l'utilisation de la technique de diffusion sur gélose (Pauli, 2006 ; Scorzoni *et al.*, 2016).

Sur la base des résultats obtenus (**Tableau 5**) et selon les critères de l'halo d'inhibition bactérienne mentionnés par Hendel *et al.*, (2024), une souche bactérienne est généralement classée comme sensible lorsque la zone d'inhibition (ZI) varie de 8 à 14 mm. Elle est très sensible de 14 à 20 mm, et extrêmement sensible lorsqu'elle dépasse 20 mm. Selon ces classifications, toutes les souches bactériennes testées étaient sensibles aux extraits de *R. chalepensis*, à l'exception d'*E. coli*, qui était résistante à l'extrait EAPF et de *P. vulgaris*, qui était résistante aux extraits EAPF et EAVF. Les souches bactériennes Gram-positives *E. faecalis* et *B. cereus* ont été les plus sensibles, généralement classées comme très sensibles, à l'exception de *B. cereus* avec l'extrait APF, qui a présenté une zone d'inhibition de 10 mm. En termes de puissance des extraits, l'extrait PF de *R. chalepensis* s'est avéré le plus efficace, montrant l'action inhibitrice la plus forte contre toutes les souches bactériennes testées, en particulier contre les souches Gram négatives. Ce résultat concorde avec les données rapportées par Althaher *et al.*, (2024) ; l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* a montré un effet antibactérien contre *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *P. penneri*. Une étude menée par Mokhtar *et al.*, (2022) a rapporté une activité antibactérienne d'un extrait de *Ruta graveolens* contre *Staphylococcus aureus*, avec une

zone d'inhibition de 14 mm, ce qui est légèrement supérieur à celle observée dans nos résultats.

Tableau 5. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des bactéries, manifestées par les trois extraits EAVF, EPF, EAPF, et l'ampicilline (standard).

Souches bactériennes	Diamètre d'inhibition (mm)			
	EAVF	EPF	EAPF	Ampicilline
<i>S. aureus</i>	11,67 ± 0,58 ^a	12,67 ± 1,08 ^a	10,00 ± 1,00 ^a	29,67 ± 1,53
<i>B. subtilis</i>	8,67 ± 0,58 ^a	8,67 ± 0,58 ^a	8,67 ± 0,58 ^a	19,67 ± 1,53
<i>E. faecalis</i>	15,33 ± 0,58 ^a	17,00 ± 1,00 ^{ab}	14,67 ± 0,58 ^{ab}	23,00 ± 1,00
<i>B. cereus</i>	10,33 ± 0,58	18,00 ± 1,00 ^a	17,67 ± 0,58 ^a	24,33 ± 1,53
<i>E. coli</i>	6 ± 0,47	12,67 ± 0,47	9,67 ± 0,47	17,67 ± 0,47
<i>K. pneumonia</i>	11,58 ± 0,47 ^a	10,00 ± 1,00 ^{ab}	8,67 ± 0,58 ^b	17,33 ± 1,53
<i>P. vulgaris</i>	6 ± 0,47 ^a	12,67 ± 1,00	6 ± 0,47 ^a	18,67 ± 1,53

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures (n=3). à: p<0.05 ; b<0,01; ab<0,01

L'activité antibactérienne des extraits de plantes pourrait être favorisée par les teneurs en flavonoïdes, en polysaccharides et par d'autres substances phénoliques (Musyimi *et al.*, 2007 ; Álvarez-Ordóñez *et al.*, 2013). Une des actions de ces substances se manifeste sur la H⁺-ATPase de la membrane plasmique (Trigui *et al.*, 2013). Les polyphénols présentent aussi des propriétés antibactériennes en ciblant les structures cellulaires bactériennes. Ils ont la capacité de déclencher la condensation membranaire et des altérations morphologiques telles que la déformation cellulaire et la rupture de la paroi bactérienne. Cette perturbation de la paroi bactérienne conduit à la libération de matériel cytoplasmique et de débris membranaires. Le processus fondamental est que la paroi bactérienne et la membrane bactérienne deviennent plus perméables (Wang *et al.*, 2017 ; Álvarez-Martínez *et al.*, 2020).

I.8.1.2. Comparaison des extraits de *R. chalepensis* avec l'ampicilline

Les résultats ont montré que l'extrait AVF a présenté une activité antibactérienne, mais elle est considérablement plus faible que celle de l'ampicilline sur toutes les souches testées.

L'EAVF a une activité modérée sur *S. aureus* (11,67 mm), mais elle est plus de deux fois et demi inférieure à celle de l'ampicilline (29,67 mm), par contre elle est faible sur *B. subtilis* (8.67 mm) et *B. cereus* (10,33 mm), moins de la moitié de celle de

l'ampicilline (19,67 mm) et (24,33 mm) respectivement. Concernant la souche *E. faecalis*, L'EAVF montre une activité notable (15,33 mm), mais toujours significativement inférieure à celle de l'ampicilline (23,00 mm). L'EAVF est très faiblement actif sur *E. coli* (6 mm) et *P. vulgaris* (6 mm), soit trois fois moins efficace que l'ampicilline (17,67 mm) et (18,67 mm) respectivement. Enfin, une activité modérée a été remarquée avec *K. pneumonia* (11,58 mm) mais inférieure à celle de l'ampicilline (17,33 mm). En résumé l'EAVF est le moins actif des trois extraits de *R. chalepensis*. Son efficacité est marginale sur plusieurs souches Gram-négatif comme *E. coli* et *P. vulgaris* par rapport à l'ampicilline.

L'EPF se distingue comme le plus actif des trois extraits mais son efficacité reste inférieure à celle de l'ampicilline, il a présenté une activité modérée vis-à-vis *S. aureus* et *K. pneumonia* (12,67 mm) et (10,00 mm) respectivement mais l'ampicilline reste largement supérieure (29,67 mm) et (17,33 mm) respectivement. L'activité a été faible contre *B. subtilis* (8,67 mm), représentant moins de la moitié de l'activité de l'ampicilline (19,67 mm). *E. faecalis* était sensible (17,00 mm) et se rapprochant plus de celle de l'ampicilline (23,00 mm) que les autres extraits. La très forte activité a été remarquée avec *B. cereus* (18,00 mm) bien qu'elle soit inférieure à celle de l'ampicilline (24,33 mm). *E. coli* avec (12,67 mm) a donné une sensibilité notable à l'extrait, bien que l'ampicilline (17,67 mm) soit encore plus puissante. Une activité significative a été observée contre *P. vulgaris* par l'EPF (12,67 mm), bien qu'elle soit moins efficace que l'ampicilline (18,67 mm). En résumé, cet extrait est le plus prometteur des trois. Son efficacité est relativement élevée, statistiquement de l'ampicilline sur des souches comme *B. cereus*, *E. faecalis* et *E. coli*.

L'EAPF a une activité comparable à celle de l'EPF sur certaines souches, mais il est globalement moins constant dans son efficacité. La souche *S. aureus* (10,00 mm) a présenté une sensibilité modérée, nettement inférieure à celle de l'ampicilline (29,67 mm). L'activité contre *B. subtilis* (8,67 mm) et *K. pneumonia* (8,67 mm) est faible et identique à celle des deux autres extraits, soit respectivement inférieures de la moitié de l'activité de l'ampicilline (19,67 mm) et (17,33 mm). La souche bactérienne *B. cereus* a donné la plus grande zone d'activité (17,67 mm) relativement proche de celle de l'ampicilline (24,33 mm). L'EAPF (14,67 mm) est actif sur *E. faecalis*, mais moins que l'EPF et moins que l'ampicilline (23,00 mm). L'EAPF (9,67 mm) est aussi un peu actif sur *E. coli*, mais moins que l'EPF et l'ampicilline (17,67 mm), enfin, *P. vulgaris* est très faiblement sensible à L'EAPF (6 mm) et nettement moins efficace que l'ampicilline (18,67 mm). En résumé

l'EAPF, montre une bonne performance sur certaines souches comme *B. cereus*, mais son efficacité est plus faible sur d'autres comme *K. pneumonia* et *P. vulgaris*. Comme les autres extraits, leur activité n'atteint jamais celle de l'ampicilline.

1.8.1.3. Détermination des CMI et CMB des souches bactériennes

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des trois extraits de *R. chalepensis* : EAVF ; EPF et EAPF a donné les résultats illustrés dans le **Tableau 6**. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits a révélé des valeurs de CMI allant de 1,95 à 31,25 mg/mL. Les valeurs de CMI révèlent que les souches les plus sensibles à l'EAVF sont dans l'ordre suivant : *B. subtilis* ; *E. faecalis* et *B. cereus* ; *K. pneumonia* ; *S. aureus* et *E. coli*. Pour l'EPF, l'ordre des bactéries les plus sensibles est : *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumonia* ; *P. vulgaris* ; *B. subtilis*, *E. faecalis* et *B. cereus*. Alors que les souches les plus sensibles à l'EAPF sont *E. coli*, *K. pneumonia* et *S. aureus* ; *E. faecalis*, *B. cereus* et *B. subtilis*.

L'EPF et l'EAPF étaient particulièrement efficaces contre *E. coli*, *K. pneumonia* et *S. aureus*. Ces résultats diffèrent des recherches antérieures, telles que celle d'Althaher *et al.*, (2024), qui ont rapporté une valeur inférieure d'un extrait éthanolique de *R. chalepensis* avec une CMI pour *E. coli* de 50 µg/mL. Les extraits PF et APF montrent une activité antibactérienne, mais avec une concentration plus élevée que celle de l'extrait au méthanol de l'étude de Szewczyk *et al.*, (2022). Bekkar et ses collaborateurs, (2021) ont étudié des extraits méthanoliques de *R. chalepensis*, leurs CMI ont varié entre 50 et 100 mg/mL ; ce qui sont plus élevées que celles obtenues dans cette étude.

Les valeurs des concentrations minimales bactéricides (CMB) étaient généralement plus élevées que les CMI. Pour *E. faecalis* et *B. subtilis*, les CMI et les MBC étaient égales, démontrant une action bactéricide à des concentrations inhibitrices de croissance. Ceci concorde avec les travaux de Nazzaro *et al.*, (2013), qui ont noté des effets bactéricides plus forts des extraits de plantes contre les bactéries Gram-positives. La puissante activité antibactérienne contre les principaux pathogènes, ainsi que des CMI, font de *R. chalepensis* un agent antimicrobien naturel prometteur, particulièrement pertinent dans le contexte de la résistance croissante aux antibiotiques. Les variations d'activité observées selon les stades phénologiques (EPF et EAPF étant plus efficaces) suggèrent que le moment de la récolte influence significativement le potentiel antimicrobien de l'extrait, probablement en raison de différences dans les profils de composés bioactifs.

Tableau 6. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Concentrations minimales bactéricides (CMB) des trois extraits AVF, PF, APF vis –à-vis des bactéries testées en utilisant la méthode des micro-dilutions.

Souches bactériennes	CMI (mg/mL)			CMB (mg/mL)		
	EAVF	EPF	EAPF	EAVF	EPF	EAPF
<i>S. aureus</i>	15,62	1,95	1,95	31,24	7,8	7,8
<i>B. subtilis</i>	1,95	7,81	15,62	3,9	15,62	15,62
<i>E. faecalis</i>	3,9	7,81	7,81	3,9	15,62	15,62
<i>B. cereus</i>	3,9	7,81	7,81	7,8	15,62	15,62
<i>E. coli</i>	31,25	1,95	1,95	62,5	7,8	15,62
<i>K. pneumonia</i>	7,81	1,95	1,95	15,62	3,9	7,8
<i>P. vulgaris</i>	–	3.9	–	–	7.8	–

1.8.2. Activité Antifongique

1.8.2.1. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des disques

Dans ce test la capacité des EAVF ; EPF et EAPF à inhiber la croissance fongique a été évaluée contre huit champignons filamenteux à savoir *Aletrnaria alternata* ; *Asergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* ; *Diplodia mutila* MAEC09 ; *Diplodia corticola* ; *Neofusicoccum parvum* MAEC 36 ; *Diplodia corticola* MAEC 18 en utilisant une concentration de 500 mg/mL avec un volume de 30 µL /disque.

Les résultats obtenus (**Tableau 7**), montrent qu'après 72 h d'incubation l'effet antifongiques des trois extraits de *R. chalepensis* (EAVF, EPF et EAPF) sur les différentes souches fongiques montre des variations significatives dans leur efficacité. L'efficacité est exprimée par la mesure du diamètre des ZI en millimètres (mm). Une valeur plus élevée indique une meilleure inhibition de la croissance fongique. La levure *Candida albicans* 10231 a présenté la plus grande valeur de (DI) avec l'EAVF ($15,00 \pm 0,00$ mm) suivi par l'EPF ($12,67 \pm 0,67$ mm) alors que l'EAPF a donné une faible valeur de ($9,67 \pm 0,67$ mm). Concernant la souche fongique *Alternaria alternata*, l'extrait AVF est le plus efficace ($14,33 \pm 1,15$ mm), suivi de l'EAPF ($12,67 \pm 2,52$ mm) et de l'EPF ($10,67 \pm 1,15$ mm) ; l'EAVF a été plus efficace sur la souche d'*Aspergillus flavus* ($12,33 \pm 2,52$ mm), tandis que l'EAPF montre une efficacité modérée ($10,33 \pm 0,58$ mm). La souche fongique *Fusarium oxysporum* a présenté une sensibilité envers l'EPF ($15,33 \pm 0,58$ mm) et une sensibilité modérée ($10,33 \pm 0,58$ mm) envers l'EAVF ; ces résultats sont en accord avec ceux mentionné par Al-ajlouni *et al.*, (2023) qui ont rapportés que leurs extraits

éthanoliques montraient des effets inhibiteurs contre *Fusarium oxysporum*, (12,33 mm). Les deux extraits APF et PF ont exercés un effet antifongique modérée contre la souche *Fusarium culinum* (11,67 ± 1,53 mm) et (10,33 ± 0,58 mm) respectivement. Un diamètre d'inhibition très remarquable a été signalé par EAPF contre la souche fongique *Diplodia mutila MAEC09* (20,67 ± 1,15 mm) suivi par l'EPF (16,00 ± 1,00 mm) et l'EAVF (14,67 ± 0,58 mm). L'extrait APF est plus efficace contre la souche *Diplodia corticola* (13,67 ± 1,53 mm), suivi de l'EAVF (12,00 ± 2,00 mm). Pour l'extrait APF a permis de produire des DI importants envers la souche *Neofusicoccum parvum MAEC 36* (13,33 ± 2,89 mm), suivi de l'EAVF (11,67 ± 2,89 mm) et de l'EPF (10,00 ± 0,00 mm). Enfin la souche *Diplodia corticola MAEC 18* a été moins résistante à l'extrait PF (13,67 ± 3,21 mm) suivi de l'EAPF (10,67 ± 0,58 mm).

Tableau 7. Zones d'inhibition des champignons filamenteux produites par l'effet des trois extraits AVF, PF, APF après 72 h d'incubation à 28 °C (DI en mm).

	Diamètre d'inhibition (mm)		
	EAVF	EPF	EAPF
<i>Candida albicans 10231</i>	15,00 ± 0,00	12,67 ± 0,67	9,67 ± 0,67
<i>Aletrnaria alternata</i>	14,33 ± 1,15	10,67 ± 1,15	12,67 ± 2,52
<i>Aspergillus Flavus</i>	12,33 ± 2,52	ND	10,33 ± 0,58
<i>Fusarium oxysporum</i>	10,33 ± 0,58	15,33 ± 0,58	ND
<i>Fusarium culmorum</i>	ND	10,33 ± 0,58	11,67 ± 1,53
<i>Diplodia mutila MAEC09</i>	14,67 ± 0,58	16,00 ± 1,00	20,67 ± 1,15
<i>Diplodia corticola</i>	12, 00 ± 2,00	ND	13,67 ± 1,53
<i>Neofusicoccum parvum MAEC36</i>	11,67 ± 2,89	10,00 ± 0,00	13,33 ± 2,89
<i>Diplodia corticola MAEC18</i>	ND	13,67 ± 3,21	10.67 ± 0,58

Valeurs exprimées en moyenne ± SD (n = 3 mesures). ND, non déterminé.

Chaque extrait montre une efficacité sélective en fonction de la souche fongique ciblée. L'EAVF est le plus efficace contre *Alternaria alternata* et *Aspergillus flavus*, l'EPF est le plus efficace contre *Fusarium oxysporum* et la souche *Diplodia corticola MAEC 18*. L'EAPF est le plus efficace contre *Fusarium culinum*, *Diplodia mutila MAEC09*, *Diplodia corticola* et *Neofusicoccum parvum MAEC 36*. Par contre, une étude menée par Kacem et al., (2015) n'a montré aucune activité antifongique vis-à-vis des souches fongiques testées, contrairement aux résultats obtenus dans cette étude.

Ces variations suggèrent que la composition phytochimique de *R. chalepensis* change en fonction du stade phénologique, ce qui affecte son pouvoir antifongique contre

différentes espèces fongiques. L'extrait APF semble avoir le spectre d'action le plus large, étant le plus efficace contre la majorité des souches testées.

I.8.2.2. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode d'incorporation direct de l'extrait dans le milieu de culture

L'activité antifongique des plantes étudiées a été aussi évaluée par le test des extraits de la plante *R. chalepensis* ; EAVF ; EPF et EAPF par l'incorporation au milieu de culture. Le test a été réalisé vis-à-vis trois souches fongiques : *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*. L'effet de concentrations progressives des extraits a été mesuré quotidiennement et comparé à celle du témoin (milieu sans extrait). Le pourcentage d'inhibition est calculé au 7^{ème} jour.

I.8.2.2.1. Effet de l'extrait vis-à-vis de la souche *Alternaria alternata*

La **Figure 23** illustre clairement une variation de l'activité antifongique des extraits en fonction du stade de floraison de la plante. L'ordre d'efficacité pour inhiber la croissance du champignon *Alternaria alternata* est le suivant : (EAVF) > (EAPF) > (EPF) > Témoin (Contrôle). La courbe du témoin (milieu sans extrait) montre la croissance normale du champignon. La croissance est exponentielle et atteint un pic au 5^{ème} jour, ce qui est significativement plus élevé que tous les extraits. L'effet le plus puissant a été remarqué avec l'EAVF, il a complètement inhibé la croissance du champignon pendant les 5 jours d'observation, ce qui est en concordance avec l'étude de Akroum et Rouibah, (2020) qui ont conclu que *R. officinalis* et *L. angustifolia* sont les plus actifs contre *Alternaria alternata*. La courbe de l'EAVF reste stationnaire, indiquant que le champignon n'a pas pu se développer, c'est l'extrait le plus efficace. L'extrait APF montre une certaine activité antifongique, mais moins que l'EAVF, le champignon a une croissance très lente et limitée, atteignant une petite croissance vers le 5^{ème} jour, mais elle est très loin de la croissance observée avec le témoin. L'extrait PF a manifesté l'effet inhibiteur le plus faible parmi les trois extraits. La croissance du champignon est certes ralentie par rapport au témoin, mais elle est bien plus importante que celle observée avec l'EAVF et l'EAPF. On note une reprise de la croissance à partir du 3^{ème} jour.

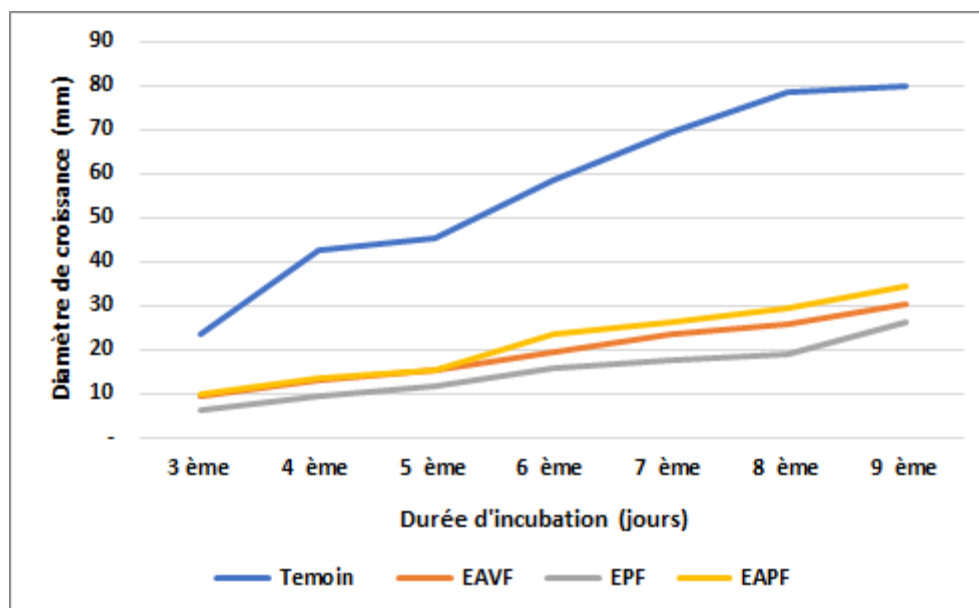


Figure 23. Croissance du champignon *Alternaria alternata* (diamètre du thalle en mm) sur PDA sous l'effet des extraits AVF ; PF ; APF et le témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne $\pm$ SEM chacune (n = 3).

I.8.2.2.2. Effet de l'extrait vis-à-vis de la souche *Fusarium oxysporum*

Les trois extraits de *R. chalepensis* EAVF, EPF, EAPF ont un effet inhibiteur sur la croissance du champignon *Fusarium oxysporum* par rapport au groupe témoin. Le diamètre de croissance du champignon en présence d'extraits reste nettement inférieur à celui du témoin tout au long de la période de 9 jours (**Figure 24**).

Une croissance rapide et constante, du champignon, a été observée en absence d'extrait. Son diamètre atteint environ 80 mm au 9^{ème} jour, confirmant une forte vitalité du champignon en l'absence d'agent inhibiteur. Alors que Les trois extraits (EAVF, EPF, EAPF) montrent une croissance beaucoup plus lente et similaire entre eux. La courbe peut être divisée en deux phases : La phase initiale (3^{ème} au 6^{ème} jour), les trois extraits présentent une croissance presque identique, avec un diamètre d'environ 20-25 mm au 6^{ème} jour. À ce stade, il n'y a pas de différence significative entre les extraits. La phase finale (7^{ème} au 9^{ème} jour), les courbes des extraits se rejoignent et se stabilisent autour de 30-32 mm au 9^{ème} jour. On remarque qu'il n'y a pas de différence notable en termes d'efficacité finale entre les extraits prélevés à différents stades de floraison. La souche *Fusarium oxysporum* était sensible aux extraits ethanologiques de *Terminalia ivorensis* d'après une étude menée par Angaman *et al* (2018).

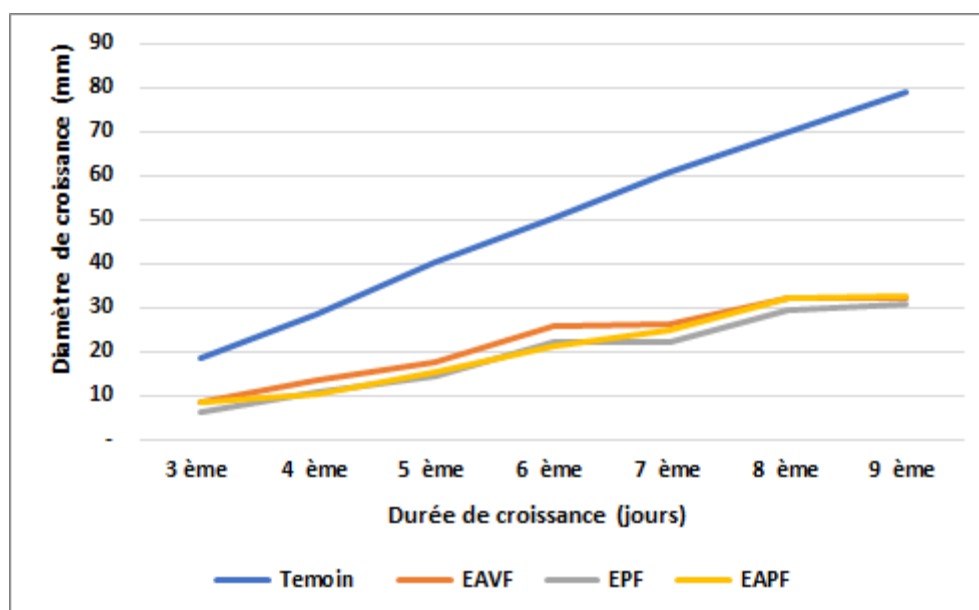


Figure 24. Croissance du champignon *Fusarium oxysporum* (diamètre du thalle en mm) sur PDA sous l'effet des extraits AVF ; EPF ; PF et le témoin. Les données sont présentées sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 3$).

I.8.2.2.3. Effet des extraits vis-à-vis de la souche *Fusarium culmorum*

Les trois extraits de *R. chalepensis* EAVF, EPF, EAPF ont un effet inhibiteur sur la croissance du champignon *Fusarium culmorum* par rapport au groupe témoin (**Figure 25**). Le diamètre de croissance des colonies traitées est systématiquement inférieur à celui du témoin tout au long de la période d'incubation.

Une croissance très rapide du champignon en absence d'extraits. Le diamètre atteint son maximum, environ 80 mm, dès le 6^{ème} jour d'incubation et se stabilise par la suite. Les deux extraits PF et APF ont montré une efficacité similaire et sont les plus inhibiteurs. La croissance est la plus lente jusqu'au 7^{ème} jour mais à partir du 8^{ème} jour, la croissance augmente brusquement et se stabilise autour de 75-78 mm au 9^{ème} jour, se rapprochant de celle du témoin. Alors que l'EAF a été moins efficace des trois, la croissance était plus rapide que celle en présence de deux autres extraits, et son diamètre final au 9^{ème} jour est d'environ 65 mm.

Les extraits de *R. chalepensis* prélevés pendant la floraison et après la floraison sont les plus efficaces pour inhiber la croissance de *Fusarium culmorum* au début de l'incubation. Cependant, leur effet s'estompe fortement après le 7^{ème} jour, permettant au champignon de rattraper une grande partie de sa croissance ; Ces résultats sont identiques à ceux décrits dans l'étude de Nouichi *et al.*, (2022) qui ont travaillé sur l'huile de *Myrtus*

communis. L'extrait prélevé avant la floraison est le moins efficace pour inhiber la croissance du champignon sur toute la durée de cette expérience.

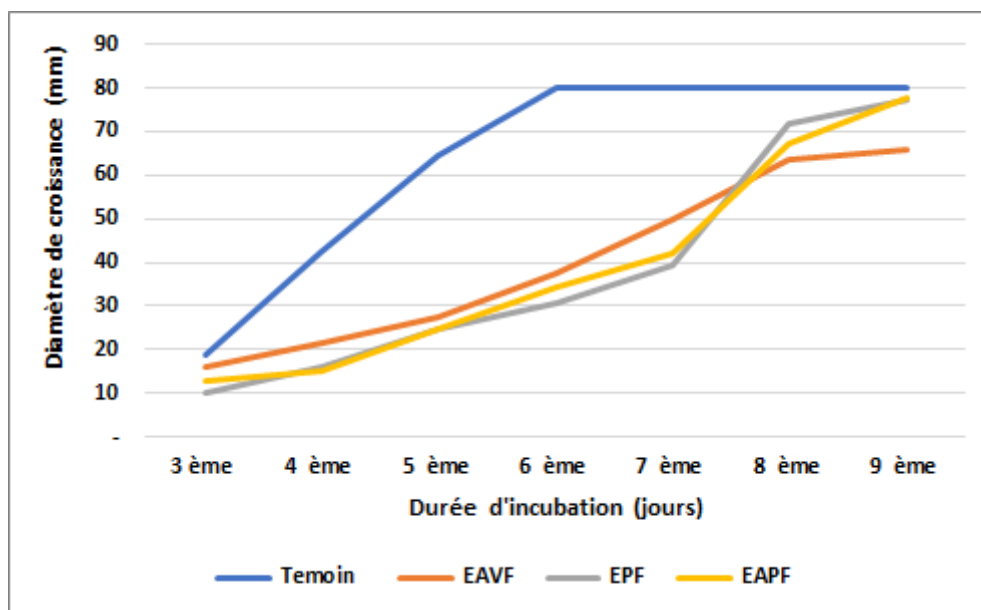


Figure 25. Croissance du champignon *Fusarium culmorum* (diamètre du thale en mm) sur PDA sous l'effet des extraits AVF ; PF ; APF et le témoin, les données sont présentées sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 3$).

I.9. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *R. chalepensis* a été évaluée par quatre méthodes : Test antiradicalaire (test au DPPH), la méthode de blanchiment du Béta-carotène, l'évaluation du pouvoir réducteur (FRAP) et le test de capacité antioxydante totale (CAT).

I.9.1. Test de DPPH

L'activité antiradicalaire a été réalisée par la méthode du radical DPPH qui est une méthode fréquemment utilisée due à sa simplicité. Elle est basée sur la détermination de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH à 517 nm qui est due à sa réduction en une forme non radicalaire DPPH – H.

La capacité de donner l'atome d'hydrogène ou l'électron des extraits hydrométhanolique de *R. chalepensis* a été mesurée à partir de la décoloration de la solution méthanolique violette du DPPH mesurable à 517 nm pour donner une couleur jaune (**Figure 26**). Ce radical libre stable est largement utilisé pour tester la capacité des composés à agir comme piègeurs de radicaux libres ou de donneurs d'hydrogène, et

d'évaluer l'activité antioxydante des aliments (Esmaeili and Sonboli, 2010). L'activité de piégeage du radical libre DPPH dépend de la capacité de sa décoloration en présence d'antioxydants (Sourov *et al.*, 2014).

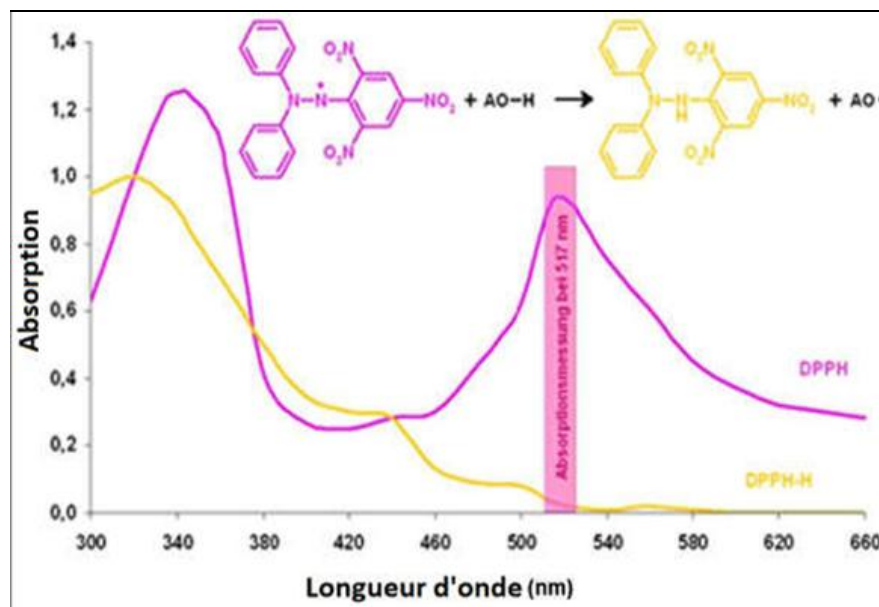


Figure 26. Graphique montrant le changement de couleur du DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante (Pérez and Aguilar, 2013).

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire pour la plupart des extraits, qui signifie la réduction maximale du DPPH• en sa forme non radicalaire, comparativement à l'activité anti-radicalaire d'un antioxydant standard (BHT).

Les résultats de la **Figure 27** montrent que les extraits hydromethanoliques de *R. Chalepensis* possèdent un effet piégeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH•. Les profils obtenus révèlent que les extraits étudiés ont une activité antiradicalaire concentration dépendante.

La présente étude a permis d'évaluer l'activité de piégeage du radical DPPH des trois extraits de *R. chalepensis* : EAVF, EPF et EAPF, ainsi que du BHT comme standard synthétique. Nos résultats révèlent une efficacité antioxydantes variables entre les extraits et le standard. À une concentration de 40 µg/mL, l'EAVF a exercé une activité significative de piégeage du radical DPPH• avec un taux d'inhibition de 89,38 %. L'EPF a présenté un pourcentage d'inhibition plus élevé de 93,01 % à une concentration de 60 µg/mL. Il est à noter que l'extrait EAPF a montré une activité considérable à une concentration plus faible,

affichant 75,91 % d'inhibition à 20 µg/mL. À titre de comparaison, le BHT, un antioxydant synthétique, a donné une valeur de 82,56 % d'inhibition à 30 µg/mL (**Figure 27**).

Afin de quantifier davantage leur puissance antioxydante, les valeurs des CI_{50} ont été déterminées (**Tableau 8**). L'extrait APF a présenté la valeur d' CI_{50} la plus basse, soit $14,18 \pm 1,02$ µg/mL, ce qui indique son activité de piégeage de radicaux supérieure aux autres extraits testés. Il est suivi par l'EAVF avec une CI_{50} de $22,04 \pm 1,16$ µg/mL, et l'EPF avec une CI_{50} de $30,96 \pm 1,80$ µg/mL. Ces valeurs des CI_{50} sont légèrement supérieures à celle du standard BHT ($12,89 \pm 0,38$ µg/mL), mais celle de l'EAPF est la plus proche, ce qui suggère que cet extrait possède une capacité antioxydante comparable à celle de cet antioxydant synthétique.

Tableau 8. Valeurs de CI_{50} des extraits hydrométhanoliques de la plante *R. chalepensis* et celles de l'antioxydant synthétique BHT.

Extrait	DPPH (CI_{50} , µg/mL)	Beta -carotène (CI_{50} , µg/mL)	Pouvoir réducteur (EC_{50} , µg/mL)	TAC (µg EVC / mg d'extrait)
EAVF	$22,04 \pm 1,16$	$47,81 \pm 0,74$	$100,61 \pm 1,25$	$125,12 \pm 2,47$
EPF	$30,96 \pm 1,80$	$34,86 \pm 0,78$	$139,99 \pm 2,08$	$160,59 \pm 5,78$
EAPF	$14,18 \pm 1,02$	$49,06 \pm 0,15$	$108,53 \pm 3,50$	$136,03 \pm 1,46$
BHT	$12,89 \pm 0,38$	$95,54 \pm 0,18$	$28,05 \pm 0,31$	ND

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SD (n = 3 mesures). ND, non déterminé.

Ces résultats sont en accord avec des recherches antérieures soulignant le potentiel antioxydant significatif de *R. chalepensis*. Bekkar *et al.*, (2021) ont étudié l'effet antioxydant d'extraits de *R. chalepensis* de Mascara, dans l'ouest de l'Algérie, en utilisant des essais de piégeage du radical DPPH. Ils ont rapporté une valeur de CI_{50} de 206 µg/mL pour l'extrait aqueux de *R. chalepensis* qui est supérieure aux CI_{50} obtenus, suggérant que nos extraits sont potentiellement plus puissants, ce qui pourrait être attribué à des différences dans les solvants d'extraction, les parties de plantes utilisées, l'origine géographique ou la période de récolte. Szewczyk *et al.*, (2022) ont également évalué la capacité antioxydante d'extraits méthanoliques de cultures de *R. chalepensis* *in vitro* par des essais au DPPH. Ils ont constaté que l'extrait de *R. chalepensis* montrait une meilleure activité de piégeage des radicaux. Les valeurs des CI_{50} des trois extraits sont

significativement plus faibles que celle-ci, ce qui pourrait être dû à la différence entre les extraits de plantes entières et les cultures *in vitro*, ces dernières pouvant avoir des profils ou des concentrations de métabolites secondaires différents. De plus, Althaher *et al.*, (2024) ont évalué l'activité antioxydante d'un extrait éthanolique de *R. chalepensis* et ont rapporté une CI_{50} de $41,2 \pm 0,1$ $\mu\text{g/mL}$ pour l'inhibition du radical DPPH. Notre extrait APF avec une CI_{50} de $14,18$ $\mu\text{g/mL}$ montre un effet antioxydant nettement plus fort comparé à l'extrait éthanolique de leur étude, tandis que l'EAVF et l'EPF avec des CI_{50} de $22,04$ $\mu\text{g/mL}$ et de $30,96$ $\mu\text{g/mL}$ respectivement, démontrent également des activités supérieures ou comparables. Cela confirme davantage la puissante capacité antioxydante de *R. chalepensis* et souligne l'impact des paramètres d'extraction sur l'activité résultante. Mokhtar *et al.*, (2022) ont également souligné que les espèces de Ruta, y compris *R. chalepensis* et *R. graveolens*, sont répandues en Algérie et contiennent des antioxydants naturels tels que les polyphénols. Bien qu'ils se concentrent spécifiquement sur *R. graveolens* en ce qui concerne l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques, leur conclusion générale sur *R. chalepensis* est renforcé par la présence de composés antioxydants.

La forte activité antioxydante observée dans les extraits de *R. chalepensis*, en particulier l'EAPF, peut être attribuée à leur riche composition phytochimique, comprenant des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres métabolites secondaires connus pour leurs propriétés de piégeage de radicaux ; ce qui a été démontré par l'analyse chimique qui a été réalisée dans cette étude, les variations des valeurs des CI_{50} entre nos extraits et en comparaison avec la littérature proviennent probablement des différences dans le type d'extrait (EAVF, EPF, EAPF), des concentrations spécifiques de composés actifs qu'ils contiennent, et potentiellement des facteurs environnementaux affectant le métabolisme de la plante au moment de la collecte. La forte activité antioxydante de *R. chalepensis* confirme ses usages médicaux traditionnels et suggère son potentiel en tant que source d'antioxydants naturels pour des applications pharmaceutiques ou alimentaires.

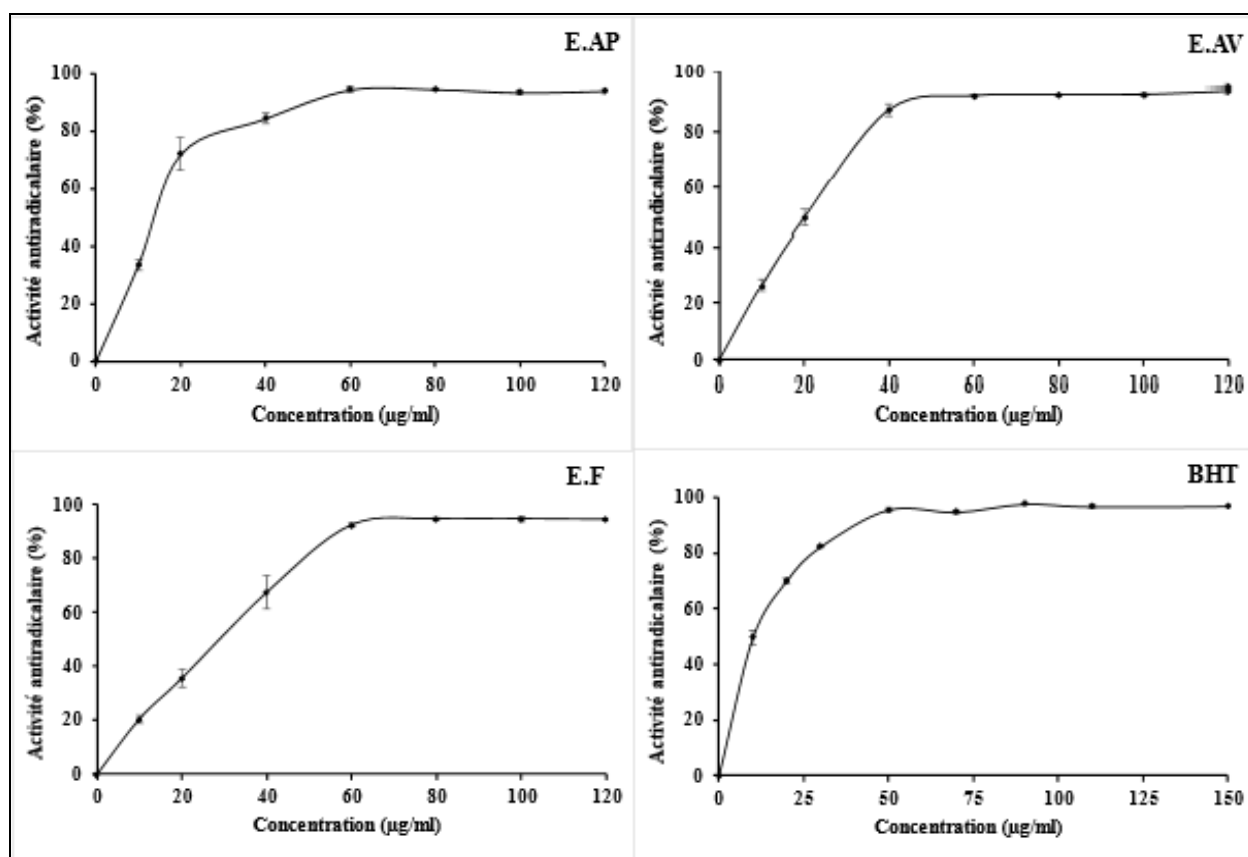


Figure 27. Activité antiradicalaire des extraits hydrométhanoliques EAPF, EAVF, EPF de *R chalepensis* et du BHT vis-à-vis du radical DPPH•. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais $\pm$ SD.

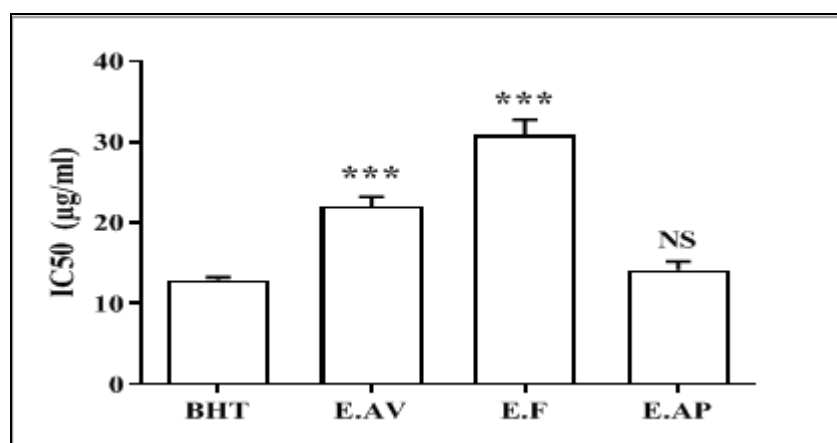


Figure 28. Effet scavenger du radical DPPH des extraits EAVF, EPF, EAPF de *R chalepensis*, exprimé par les valeurs des CI₅₀ (µg/ml). CI₅₀ = moyenne $\pm$ SD (n = 3). ***: p < 0.001, NS: non significatif, comparant avec le BHT.

1.9.2. Test de Blanchiment de Béta-carotène

La technique du β -carotène/acide linoléique permet d'évaluer l'activité antioxydante des extraits hydro- méthanolique, par inhibition de la peroxydation des lipides en suivant l'absorbance pendant 120 minutes. La cinétique de Blanchiment du β carotène en absence et en présence des extraits est représentée par la **Figure 29**. Les résultats ont montré que le pourcentage d'inhibition de l'oxydation du β -carotène par les radicaux générés de l'acide linoléique diminue plus rapidement en présence des contrôles négatifs (H_2O et méthanol) qu'en présence des extraits. La cinétique de blanchiment du β -carotène en présence et en absence des extraits de *R. chalepensis* et de BHT montre que les trois extraits ainsi que le BHT inhibent de manière significative l'oxydation couplée de β -carotène/acide linoléique.

La courbe d'absorbance du BHT à une concentration de 2 mg/mL se présente sous la forme d'un plateau, ce qui indique un pouvoir antioxydant très rapide et efficace, où la réaction de piégeage du radical atteint son maximum rapidement. Les trois extraits de *R. chalepensis* suivent cette tendance mais de manière moins prononcée, dans l'ordre décroissant EAPF, EAVF et EPF. Cela suggère que, bien que moins puissants que le BHT à la concentration testée, ces extraits possèdent une capacité à neutraliser les radicaux libres, mais avec une cinétique de réaction potentiellement plus lente ou une capacité totale de réduction inférieure à celle du BHT.

Ces observations sont cohérentes avec la littérature qui rapporte des propriétés antioxydantes significatives pour *R. chalepensis*. Gali *et al.*, (2019) ont montré que les extraits éthanoliques de *R. chalepensis* et leurs fractions possèdent une activité antioxydante importante avec une CI_{50} de $79.11 \pm 0.04 \mu g/mL$ en piégeant les radicaux libres et en agissant comme agents réducteurs. Ils ont également souligné une forte corrélation entre l'activité antioxydante et les taux de polyphénols, ce qui pourrait expliquer l'activité de nos extraits. De même, Mokhtar *et al.*, (2022) ont obtenu une CI_{50} de $0.37 \pm 0.03 \text{ mM} / g$ d'extrait de *R. graveolans* et ont confirmé que les espèces de Ruta, très répandues en Algérie contiennent des antioxydants naturels tels que les polyphénols. Loizo *et al.*, (2017) ont également étudié l'activité antioxydante d'extraits méthanolique de *R. chalepensis*, montrant une valeur CI_{50} de $16.9 \pm 2.1 \mu g/mL$ qui est inférieure à la nôtre, ce qui confirme que la plante est une source prometteuse de composés bioactifs.

La différence de puissance et de cinétique observée entre les extraits de *R. chalepensis* et le BHT peut être attribuée à plusieurs facteurs. Le BHT est un antioxydant

synthétique très efficace et rapide d'action, tandis que les extraits végétaux contiennent un mélange complexe de composés phénoliques et d'autres métabolites secondaires. La synergie ou l'antagonisme entre ces composés, ainsi que leurs concentrations respectives, peuvent influencer l'activité antioxydante globale et sa cinétique. La variabilité des résultats par rapport à la littérature peut également découler de la partie de la plante utilisée, la méthode d'extraction, du solvant, l'origine géographique et des conditions de croissance, qui sont des facteurs connus pour affecter la composition phytochimique et l'activité biologique des extraits végétaux.

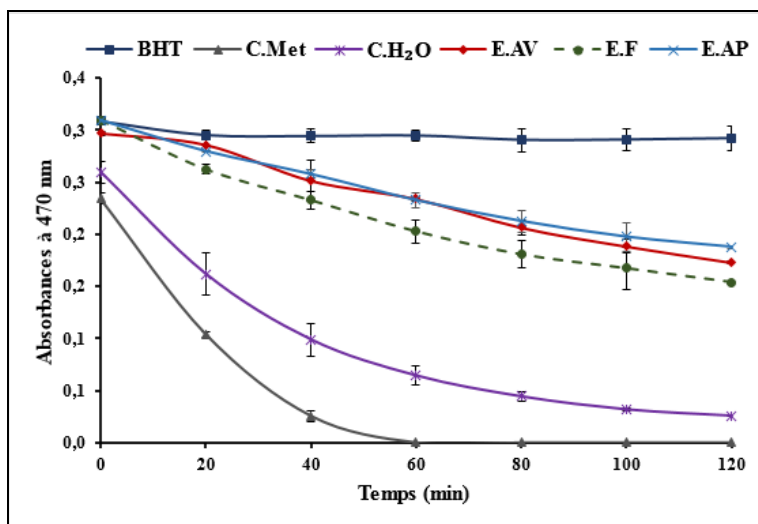


Figure 29. Cinétique de Blanchiment du β -carotène en présence et en absence des EAVF, EPF, EAPF de *R. chalepensis*, et du BHT. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais $\pm$ SD.

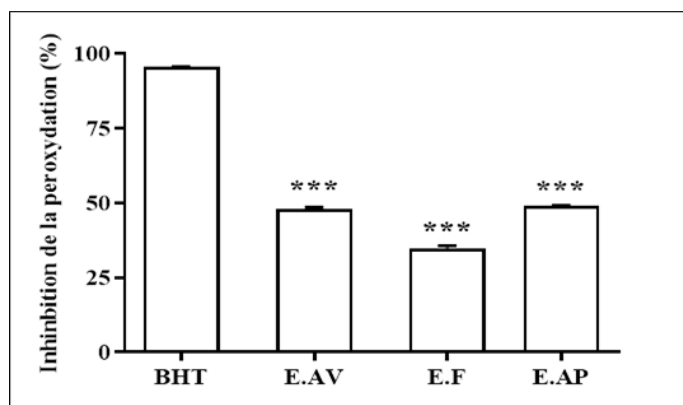


Figure 30. Comparaison entre les pourcentages d'inhibition d'oxydation du β -carotène des extraits EAVF, EPF, EAPF de *R. chalepensis*, et du BHT après 2h d'incubation moyenne $\pm$ SD (n=3).

1.9.3. Pouvoir réducteur

La méthode est basée sur la réduction du Fe^{+3} présents dans le ferrocyanure de potassium en Fe^{+2} . La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique Fe^{+3} en une couleur bleu verte du fer ferreux Fe^{+2} , l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotometrie à 700 nm.

La capacité des extraits à donner un électron reflète leur pouvoir antioxydant, la réduction du Fe^{3+} est un indicateur de la capacité de l'échantillon à donner un électron. Dans ce test, le pouvoir réducteur des extraits de *R. chalepensis* est exprimé par la concentration effective à 50 % (EC_{50}) et est directement proportionnel à la concentration de l'extrait (**Figure 31**).

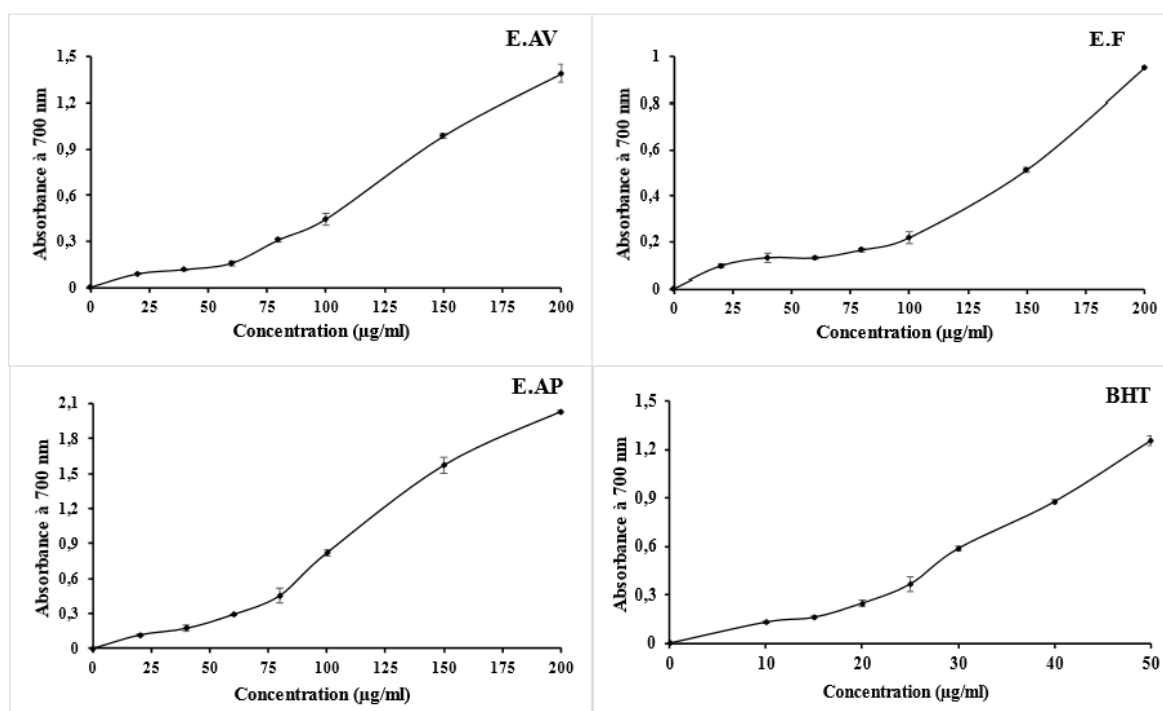


Figure 31. Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique de *R. chalepensis* EAV (A), EF (B), EAP (C) et de BHT (D). Les valeurs représentent la moyenne de trois essais $\pm$ SD.

Les résultats montrent que l'EAVF présente la meilleure capacité réductrice (EC_{50} de $100,61 \pm 1,25$ µg/mL) suivi par l'EAPF (EC_{50} de $108,53 \pm 3,50$ µg/mL) ensuite l'EPF (EC_{50} de $139,99 \pm 2,08$ µg/mL). L'activité du contrôle positif (BHT) (EC_{50} de $28,05 \pm 0,31$ µg/mL) reste significativement ($p \leq 0.05$) plus forte que celle de tous les extraits (**Figure 32**). Une étude menée par Gali *et al.*, (2019), sur un échantillon collecté de la région

d'Adekar au Nord de Bejaia a montré une valeur d'EC₅₀ de $140,19 \pm 3,41$ µg/mL proche de celle de notre extrait pendant la floraison. Cependant, nos résultats étaient supérieurs à ceux mentionnés par Agnieszka Szewczyk *et al.*, (2022) ($15,493 \pm 0,207$ µg/mL). Ce pouvoir réducteur est probablement dû à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. En effet, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs d'oxydants (Bammou *et al.*, 2020).

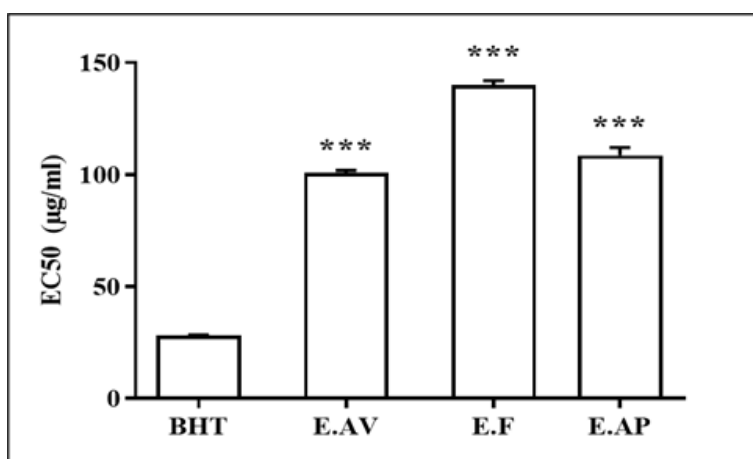


Figure 32. Les valeurs d'EC₅₀ des extraits hydrométhanolique de *R. chalepensis* EAV, EF, EAP et du BHT. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais $\pm$ SD.

I.9.4. Test de capacité antioxydante totale CAT

La capacité antioxydante totale (CAT) des différents extraits de *R. chalepensis* est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir de la courbe d'étalonnage ($y = 0,0083x + 0,0449$; $R^2 = 0,9986$). Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalents d'acide ascorbique par mg d'extrait (µg EAA/mg d'extrait).

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de *R. chalepensis* a varié significativement en fonction du stade phénologique de collecte de la plante, comme présenté dans le **Tableau 8**. La CAT la plus élevée a été observée dans l'EPF avec une valeur de $160,59 \pm 5,78$ µg EAA/mg d'extrait. Cet extrait était suivi par l'EAPF à $136,03 \pm 1,46$ µg EAA/mg d'extrait et enfin l'EAVF qui a présente la capacité la plus faible à $125,12 \pm 2,47$ µg EAA/mg d'extrait.

La variation de la CAT observée à travers les différents stades phénologiques souligne la nature dynamique de l'accumulation des composés bioactifs chez *R. chalepensis*. La capacité antioxydante maximale enregistrée pendant le stade de floraison suggère que cette période est optimale pour la synthèse et l'accumulation des composés

responsables de l'activité antioxydante dans la plante. Cela concorde avec l'idée générale que les plantes, en tant que source riche de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, produisent ces composés dans le cadre de leurs mécanismes de défense ou de leurs processus physiologiques, qui peuvent être influencés par les stades de développement (Barbouchi *et al.*, 2024).

Des études antérieures sur les espèces de *Ruta* et d'autres plantes médicinales ont également démontré que les capacités antioxydantes peuvent fluctuer en fonction des parties de la plante, des conditions environnementales et des stades de croissance. Par exemple, Barbouchi *et al.* (2024) ont rapporté un large éventail de valeurs de CAT pour les extraits bruts de *Ruta* (37,67 à 396,80 mg EAA/g CE), indiquant la variabilité du potentiel antioxydant au sein du genre et selon les différentes méthodes de préparation. Nos résultats, qui se situent dans ce large spectre, renforcent l'idée que *R. chalepensis* est une source botanique importante au potentiel d'antioxydants. L'activité antioxydante accrue pendant la floraison pourrait être attribuée à une synthèse accrue de composés phénoliques et de flavonoïdes spécifiques, qui sont bien connus pour leurs propriétés de piégeage des radicaux, de chélation des métaux, de réduction et de don d'hydrogène (Kacem *et al.*, 2015 ; Ouerghemmi *et al.*, 2017). Par exemple, des études sur *R. chalepensis* ont confirmé la présence de divers polyphénols, avec une teneur totale variant significativement entre les extraits (Ouerghemmi *et al.*, 2017). La corrélation entre des taux élevés de polyphénols et une forte activité antioxydante a été précédemment établie (Gali et Bedjou, 2019). Ouerghemmi *et al.* (2017) ont également trouvé que les feuilles et les fleurs de *R. chalepensis* présentaient une teneur élevée en polyphénols totaux et une forte activité antioxydante totale, ce qui soutient nos conclusions d'une activité plus élevée pendant ou après la période de floraison (EPF et EAVF comparativement au EAPF). Le potentiel antioxydant prononcé de *R. chalepensis*, particulièrement pendant son stade de floraison, renforce ses utilisations médicinales traditionnelles et suggère son application prometteuse dans les industries alimentaire et pharmaceutique en tant qu'agent de conservation naturel et agent bénéfique pour la santé.

Conclusion et perspectives

Cette étude a examiné la problématique présentée de l'enjeu mondial de santé publique que représentent les toxiinfections alimentaires et l'antibiorésistance, justifiant ainsi la recherche urgente d'alternatives naturelles en profondeur la composition chimique, la teneur en polyphénols, les activités antibactérienne, antifongique ainsi que les propriétés antioxydantes des extraits de *Ruta chalepensis* à travers trois stades de croissance (avant la floraison, pendant la floraison et après la floraison).

Elle a confirmé que *Ruta chalepensis* est une source riche en polyphénols, avec des concentrations variantes significativement selon le stade de croissance. L'analyse chimique des extraits par HPLC-DAD-ESI/MS a permis d'identifier des composants bioactifs dans les trois extraits dominés par la gravéoline et la β -carotène.

Les extraits ont montré des propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes significatives. Ils ont montré une puissante activité antibactérienne à large spectre, avec des valeurs intéressantes de CMI, bien qu'*E. coli* et *P. vulgaris* aient montré une résistance à EAVF, tandis que *P. vulgaris* était résistante à la fois à l'EAVF et à l'EAPF. Ainsi un pouvoir antifongique très intéressant vis-à-vis des champignons phytopathogènes et des souches d'altération des produits alimentaires.

L'activité antioxydante dépendait du stade de croissance, l'EAPF présentant la plus forte capacité de piégeage du DPPH et l'EPF présentant la plus forte capacité antioxydante totale. Ces résultats confirment que *R. chalepensis* est une source naturelle prometteuse d'agents bioactifs pour des applications pharmaceutiques, ou de conservation des aliments. Les recherches futures devraient se concentrer sur la purification et la caractérisation des composés bioactifs spécifiques responsables de ces effets bénéfiques afin d'optimiser leur utilisation dans les formulations de produits de santé et de qualité alimentaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ahmed, D. A., El-Khalafy, M. M., Almushghub, F., Sharaf El-Din, A., & Shaltout, K. (2023). Ethnobotanical importance of wild plants in Wadi Kaam, Northwestern Libya. *Egyptian Journal of Botany*, 63(3), 797-812.
- Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., ... Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, 48(5), 1362–1370.
- Akroum, S., & Rouibah, M. (2020). Utilisation d'extraits méthanoliques de plantes pour la protection des cultures de tomates-cerises (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) contre l'infection fongique par *Alternaria alternata*. *Biologie Aujourd'hui*, 214(1-2), 55-61.
- Al-Ajlouni, Z. I., Abbas, S., Al-Ghzawi, A. L., Al-Makhadmeh, I., Shatnawi, M., Al-Abdallat, A. M., & Al-Tawaha, A. R. (2023). Evaluation of antimicrobial activity of callus, *in vitro* and *ex vitro* extracts of *Ruta graveolens* L. *Farmacia*, 71(4), 770-779.
- Al-Majmaie, S., Ali, A., Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Jalil, P. J., & Richardson, A. (2021). Anti-MRSA constituents from *Ruta chalepensis* (Rutaceae) grown in Iraq, and *in silico* studies on two of most active compounds, chalepentin and 6-hydroxy-rutin 3',7-dimethyl ether. *Molecules*, 26(4), 1017.
- Althaher, A. R., Oran, S. A., Awadallah, M. W., Ameen, H. H., Shehabi, R. F., Bourghli, L. M., & Mastinu, A. (2024). Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Ruta chalepensis* L. ethanolic extract. *Chemistry & Biodiversity*, 21(4), e202400026.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barraji n-Catal n, E., Encinar, J. A., Rodríguez-Díaz, J. C., & Micol, V. (2020). Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: A comprehensive review. *Current Medicinal Chemistry*, 27(15), 2576-2606.
- Angaman, R. K., Abo, K., Arobia, B. M., Orso, B., Ouattara, D., & Zirihi, N. G. (2018). Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* et *in vivo* d'extraits de *Terminalia ivorensis* et *Terminalia superba* sur *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(3), 1208-1224.
- Asma, N., Salih, C., Amar, O., Meriem, B., & Wided, A. (2022). Chemical composition of *Myrtus communis* essential oil and its antifungal activity on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and *Fusarium culmorum*. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 8(3).
- Attou, A. (2011). Contribution   l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (fidjel) de la région d'Ain T mouchent (M moire de magister in dit). Universit  Abou Bekr Belka d, Tlemcen, Algérie.
- Azim, S., *et al.* (2022). Radiation-induced oxidative stress: a key mechanism in the pathophysiology of radiation injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9607.

- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., ... Luycky, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086–1089.
- Bammou, M., Bouhlali, E. D. T., Sellam, K., El-Rhaffari, L., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2020). Évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux des feuilles et des fleurs de *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirton. *Phytothérapie*. doi:10.3166/phyto-2020-0226.
- Barbouchi, M., Benzidia, B., Elamrani, K., Sabiri, M., & El Idrissi, M. (2024). Phytochemical screening, quantitative analysis and antioxidant properties of crude extracts from stems, leaves, and flowers of three *Ruta* species. *Kuwait Journal of Science*, 51(4), 100287.
- Barroso, M. R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I. P., ... Ferreira, I. C. F. R. (2014). Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterisation, microencapsulation and incorporation into a moisturiser. *Industrial Crops and Products*, 53, 330–336.
- Bekkar, N. E. H., Meddah, B., Cakmak, Y. S., & Keskin, B. (2021). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Zizyphus lotus* L. and *Ruta chalepensis* L. growing in Mascara (Western Algeria). *Biologia*, 76, 2581–2593.
- Bhatia, V., & Sharma, S. (2021). Role of mitochondrial dysfunction, oxidative stress and autophagy in progression of Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 421, 117253.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3ème éd.). Paris, France: Tec & Doc.
- Carrillo-Munoz, A. J., Giusiano, G., Ezkurra, P. A., & Quindós, G. (2006). Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. *Revista Española de Quimioterapia*, 19(2), 130-139.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- Chen, G. L., Fan, M. X., Wu, J. L., Li, N., & Guo, M. Q. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule. *Food Chemistry*, 277, 706–712.
- Cheriet, T., Kherbache, A., Mancini, I., & Seghiri, R. (2025). Chemical composition and biological activities of the Algerian *Cymbalaria muralis* aerial parts. *Natural Product Research*, 39(13), 3875-3879.
- Chibane, A. B., et al. (2019). Antimicrobial potential of plant polyphenols: A review. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1546.

- Chihomvu, P., Ganesan, A., Gibbons, S., Woollard, K., & Hayes, M. A. (2024). Phytochemicals in drug discovery—A confluence of tradition and innovation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16), 8792.
- Clérivet, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D., & Sanier, C. (1996). Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica*, 143(6), 531-538.
- D'Archivio, M., *et al.* (2024). Polyphenol-rich foods: A comprehensive overview of their health benefits and biological activities. *Food & Function*, 15(3), 1234–1250.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., ... & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., Stocker, P., & Yousfi, M. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2599–2606.
- Doron, S., & Gorbach, S. L. (2010). Bacterial infections, overview. In J. Griffiths (Ed.), *Public Health and Infectious Diseases* (pp. 3-7). UK: Elsevier Inc.
- Durazzo, A., *et al.* (2019). Phenolic acids and flavonoids: An overview of their classification, distribution, and health effects. *Foods*, 8(11), 527.
- Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 685-688.
- El-Kadi, F. Z., *et al.* (2025). Activités antioxydantes et anticancéreuse des huiles essentielles et polyphénols de *Ruta chalepensis* (Thèse de doctorat). Université d'Ouargla, Algérie. Récupéré de DSpace.
- Elshobary, M. E., *et al.* (2025). Combating antibiotic resistance: Mechanisms, multidrug-resistant pathogens, and novel therapeutic approaches: An updated review. *Pharmaceuticals*, 18(3), 402.
- Esmaeili, M. A., & Sonboli, A. (2010). Antioxidant, free radical scavenging activities of *Salvia brachyantha* and its protective effect against oxidative cardiac cell injury. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 846-853.
- Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. (2012). Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484(7393), 186-194.
- Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in drug-induced toxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 35(15), 1279-1294.
- Forstermann, U., & Sessa, W. C. (2021). Nitric oxide synthase isoforms: Regulation and functional significance. *Physiological Reviews*, 101(4), 1673-1721.

- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*, 10(2), 514-528.
- Gali, L., & Bedjou, F. (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*. *South African Journal of Botany*, 120, 163-169.
- Gallo, M. (2022). Bioactive compounds from various sources: Beneficial effects and technological applications. *Applied Sciences*, 12(18), 8955.
- Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., & Lombó, F. (2018). Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 309-315.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Hendel, N., Sarri, M., Sarri, D., Seghiour, S., Napoli, E., Selloum, M., & Ruberto, G. (2024). Phytochemical analysis, antibacterial and antifungal effect of *Lavandula dentata* L. essential oil and methanol extract. *Natural Product Research*, 38(20), 3498-3507.
- Jianu, C., Goleț, I., Stoin, D., Cocan, I., Bujancă, G., Mișcă, C., ... & Horhat, D. I. (2021). Chemical profil of *Ruta graveolens*, evaluation of the antioxidant and antibacterial potential of its essential oil, and molecular docking simulations. *Applied Sciences*, 11(24), 11753.
- Jindal, A., & Seth, C. S. (2022). Medicinal plants: The rising strategy for synthesis of modern medicine. *International Journal of Plant and Environment*, 8(01), 76-80.
- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2005). Extraction of plant secondary metabolites. In S. D. Sarker, Z. Latif, & A. I. Gray (Eds.), *Natural products isolation* (2nd ed., pp. 323-351). Totowa, NJ: Humana Press.
- Kacem, M., Kacem, I., Simon, G., Mansour, A. B., Chaabouni, S., Elfeki, A., & Bouaziz, M. (2015). Phytochemicals and biological activities of *Ruta chalepensis* L. growing in Tunisia. *Food Bioscience*, 12, 73-83.
- Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Ogugbuaja, V. O. (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423-435.
- Kouidri, M., et al. (2022). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the treatment of dermatological disorders in the region of Tiaret, Algeria. *Journal of Herbal Medicine*, 30, 100481.
- Lambeth, J. D., & Ganesan, L. P. (2022). The NADPH oxidase family of enzymes: From pathophysiology to therapeutic target. *Antioxidants & Redox Signaling*, 36(16-18), 1261-1279.

- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3), 771-776.
- Liguori, I., et al. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757-772.
- Lushchak, V. I., & Storey, K. B. (2021). Oxidative stress concept updated: Definitions, classifications, and regulatory pathways implicated. *EXCLI Journal*, 20, 956.
- Magri, A., Curci, M., Battaglia, V., Fiorentino, A., & Petriccione, M. (2023). Essential oils in postharvest treatment against microbial spoilage of the Rosaceae family fruits. *AppliedChem*, 3(2), 196-216.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmooudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue Nature & Technologie*, 09, 35-40.
- Manso, T., Lores, M., & de Miguel, T. (2021). Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates. *Antibiotics*, 11(1), 46.
- Marino, A., et al. (2025). The global burden of multidrug-resistant bacteria. *Epidemiologia*, 6(2), 21.
- Martínez-Pérez, E. F., Hernández-Terán, F., & Serrano-Gallardo, L. B. (2017). In vivo effect of *Ruta chalepensis* extract on hepatic cytochrome 3A1 in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(4), 62-68.
- Merghache, S., Hamza, M., & Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science*, 5(1), 105-116.
- Mokhtar, M., Youcefi, F., Keddari, S., Saimi, Y., Elhaou, S. O., & Cacciola, F. (2022). Phenolic content and in vitro antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of Algerian *Ruta graveolens* L. *Chemistry & Biodiversity*, 19(9), e202200545.
- Molares, S., Ciampagna, M. L., & Ladio, A. (2023). Digestive plants of the Patagonian steppe: Multidimensional variables that affect their knowledge and use. *Ethnobotany Research and Applications*, 25, 1-19.
- Motamed, S. M., & Naghibi, F. (2010). Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, 119(4), 1637-1642.
- Murphy, M. P. (2021). The role of mitochondria in the generation of reactive oxygen species and their signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(1), 19-33.
- Musyimi, D. M., Netondo, G. W., & Ouma, G. (2007). Effects of salinity on growth and photosynthesis of avocado seedlings. *International Journal of Botany*, 3(1), 78-84.
- Oloyede, O. I. (2005). Chemical profil of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(6), 379-381.

- Ostrosky-Zeichner, L., Casadevall, A., Galgiani, J. N., Odds, F. C., & Rex, J. H. (2010). An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(9), 719-727.
- Ouerghemmi, I., Rebey, I. B., Rahali, F. Z., Bourgou, S., Pistelli, L., Ksouri, R., ... & Tounsi, M. S. (2017). Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 350-359.
- Pallarés, N., *et al.* (2025). Green and innovative extraction: phenolic profiles and biological activities of underutilized plant extracts using pulsed electric fields and maceration. *Foods*, 14(2), 222.
- Paoletti, G., *et al.* (2021). The effects of cigarette smoke on oxidative stress and inflammation. *Journal of Clinical Medicine*, 10(23), 5556.
- Pauli, A. (2006). Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. *Medicinal Research Reviews*, 26(2), 223-268.
- Perrin, M. (2017). *Ruta chalepensis*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 110-125.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (2009). Mycotoxines: facteur de risque de cancers. *Journal Africain du Cancer*, 1(1), 42-55.
- Pierce, C. G., Srinivasan, A., Uppuluri, P., Ramasubramanian, A. K., & Lopez-Ribot, J. L. (2013). Antifungal therapy with an emphasis on biofilms. *Current Opinion in Pharmacology*, 13(5), 726-730.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341.
- Procházková, D., *et al.* (2024). Flavonoids: chemical structure, classification, and biological activities. *Molecules*, 29(5), 1085.
- Que, F., Mao, L., & Pan, X. (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Research International*, 39(5), 581-587.
- Rai, V., Pai, V. R., Pratapchandra, K. H., & Hegde, S. (2013). Preliminary phytochemical screening of members of Lamiaceae family: *Leucas linifolia*, *Coleus aromaticus* and *Pogostemon patchouli*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 21(1), 131-137.
- Rohit, Y., Saurabh, R., & Ajay, S. (2012). Review on antioxidants activity and its evaluation. *Journal of Pharma Research*, 1(2), 41-58.
- Rout, P., *et al.* (2023). A comprehensive review on *Ruta chalepensis*: Pharmacological properties, phytochemistry, and ethnomedicinal uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 310, 116345.

- Sadeghi-Nejad, B., Shiravi, F., Ghanbari, S., & Alinejadi, M. (2010). Antifungal activity of *Satureja khuzestanica* (Jamzad) leaves extracts. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(1), 36-40.
- Sahu, M. C., Debata, N. K., & Padhy, R. N. (2012). Antibacterial activity of *Argemone mexicana* L. against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from clinical samples. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), S800-S807.
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS links to diseases and aging. *Current Opinion in Cell Biology*, 24(5), 652-658.
- Schmelzer, G. H., & Gurib-Fakim, A. (2013). *Medicinal plants, volume 1: Plant resources of tropical Africa*. Wageningen, Netherlands: PROTA Foundation.
- Scorzoni, L., et al. (2016). Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. *Journal of Microbiological Methods*, 123, 68-78.
- Severino, N., et al. (2025). Bacterial foodborne diseases in central America and the Caribbean: A systematic review. *Microbiology Research*, 16(4), 78.
- Sevgi, K., Tepe, B., & Sarikurkcü, C. (2015). Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 12–21.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, A. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Shukla, R., Singh, P., Prakash, B., & Dubey, N. K. (2012). Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet essential oil and its major component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. *Food Control*, 25(1), 27-33.
- Sies, H. (2020). On the history of oxidative stress: from a concept toward a mechanistic definition. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 34(3), 3624-3635.
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) in health and disease: The concept of redox signaling. *Antioxidants & Redox Signaling*, 32(11), 863-865.
- Singh, S. B. (2012). Antibiotic discovery and development. In T. J. Dougherty & M. J. Pucci (Eds.), *Antibiotic Discovery and Development* (pp. 821-841). New York, NY: Springer.
- Sökmen, M., et al. (2004). In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3309-3312.

- Soliman, K. M., & Badeaa, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 40(11), 1669-1675.
- Sourov, K., *et al.* (2014). Phytochemical and in vitro biological investigations of methanolic extracts of *Enhydra fluctuans* Lour. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, 299-305.
- Szewczyk, A., Marino, A., Molinari, J., Ekiert, H., & Miceli, N. (2022). Phytochemical characterization, and antioxidant and antimicrobial properties of agitated cultures of three Rue species: *Ruta chalepensis*, *Ruta corsica*, and *Ruta graveolens*. *Antioxidants*, 11(3), 592.
- Trigui, M., Hsouna, A. B., Tounsi, S., & Jaoua, S. (2013). Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsuta* with special reference to its mode of action. *Industrial Crops and Products*, 41, 150-157.
- Usman, K. A., Egigu, M. C., & Mahalingam, J. S. (2022). Ethnobotanical study on traditional medicinal plants used by Oromo ethnic people of Goro district, Bale zone of Oromia region, Ethiopia. *Ethnobotany Research and Applications*, 24, 1-21.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041.
- Veiko, A. G., *et al.* (2023). Antimicrobial activity of quercetin, naringenin and catechin: Flavonoids inhibit *Staphylococcus aureus*-induced hemolysis and modify membranes of bacteria and erythrocytes. *Molecules*, 28(3), 1252.
- Verma, S. K., *et al.* (2021). Phytochemical and pharmacological potential of *Ruta chalepensis* L.: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(1), 1-10.
- Vijayalakshmi, R., & Ravindhran, R. (2012). Preliminary comparative phytochemical screening of root extracts of *Diospyros ferrea* (Wild.) Bakh and *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schultes. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(5), 581-587.
- Visioli, F., *et al.* (2020). Dietary polyphenols and health: the need for a new classification. *Nutrition Reviews*, 78(11), 940-951.
- Wadood, A., Ghufraan, M., Jamal, S. B., Naeem, M., Khan, A., & Ghaffar, R. (2013). Phytochemical analysis of medicinal plants occurring in local area of Mardan. *Biochem Anal Biochem*, 2(4), 144.
- Wang, L. H., Wang, M. S., Zeng, X. A., Xu, X. M., & Brennan, C. S. (2017). Membrane and genomic DNA dual-targeting of citrus flavonoid naringenin against *Staphylococcus aureus*. *Integrative Biology*, 9(10), 820-829.
- Wiederhold, N. P., & Patterson, T. F. (2015). What's new in antifungals: an update on the *in-vitro* activity and *in-vivo* efficacy of new and investigational antifungal agents. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(6), 539-545.

Xu, Y., He, P., He, B., & Chen, Z. (2025). Bioactive flavonoids metabolites in citrus species: Their potential health benefits and medical potentials. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1552171.

Yèhouenou, B., Noudogbèssi, J. P., Sessou, P., Avlessi, F., & Sohounhloué, D. (2010). Etude chimique et activités antimicrobiennes d'extraits volatils des feuilles et fruits de *Xylopia aethiopica* (DUNAL) A. Rich. contre les pathogènes des denrées alimentaires. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 29, 19-27.

Yeo, B. T., *et al.* (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *Journal of Neurophysiology*, 106(3), 1125-1165.

Yesuf, Y. K., Zema, A. A., & Mejab, M. M. (2023). Effect of fringed rue (*Ruta chalepensis*) leaf as feed additives on growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Cogent Food & Agriculture*, 9(2), 2274170.

Yücel, Y. Y., Karakoç, Ö. C., Servi, H., Gücel, S., Nalbantsoy, A., & Polatoğlu, K. (2023). Fumigant and contact toxicity of *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) essential oil against five coleopteran stored product pests and its effects on cholinesterases. *Plant Protection Bulletin*, 63(4), 52-65.

Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Karray, A., Neffati, M., & Ayadi, M. A. (2011). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 257-265.

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التركيبة الكيميائية، تقدير عديدات الفينول، الفلافونويدات، تقييم النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات والمضاد للأوكسدة للمستخلصات الميثانومائية لنبتة *Ruta.chalepensis*، EPF، EAVF، و EAPF وذلك من عينات تم جمعها خلال ثلاث فترات من النمو قبل الإزهار، أثناء الإزهار و بعد الإزهار.

بين تحليل المستخلصات بطريقة HPLC-DAD-ESI/MS وجود العديد من المركبات الكيميائية الفعالة منها الكرسيتين، القرافيولين، البركابيتين، ايزواميراتون، الكالبيين، الروتامارين و البيتا كاروتان كما بينت الدراسة أن مستخلص عينات ما قبل الإزهار تحتوي على أعلى كمية من المركبات الفينولية والفلافونويدات و التي قدرت بـ $84,54 \pm 1,66$ مكغ مكافئ حمض قالك/مغ مستخلص و $25,15 \pm 0,88$ مكغ مكافئ كرسيتين / مغ مستخلص على التوالي. أظهرت النشاط المضادة للبكتيريا ضد سبع عزلات باستعمال تقنية الانتشار على الأقراص أن العزلات السالبة غرام و الموجبة غرام كانت حساسة للعديد من المستخلصات بدرجات متفاوتة و ذلك بأقطار تثبيط متفاوتة تراوحت بين $8,67 \pm 0,58$ و $18,00 \pm 1,00$ ملم بينما أظهر تقدير التركيز الأدنى المثبط للنمو و التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا قيما معتبرة تراوحت بين $95,1$ و $31,25$ (مغ/مل) بالنسبة للأول و $3,9$ و $62,5$ (مغ/مل) بالنسبة للثاني. أما فيما يخص النشاط المضادة للفطريات بينت النتائج أن المستخلصات كانت ذات فعالية تجاه العديد من الفطريات الممرضة للنبات وكذا الملوثة للأغذية والتي تراوحت بين 25 % و 97 %.

من جهة أخرى، تم تقدير النشاط المضادة للأوكسدة للمستخلصات الثلاثة باستعمال عدة تقنيات في الزجاج. بينت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص عينات بعد الإزهار يمتلك قدرة ازاحية عالية مضادة جذر DPPH ($14,18 \pm 1,02$ مكغ/مل)، كما ابدت هذه المستخلصات نسب عالية في اختبار النشاط المضادة للأوكسدة في اختبار ابيضاض البيتا كاروتين و فعالية ارجاع جد معتبرة. كخلاصة، يمكن اعتبار *Ruta chalepensis* مصدرا واعداد للمضادات المكونية ومضادات الأوكسدة.

الكلمات المفتاح *Ruta chalepensis*، التركيب الكيميائي، المركبات الفينولية النشاط المضاد للبكتيريا، المضاد للفطريات والمضاد للأوكسدة.

Abstract

The aim of this study is to determine the chemical composition, phenolic content, as well as the antibacterial, antifungal and antioxidant activities of hydromethanolic extracts from *R. chalepensis* collected at three different periods: before flowering (BF), during flowering (DF) and after flowering (AF). Three hydromethanolic extracts were prepared: the before flowering extract (BFE), during flowering extract (DFE) and after flowering extract (AFE). A thorough hydromethanolic extracts analysis was conducted regarding their chemical composition by HPLC-DAD-ESI/MS method, quercetin, graveolin, bergapten, isoimperatorin, chalepin, rutamarin and β -carotene was detected, also total phenolics and flavonoids contents. The AFE displayed the maximum polyphenol and flavonoid levels; 84.54 ± 1.66 μ g GAE/mg extract and 25.15 ± 0.88 μ g QE/mg extract, respectively. Antibacterial activity was evaluated against seven bacterial strains using disc diffusion (DD) method and minimal inhibitory concentration (MIC). The results of the studied plant showed an important antibacterial activity against both Gram-negative and Gram-positive bacteria. The bacterial strains showed sensitivity ranging from moderate to high, either in terms of ID (08.67 to 17.67 mm) or in terms of MIC (01.95 and 31.25 mg/ml). These extracts also exhibited excellent activity against yeast *C. albicans* with ID between 9.67 and 15.0 mm. also were active against eight growth of filamentous fungi tested by incorporation of extracts plant into the culture medium method at (10%) reduced the growth from 25 % to 97% of all fungi. On the other hand, The antioxidant activity was assessed using four methods; DPPH, with CI_{50} ranging between 14.18 $\pm$ 1.02 and 30.96 $\pm$ 1.80 μ g/mL, β -carotene/linoleic acid, with CI_{50} ranging between 34.86 $\pm$ 0.78 and 49.06 $\pm$ 0.15 μ g/ml and reducing power, with EC_{50} varied between 100.61 $\pm$ 1.25 and 139.99 $\pm$ 2.08 μ g/ml and TAC, with values ranging between 125.12 $\pm$ 2.47 and 160.59 $\pm$ 5.78 μ g AAE/mg extract. In conclusion, the results revealed that *R. chalepensis* hydromethanolic extracts have strong antibacterial and antioxidant properties, highlighting their potential as natural sources for developing novel antibacterial and antioxidant agents.

Keywords: *R. chalepensis*, phenolic compounds, HPLC-DAD-ESI/MS, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de la composition chimique, la teneur en composés phénoliques ainsi que les activités antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits hydrométhanoliques de *Ruta.chalepensis* (*R. chalepensis*) récolté pendant trois périodes différentes : avant (AVF), pendant (PF) et après floraison (APF). Trois extraits hydrométhanoliques ont été préparés : l'extrait avant floraison (EAVF), pendant floraison (EPF) et après floraison (EAPF). Une analyse chimique par HPLC-DAD-ESI/MS a permis d'identifier la quercétine, graveoline, bergapten, isoimperatorin, chalepin, rutamarin et β -carotène dans les trois extraits. L'EAVF a présente des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de $84,54 \pm 1,66$ μ g EAG/mg d'extrait et $25,15 \pm 0,88$ μ g EQ/mg d'extrait respectivement. L'activité antibactérienne a été réalisée sur sept souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque (DD), la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été définies. Les résultats ont montré une sensibilité bactérienne importante des bactéries Gram- et Gram+ qui ont montré des DI (08.67 à 17.67 mm) soit en termes de CMI (01.95 et 31.25 mg/ml) et des CMB (3.9 et 62.5 mg/ml). L'activité antifongique a été évaluée sur 8 champignons de contamination alimentaire et phytopathogènes, deux méthodes ont été appliquées sur milieu solide, les extraits de *R. chalepensis* ont montré un effet important vis-à-vis les souches testées allant de 25 % à 97% d'inhibition. L'activité antioxydante a été évaluée selon quatre méthodes. A l'issue des tests d'activité antioxydante *in vitro*, les EAVF, EPF et EAPF ont montré un effet scavenger très puissant du radical DPPH avec des CI_{50} de $14,18 \pm 1,02$ à $30,96 \pm 1,80$ μ g/ml ; nos extraits ont également inhibé l'oxydation du β -carotène, notamment l'EAPF avec un I% de $49,06 \pm 0,15$, concernant la capacité antioxydante totale (CAT) ; L'EPF a exercé la plus forte capacité antioxydante ($160,59 \pm 5,78$ μ g AAE/mg d'extrait). Aussi, les extraits ont exhibé de puissant pouvoir réducteur du fer avec de EC_{50} $100,61 \pm 1,25$ à $139,99 \pm 2,08$ μ g/ml. En conclusion, les résultats ont révélé que les extraits de *R. chalepensis* possèdent de fortes propriétés antibactériennes, antifongique et antioxydantes, soulignant leur potentiel comme sources naturelles pour le développement de nouveaux agents antibactériens et antioxydants.

Mots-clés : *R. chalepensis*, composés phénoliques, HPLC-DAD-ESI/MS activité antimicrobienne, activité antioxydante.