

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de biochimie et BMC

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية
والخلوية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologique

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude *in vivo* de la toxicité aiguë des extraits bruts aqueux de *Ruta montana* chez
des souris *Albinos Wistar***

Présenté par : HARCHOUCHE Imane
KHEBAZA Nour el houda

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : DJAALAB Imène (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : BENNAMOUN Leila (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : DAKHMOUCHE Schehera Zad (MCA- ENS, Assia Djebar, Constantine 1).

Année universitaire
2022 – 2023

REMERCIEMENTS

*Tout d'abord nous remercions **ALLAH** qui nous a donné la Volonté, la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions **Mme DJAALAB IMENE** Maître de Conférences A A l'institut des sciences vétérinaires pour avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses conseils et orientations ainsi que la confiance qu'elle nous a accordé en dirigeant ce travail.*

*Nous remercions très sincèrement **Mme BENAAMOUN Leila** Maître de conférences B A LA Faculté des Sciences de LA Nature et de LA Vie d'avoir présidé le jury de notre soutenance ainsi que **Mme DAKHMOUCHE Schehera Zad** Maître de conférences A A LA Faculté des Sciences de LA Nature et de LA Vie d'avoir examiné notre travail.*

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

*A mes parents, en témoignage de ma profonde affection et reconnaissance pour
leur amour, leur aide, leurs recommandations éclairées et attentives.*

*Pour leurs sacrifices et leurs efforts qu'ils ont déployés afin de me permettre de
frayer le bon chemin dans cette vie.*

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

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

A mes sœurs et à mes frères ainsi qu'à toute ma famille,

A toutes mes amies,

A toutes les personnes qui me sont chères et que je porte dans mon cœur.

**HARCHOUCHE IMANE
KHABAZA NOUR EL HOUDA**

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide déoxyribonucléique

DL : dose létale

DL₅₀ : dose létale 50

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

EAT : extrait des alcaloïdes totaux

EBF : extrait brut des feuilles

EBG : extrait brut des graines

FRAP : ferric Reducing Antioxydant power

g : gramme

h : heure

IC₅₀ (EC₅₀) : concentration effective à 50%

kg : kilogramme

l : litre

L : lot

Max : maximale

RM : *Ruta montana*

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	<i>Ruta montana</i>	5
02	Extraction par hydro-distillation.....	25
03	Extracteurs de Soxhlet.....	26
04	Extraction par ultra-sons	28
05	Extraction par micro-ondes.....	29
06	Les différentes récoltes de la plante <i>Ruta montana</i> (les parties aériennes à gauche les feuilles à droit).....	32
07	Matériels de laboratoire utilisé.....	33
08	Broyages les parties aérienne de <i>Ruta montana</i>	35
09	Méthode de décoction les parties aérienne de <i>Ruta montana</i>	35
10	Filtration l'extrait brute de décoction de les parties aérienne de <i>Ruta montana</i>	36
11	Récupération de l'extrait brut de la partie aérienne de <i>Ruta montana</i>	36
12	Broyages les feuilles de <i>Ruta mntana</i>	37
13	Décoction les feuilles de <i>Ruta montana</i>	37
14	Filtration et séchage l'extrait de décoction les feuilles de <i>Ruta montana</i>	38
15	Pesée et récupération l'extrait brut de décoction les feuilles de <i>Ruta montana</i>	38
16	Méthode d'infusion des parties aériennes de <i>Ruta montana</i>	40
17	Filtration et séchage de l'infusion de l'extrait des parties aériennes de <i>Ruta montana</i>	41
18	Récupération et pesée de l'extrait brut de l'infusion les parties aériennes de <i>Ruta montana</i>	41
19	Méthode de l'infusion les feuilles de <i>Ruta montana</i>	42
20	Filtration et séchage l'extrait de l'infusion les feuilles de <i>Ruta montana</i>	42
21	Récupération l'extrait brut de l'infusion les feuilles de <i>Ruta montana</i>	43
22	Les souris <i>Albinos Wistar</i>	44
23	Pesée des souris de race <i>Albinos Wistar</i>	48
24	Préparation des doses des extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	48
25	Marquage des souris expérimentées	50

26	Méthode de gavage des extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	50
27	Autopsie des souris décédées.....	51
28	Rendement d'extraction solide-liquide par décoction et par infusion des récoltes (les parties aériennes, les feuilles) de <i>Ruta montana</i>	53
29	Evolution du poids corporel des souris témoins et des lots expérimentaux recevant l'extrait bruts aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	57
30	Taux de mortalité des souris recevant une dose minimale (2g/kg) et une dose maximale (5g/kg) d'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	61
31	Organes (foie, poumons, cœur, estomac et utérus) des souris autopsiées du lot 3 et du lot 4	64

LISTE DES SCHEMAS

Schéma	Titre	Page
01	Protocole d'extraction solide-liquide par décoction des feuilles et des parties aériennes de la plante <i>Ruta montana</i> .L.....	34
02	Protocole d'extraction solide-liquide par infusion des feuilles et des parties aériennes de la plante <i>Ruta montana</i> .L.....	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
01	Quelques usages traditionnels de <i>Ruta Montana</i>	9
02	Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes.....	11
03	Relation entre structure chimique et activité pharmacologique de quelques flavonoïdes isolées de <i>Ruta montana</i>	12
04	Pourcentage du rendement d'extraction solide-liquide par décoction et par infusion des parties récoltées (parties aériennes, feuilles) de la plante <i>Ruta montana</i>	53
05	Evolution du poids corporel des souris témoins et des lots expérimentaux recevant l'extrait bruts aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	56
06	Effet d'une dose minimale et d'une maximale de l'extrait aqueux des feuilles et des parties aériennes de <i>Ruta montana</i> sur les souris <i>Albinos Wistar</i>	59
07	Taux de mortalité des souris recevant une dose minimale (2g/kg) et une dose maximale (5g/kg) d'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i>	61

SOMMAIRE

Remerciements et dédicace	I
Liste des abréviations	II
Liste des figures	II
Liste des tableaux	IV
INTRODUCTION	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Etude ethnobotanique de *Ruta montana*

1. Espèce <i>Ruta montana</i>	4
1.1. Caractéristique botanique.....	4
1.1.1. Description morphologique.....	4
1.1.2 .Présentation de la famille des <i>Rutacées</i>	5
1.2. Classification botanique systématique.....	6
1.3. Propriétés pharmacologiques et médicinales.....	6
1.4. Répartition géographique en Algérie	7
1.5. Composition chimique de la rue.....	7
1.6. Usage dans la médecine traditionnelle.....	7

Chapitre II : Métabolites secondaires et activités biologiques de *Ruta montana*

2. Les métabolites secondaires	10
2.1. Les flavonoïdes.....	10
2.1.1. Définition	10
2.1.2. Classification.....	10
2.1.3. Intérêt thérapeutique	11
2.2. Les coumarines	12
2.2.1. Classification.....	12
2.2.2. Intérêt pharmacologique de coumarines.....	13
2.3. Les lignanes.....	13
2.4. Alcaloïdes.....	13
2.4.1. Localisation, état et rôle biologique.....	13
2.4.2. Utilisation.....	13

2.5. Autres composés trouvés dans le genre <i>Ruta</i>	14
3 Les activités biologiques de <i>Ruta montana</i>	14
3.1. Activités antioxydantes.....	14
3.2. Activités antibactériennes.....	16
3.3. Activités antifongiques.....	16

Chapitre III : étude de la toxicité de *Ruta montana*

4. 1. Le modèle animal sélectionné.....	18
4.2. Toxicité aigüe.....	18
4.3. Toxicité subaigüe.....	20
4.4. Symptômes toxiques dans les études de toxicité aigüe et subaigüe.....	20
4.5. Gestion des xénobiotiques par l'organisme.....	20
4.5.1. Absorption	21
4.5.2. Distribution	21
4.5.3. Métabolisme/biotransformation	21
4.5.4. Élimination et excrétion.....	21
4.6. Le foie : organe de métabolisation	22
4.6.1. Hépatotoxicité	22
4.6.1.1. Toxicité immédiate « obligatoire, prévisible »	22
4.6.1.2. Toxicité indirecte « facultative, imprévisible»	23
4.6.1.3. Toxicité par surcharge et/ou accumulation	23
4. 7. Le rein : organe d'épuration	23
4.7.1. Néphrotoxicité	23

Chapitre IV : Evaluation des méthodes d'extractions végétales

5. Extraction végétales	24
5.1. Méthodes traditionnelles.....	24
5.1.1. Infusion.....	24
5.1.2. Décoction	24
5.1.3. Macération	24
5.1.4. Entraînement à la vapeur d'eau.....	24
5.1.5. Hydrodiffusion	25
5.1.6. Hydrodistillation.....	25

5.1.7. Extraction par soxhlet.....	25
5.1.8. Extraction à froid.....	26
5.2. Méthodes innovantes d'extraction.....	26
5.2.1. Extraction par solvant (ASE).....	27
5.2.2. Extraction par fluide a l'état supercritique (SFE).....	27
5.2.3. L'extraction assistée par ultra-sons.....	27
5.2.4. L'extraction assistée par micro-ondes.....	28
5.2.5. Extraction par liquide pressurisé (PLE)	28

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal.....	31
1.1. Mode opératoire.....	33
1.1.1. Extraction par décoction des parties aériennes de <i>Ruta montana</i>	35
1.1.2. Extraction par décoction des feuilles <i>Ruta montana</i>	37
1.1.3. Extraction par infusion des parties aériennes de <i>Ruta montana</i>	40
1.1.4. Extraction par infusion des feuilles de <i>Ruta montana</i>	41
1.1.5. Méthode de calcul du rendement de l'extrait végétal	43
2. Matériel animal.....	43
2.1. Préparations des animaux	44
2.2. Préparation des doses administrées.....	45
2.3. Conditions d'hébergement et d'alimentation	46
2.4. Matériel et produits utilisées	46
3. Evaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux de <i>Ruta montana</i>	47
3.1. Description de la méthode d'ajustement des doses	47
3.1.1. Protocole expérimentale.....	47
3.1.2. Marquage des souris.....	49
3.1.3. Administration des doses	50
3.1.4. Autopsie.....	51

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination du pourcentage du rendement d'extraction végétale	52
2. Effet d'une dose minimale et d'une dose maximale de l'extrait aqueux des feuilles et des parties aériennes de <i>Ruta montana</i> sur l'évolution du poids corporel des souris <i>Albinos Wistar</i>	54
2.1. Résultats de la moyenne corporelle des souris expérimentées	54
3. L'effet d'une dose minimale et d'une maximale de l'extrait aqueux de <i>Ruta montana</i> sur les symptômes et les signes cliniques des souris <i>Albinos Wistar</i>	58
4. Résultat de mortalité des souris expérimentées avec la dose limite minimale 2g/kg et la dose limite maximale 5g/kg	60
5. Consommation de la quantité de nourriture	63
6. Consommation de volume d'eau	63
7. Résultats des organes des cadavres autopsiés	63

CONCLUSION	66
-------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	67
--	-----------

RESUME

INTRODUCTION

Selon l'organisation mondiale de la santé, 80% de la population mondiale dépend de la phytothérapie et de l'usage des plantes médicinales afin de répondre aux besoins de santé. Ce phénomène n'est pas limité aux pays en voie de développement et les causes principales en sont d'ordre historique et culturel (**Daoudi et al., 2015**).

Les plantes médicinales constituent une composante fondamentale dans les secteurs de santé et d'agro-alimentaire. Ces végétaux représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et possédant un très large éventail d'activités biologiques (**Allaoui, 2018**). Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, l'évaluation de la recherche sur les plantes médicinales a été orientée vers l'obtention de phyto-médicaments présentes sous divers formes galéniques simples répandant à une réglementation spécifique en manière précise d'innocuité, d'efficacité thérapeutique et de stabilité (**Askri et al., 2020**).

Ruta montana (RM) communément appelée « Fidjel » ou la rue des montagnes est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle, notamment en Afrique du Nord, pour traiter les troubles digestifs, infectieux, gynécologiques et les maladies diabétiques. Aujourd'hui, les études ont révélé que la RM pouvait être utilisée dans de nombreuses pathologies impliquées dans les problèmes de santé publique, telles que le diabète, l'hypertension, troubles du système reproducteur et cancer. Aussi, pourrait remplacer les insecticides et fongicides chimiques car elle présente des propriétés antifongiques, insecticides et propriétés larvicides (**Oliva et al., 2003 ; Duke et al., 2008 ; Kambouche et al., 2008 ; Belkassam et al., 2011**). Les extraits de RM contiennent beaucoup des métabolismes secondaires telles que : les flavonoïdes, les coumarines et même les alcaloïdes (**Benkhairia et al., 2022**).

Cependant, l'utilisation de cette plante comme remède ne signifie pas qu'elle soit toujours bénéfique pour la santé humaine. En effet, les observations de **Masri et al. (2015)** et de **Allaoui (2018)** d'un cas d'intoxication aiguë par *Ruta montana*, l'analyse toxicologique de l'urine des souris montre une forte présence d'alcaloïdes, un bouleversement du métabolisme biochimique sanguin et une toxicité aiguë et subaiguë significative.

A partir de ces données que nous nous sommes intéressés sur l'étude toxicologique de *Ruta montana*. Ainsi, l'objectif de ce travail est d'évaluer et de comparer chez des souris *Albinos Wistar* la toxicité aigüe par voie orale des extraits bruts aqueux des feuilles (stade jeune) et des parties aériennes (stade adulte) de *Ruta montana* récoltées durant les mois de Février et d'Août.

Ce travail est scindé en deux parties ; une première partie bibliographique renseignant sur l'étude ethnobotaniques, phytochimique ainsi que l'étude toxicologique de *Ruta montana L.* Nous aborderons dans cette partie, les techniques d'extractions traditionnelles et non traditionnelles des plantes médicinales.

Une deuxième partie expérimentale centrée autour de l'étude *in vivo* de la toxicité aigüe des extraits bruts aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* chez des souris *Albinos Wistar*. Nous présenterons le matériel et les méthodes utilisées, nous exposerons et discuterons les résultats obtenus avant de tirer une conclusion générale sur cette étude.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

ETUDE ETHNOBOTANIQUE DE *RUTA MONTANA*

1. Espèce *Ruta montana*

La plante *Ruta montana* connu sous le nom vernaculaire « Fidjel » appartient à la classe des *Magnoliopsida*, plantes dicotylédones, de la famille des *Rutacées*.

L'espèce *Ruta montana* appartient au genre *Ruta* de la famille des *Rutacees* (sous-famille des *Rutoidees*) originaires de la région méditerranéenne, de Macaronésie (archipels des Açores, des canaries, de madère et du Cap-Vert) et du sud-ouest asiatique (Claisse, 1993).

1.1. Caractéristiques botaniques :

1.1.1. Description morphologique:

Les *Rutacées* sont souvent des plantes ligneuses possédant des poches sécrétrices d'un type qui n'est rencontré dans aucune autre famille dites poches schizolysigènes (Ozenda, 2000). *Ruta montana* communément appelée « Rue des montagnes » est un arbrisseau du genre *Ruta*. C'est une plante méditerranéenne semi-arbustive, de 40cm à un 1m de hauteur environ, très ramifiée et ligneuse à la base (Allouni, 2018).

➤ La partie aérienne: (Belazizia et Askri, 2019)

- **Tiges:** Droites, cylindriques, très rameuses, glabres et glauque de 2 à 5 pieds de hauteurs.
- **Feuilles:** Pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovales obtuses, épaisses, légèrement dentées sur les bords ou entières.
- **Fleurs:** Jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment dix étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal.
- **Fruits:** Des capsules globuleuses a lobes arrondies et pédoncule court (4 mm) et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents; libérant a maturité de petites graines noirâtres.
- **Semences:** Réniformes, a embryon renferme dans un albumen charnu.
- **Odeur:** nauséabonde et saveur chaude et amère.

➤ **La partie souterraine: Racines:** Blanches, fibreuses et a nombreuses radicules.



Figure 1: *Ruta montana* à feuilles (au stade jeune à gauche) et *Ruta montana* à fleur (stade adulte à droite) (Daoudi, 2015; Anonyme 1)

1.1.2. Présentation de la famille des *Rutacées*:

Le genre *Ruta* appartient à la sous famille des *Rutoidées*. *Ruta* vient du grec « *rhyte* » qui signifie : sauver, prévenir (Doerper, 2008). En Algérie, il existe 04 espèces:

- *Ruta montana*
- *Ruta chalepensis*
- *Ruta tuberculata*
- *Ruta latifolia*

Les espèces diffèrent entre elles par l'allure des feuilles, de la grappe fructifère, des bractées et des sépales (Quezel santa, 1963; Bezanger, 1986; Ozenda, 1991). La famille des *Rutacées*

comprend environ 900 espèces regroupées dans 150 genres réparties dans la zone tropicale et dans les régions tempérées de l'hémisphère Sud. La plupart des *Rutaceae* produisent des huiles essentielles (Gerardo Cebrian-Torrejon, 2011).

1.2. Classification botanique systématique: (Belazizia et Askri, 2019)

- Règne: *Plantae*
- Sous règne: *Tracheobionta* (plantes vasculaires)
- Super division: *Spermatophyta* (plantes à graine)
- Division: *Magnoliophyta*
- Sous division: *Angiosperme*
- Classe: *Magnoliopsida* (dicotylédones)
- Sous classe: *Rosidées*
- Ordre: *Sapindales*
- Famille: *Rutaceae*
- Espèce: *Ruta montana*

1.3. Propriétés pharmacologiques et médicinales:

Ruta montana L. est utilisée en Algérie comme un remède pour emménagogue, antispasmodique rubéfiant, poudre écharrotique (Forment et Roques, 1941 ; Chaibebbedra, 2014) contre certaines fièvres de l'enfant et comme une drogue avortée, mais avec le plus grand soin en raison de l'effet toxique en raison de la présence de xanthotoxine (Kabouche et al, 2003).

L'huile essentielle de *Ruta montana* L. a un potentiel antioxydant et a une activité antimicrobienne (Kambouche et al., 2008 ; Belkassem et al., 2011 ; Zellagui et al., 2012).

Un extrait végétal de *Ruta* (l'extrait végétal préparé à partir de *Ruta graveolens*, *Ruta chalepensis*, *Ruta montana* L., *Ruta angustifolia*, ou *Ruta corsica*) est stimulateur de la croissance des cheveux (Tabata et al., 2004).

1.4. Répartition géographique en Algérie:

Les *Rutacées* sont originaires des régions tropicales et tempérées, en particulier de l'Afrique du Sud et Australien (**Gaussen et al; 1982**). Par ailleurs, (**Judd et al. 2002**) ont montré que les *Rutacées* sont quasi cosmopolites, mais surtout tropicale et subtropicale.

La rue pousse naturellement dans les endroits accidentés et arides, sur les murs anciens, les collines sèches, et est abondante dans les sols calcaires de la région méditerranéenne (**Quezel et al., 1963**). On trouve cette plante dans les rocailles, les pâturages et les pelouses, et elle est commune dans les zones montagneuses de l'intérieur jusqu'à l'Atlas saharien (**Clevely et Richmond, 1997; Allon, 2013**).

1. 5. Composition chimique de la rue:

Les espèces de *Ruta montana* sont la source de divers produits chimiques tels que les huiles essentielles (cétones grasses), coumarines (rentaline, furanocoumarines, psoralène, prégabatten, antitoxine, furoquinoline et dérivés d'acridone), flavonoïdes (rutine) et tanins (**Allouni et al., 2018**). Selon des recherches menées sur six alcaloïdes du genre *Ruta*, deux des connu sous le nom de composés *1-méthyl-4-méthoxy-2-quinolone* et *Evolitrine*. Les nouveaux composés sont la 2-(nonan-8-one)-(1H)-4-quinolone (1), la 2-(nonan8-one)-4-Méthoxyquinoléine (2), 2-(nonan-8-one)-N-méthyl-4-quinolone (3), 2-(décan-9-one)-N-Méthyl-4-quinolone (4) (**Touati et Ulubelen, 2000**).

Une étude réalisée en 2019 par **Belkassam et al.** a montré que les principaux constituants des huiles essentielles des parties aériennes de la *Ruta montana* révélés sont : 2-undécanone, 2-nonanone, phtalate de monoéthylhexyle, décanone, 2-Acétoxytridécane et 2-Tridécanol.

1.6. Usage dans la médecine traditionnelle:

En Afrique et sur d'autres continents, plusieurs préparations médicinales de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle (tableau ci-dessous). En général, différentes parties de la plante sont souvent utilisées en raison de leurs propriétés emménagogues des menstruations, médicaments abortifs, antispasmodiques, antalgiques et antiparasitaires (**Ait Youssef, 2006**). Selon Ait Ouakrouch et ses collègues, la partie la plus couramment utilisée est la graine, tiges et fleurs, qui sont séchées et transformées en décoction avec du vinaigre de cidre de et du

safran.

Cette utilisation nécessite un massage et une exposition au soleil. Certains herboristes recommandent de l'associer à des compresses au miel, appliquer localement et laisser reposer toute la nuit. Il s'avère que l'huile essentielle de *Ruta montana* d'Algérie contient des psoralènes (**Kambouche et al., 2008**). Cette la structure chimique suggère une activité thérapeutique basée sur la photosensibilisation semblable à *Ammi majus* (**Wessner et al., 1999 ; Eickhorst et al., 2007 ; Belhadi, 2013 ; Abdellatif et al., 2022**).

Ruta montana L. est utilisé comme médicament menstruel en Algérie, poudre antispasmodique antispasmodique des rougeurs, utilisée dans le traitement de certaines fièvres chez l'enfant et comme une pilule abortive. Mais il faut redoublez de prudence car il y'a la présence de xanthoxines (**Chaibeddra et Zellagui, 2014**).

Dans le système cardiovasculaire, il a été démontré que *Ruta* a un effet positif sur l'isolement du cœur et des vaisseaux sanguins prolongation de l'oreillette droite et de la réfraction nodale auriculo-ventriculaire cœur de rat isolé, activité cardioprotectrice et antiarythmique démontrée (**Qiu et Feng, 1997**).

Tableau 1: Quelques usages traditionnels de *Ruta montana*

Espèces	Pays	Partie utilisé	Voie	Usage	Références
<i>Ruta montana</i>	Algérie	Plante aérienne	Orale	Emménagogue (régularise le cycle menstruel), antispasmodique, rubéfiant (irritant), poudre, écharrotique (cautérisation)	(Liang et al, 2001)
	Maroc	Plante entière		Abortif puissant, soigne la jaunisse et photo-sensibilisation	(Claisse, 1993)
	Espagne	Plante entière		Emménagogue, contre la fièvre abortive, antispasmodique et contre les verts intestinaux	(Suu et al, 1997)

CHAPITRE II:
METABOLITES SECONDAIRES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES
DE RUTA MONTANA

2. Les métabolites secondaires:

Les plantes produisent des produits chimiques de diverses structures telles que métabolites primaires et secondaires. Ces derniers appartiennent à divers groupes chimiques (composés phénoliques, terpènes, alcaloïdes). Il représente une source importante de molécules disponibles pour l'homme dans différents domaines comme la pharmacologie et l'agro-alimentaire (**Macheix et al., 2005**).

2.1. Les flavonoïdes:

2.1.1. Définition:

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments végétaux presque universels, habituellement responsable de la coloration des fleurs, des fruits et parfois du feuillage (**Bruneton, 1999**). Ils varient en quantité et en qualité selon le stade de développement de la plante (**Fritch et Griesbach, 1975**). Cela explique en grande partie leur Industrie alimentaire et colorante. Ils ont aussi un intérêt médical considérable (**Vauzour et al., 2001**).

2.1.2. Classification:

Les flavonoïdes sont classés en fonction de leur structure moléculaire. En effet, il y a plus de 6400 flavonoïdes. **Harborne et Williams (2000)** ont déterminé leur structure. Le plus important est Flavones, isoflavonediols, flavanols, flavonediols, auronnes, chalcones, anthocyanes (**Effendi et al., 2008**).

Tableau 2: Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes (**W-Erdman et al., 2005; Marfak, 2003**).

Flavonoïdes	Caractéristiques	Exemples
Flavonols	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.	-Quercétine -Kaempférol -Myricétine
Flavones	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et la réaction de coloration.	-Utéoline -Apigénine -Chryisine
Flavonones	Caractérisés par le structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.	-Genisteine - Daidzéine -Naringénine
Flavanols	Flavanols ainsi que flavan3, 4diols sont tous les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques.	-Catéchine -Epicatechine - Epigallocatechine
Anthocyanidines	Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.	-Cyanidine -Delphénidine -Cyanidol

2.1.3. Intérêt thérapeutique:

De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires. Inflammation, qui peut réguler la fonction du système immunitaire (**Middleton et Elliott, 1996**). Ils protègent également contre le diabète (**Ong et Khoo, 2000**).

Il a été rapporté que la myricétine a des effets hypoglycémiantes chez certains animaux diabétiques. Par conséquent, ils peuvent réduire les symptômes de la ménopause, tels que les bouffées de chaleur. Cet effet a été observé notamment pour les isoflavones de soja (**Nutranews, 2004**). Les flavonoïdes sont également connus pour leur activité antivirale, ciblant le rétrovirus VIH provoque des symptômes d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus Virus de la grippe, virus de l'herpès (HV), adénovirus (ADV) et virus de la grippe A (A/WS/33) (**Choi et al., 2009**).

Tableau 3: Relation entre structure chimique et activité pharmacologique de quelques flavonoïdes isolées de *Ruta montana* (Benkiki, 2006; Belkassam et al., 2011).

Flavonoïdes	Effet pharmacologique
Rutine	une action inhibitrice sur le PAF (Platelet Activating Factor), agent ulcérogène potentiel, et ainsi la réduction des dommages gastro-intestinaux.
Quercétine	Possède des effets anti-inflammatoires par l'action inhibitrice des enzymes responsables du métabolisme de l'acide arachidonique.

2.2. Les coumarines :

Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzopyrane (Weterman et Grundon, 1983).

Les coumarines de l'espèce *Ruta montana* se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides (Bruneton, 1999).

2.2.1. Classification :

Il y a quatre principales coumarines sous-types : les coumarines simples, furanocoumarines, pyranocoumarines et les coumarines pyrone-substitués.

Les coumarines simples : sont l'hydroxyl, alkyle alcoxylé et dérivés de la molécule mère, la coumarine, avec leurs glycosides.

Furanocoumarines : consistent en un cycle à cinq chaînons furanne attaché au noyau coumarine (Ojala, 2001).

Pyranocoumarine : contient un cycle à six chaînons.

Coumarines substitués dans le noyau pyrone : comprennent la 4-hydroxycoumarine (Jain et Joshi, 2012).

3.2.2. Intérêt pharmacologique des coumarines :

La coumarine a une variété d'activités biologiques, son activité biologique varie avec la substitution sur le cycle benzopyrone (**Barnard et al., 2002**). Les coumarines simples fluidifient généralement le sang par leurs activités vasoconstrictrices et vasoprotectrices, comme c'est le cas des anticoagulants dicoumariniques produits par l'aescine ou le mélilot (*Métilotus officinalis*). Il a été rapporté que les furocoumarines jouent un rôle dans le traitement des cas de spasmes néphrétiques, d'angine de poitrine (*Ammi visnaga khelline*).

La capacité de diverses structures furanocoumarines à induire une hyperpigmentation cutanée transitoire est bien connue. Ces propriétés photodynamiques sont utilisées pour traiter les symptômes du vitiligo, du psoriasis et d'autres maladies de la peau. Ils peuvent également être utilisés dans les traitements de bronzage. La visnadine ; une pyranocoumarine, est douée de propriétés vasodilatatrices coronariennes et présentée comme ayant une action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale (**Hemmar, 2010**).

2.3. Les lignanes :

Les lignanes sont issus du couplage oxydatif intramoléculaire de deux unités phénylpropanoïques, la savinine et la saventinine (**Paulini et Schemmer, 1989**).

2.4. Les alcaloïdes :

C'est le nom générique de substances azotées d'origine végétale, de structure souvent complexe et de poids moléculaire élevé. Ce sont des bases primaires, secondaires et tertiaires ou des hydrates d'ammonium quaternaires renfermant des noyaux hétérocycliques (**Richter, 1993**). Les alcaloïdes constituent, à côté des coumarines, un second groupe de métabolites secondaires largement répandus dans la famille des *Rutaceae* et plus particulièrement dans le genre *Ruta* (**Mohr, 1982**).

2.4.1. Localisation, état naturel et rôle biologique :

Au total, environ 10 000 alcaloïdes ont été identifiés dans près de 20 % des plantes à fleurs, principalement des dicotylédones herbacées. Une plante contient rarement un seul alcaloïde; on a le plus souvent un mélange d'alcaloïdes de constitutions plus ou moins apparentées, dont l'un prédomine.

Les alcaloïdes existent rarement sous forme libre dans les plantes, mais le plus souvent ils sont associés à des acides organiques ou à des tanins (**Hokins, 2003**). L'action biologique des alcaloïdes est essentiellement celle des phages : leur amertume et leur toxicité repoussent les herbivores (**Guinard, 2000**).

2.4.2. Utilisation :

Le mot alcaloïde est synonyme du mot drogue. Dix des 12 médicaments dérivés de plantes les plus importants sur le plan commercial sont des alcaloïdes. Les alcaloïdes provoquent diverse réactions physiologiques dans le corps car ils interfèrent avec les neurotransmetteurs. La plupart des alcaloïdes sont très toxiques à fortes doses, mais à faibles doses, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. De la préhistoire à nos jours, les alcaloïdes ou extraits en contenant ont été utilisés comme médicaments, relaxants musculaires, analgésiques, tranquillisants et substances psychotropes (**Hopkins, 2003**).

2.5. Autres composés trouvés dans le genre *Ruta*:

- Dérivés d'esters : acide propionique, acide isobutyrique, acide méthylbutyrique, acide l'acide isovalérique.
- Acides gras (palmitique, oléique, linoléique).
- Lipides
- Limonine
- Saponines (**Santosh et al., 1994**).

3. Les activités biologiques de *Ruta montana*

3.1. Activités antioxydants :

Lorsque la plante est riche en métabolites secondaire comme les polyphénols et les flavonoïdes, ces métabolites sont dotés d'activité antioxydante. Cette activité est généralement exprimée en valeur IC_{50} , définie comme Concentration d'antioxydant nécessaire pour récupérer 50% de DPPH de l'extrait végétal testé. Plusieurs travaux antérieurs affirment l'activité antioxydante de *Ruta montana* (RM).

Selon **Kara, (2017)**, les résultats des tests DPPH de l'activité antioxydante de l'extrait d'acétate d'éthyle (EAERM) de RM avait l'effet le plus élevé ($IC_{50} = 0,126 \pm 0,002$ mg/ml), puis l'extrait butanol (EBRM) de RM (IC_{50} était de $0,135 \pm 0,0006$ mg/ml), et enfin l'extrait

d'éther de pétrole (EEPRM) de RM, qui était le plus faible de ces extraits, (avec une IC_{50} d'environ $0,185 \pm 0,002$ mg/ml) comparativement à la quercétine (molécule standard) par un facteur de 13, 14 et 19, respectivement.

Par ailleurs, les travaux réalisés par **Bahar et Bendjidjel (2019)** affirment que les extraits aqueux et méthanolique de RM avaient des propriétés presque identiques ; Les capacités de réduction de la CI_{50} étaient respectivement de $0,945 \pm 0,15$ mg/ml et $0,961 \pm 0,09$ mg/ml comparativement au standard (acide ascorbique : 0,16 mg/ml). Ces auteurs démontrent que l'extrait aqueux (EA) de RM et l'extrait méthanolique (EM) de RM a presque la même capacité antioxydante. Par conséquent **Bahar et Bendjidjel (2019)** conclu que la capacité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de RM sont habituellement modéré à faiblement puissant en raison de la contribution IC_{50} de l'acide ascorbique.

Ceci est en cohérence avec les travaux menés par **Merghem et al. (2019)** montrant que l'extrait aqueux de RM (300 mg/ml) et l'extrait méthanolique de RM (100 mg/ml) a entraîné une augmentation respective de $18,13 \pm 5,366$ % et $17,57 \pm 5,869$ %. Cette augmentation n'est pas statistiquement significative par rapport à au groupe standard témoin de $13,65 \pm 1,46$ %.

À des fins de comparaison, **Allouni (2018)** a constaté que l'utilisation d'antioxydant standard (acide ascorbique) a une activité anti-radicalaire très puissante avec une IC_{50} de $4,14 \pm 0,31$ µg/ml, parmi lesquels l'extrait méthanolique des feuilles de RM enregistre l'activité antioxydante la plus élevée (IC_{50} $38,61 \pm 0,9259$ µg/ml) par rapport à l'extrait brut de graines (EBG) de RM, qui a donné IC_{50} est de $44,1 \pm 4,397$ µg/ml, bien mieux que l'extrait d'alcaloïdes totaux de RM présentant une activité antiradicalaire plus ou moins faible (IC_{50} de $96,87 \pm 0,31$ microgrammes/ml).

Selon les travaux réalisés par **Allouni (2018)**, l'activité antioxydante des extraits bruts de RM évaluée par la méthode FRAP indique que l'extrait méthanique des feuilles de RM était le plus actif à une densité optique à 0,370 nm, suivie d'un extrait de grain de RM à 0,276 nm et de l'extrait d'alcaloïdes totaux de RM à 0,206 nm avec une concentration de 300 µg/ml.

Ce même auteur indique que le pouvoir réducteur de l'extrait méthanique de RM à partir des feuilles, des graines et des alcaloïdes totaux par rapport à l'acide ascorbique est important avec l'augmentation de la concentration. Tous ces extraits ont montré une activité antioxydante significativement plus faible par rapport à la vitamine C. Cette dernière atteint

presque un pouvoir réducteur total de 200 µg/ml. Ces résultats corroborent ceux obtenus par le test DPPH, donc l'extrait méthanolique de RM possède une puissante activité antioxydante par rapport aux l'extrait d'alcaloïdes totaux de RM.

3.2. Activité anti bactérienne :

D'après les travaux de **Allouni(2018)**, l'activité antibactérienne de différents extraits de *Ruta montana* est évalué contre les bactéries Gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) et les bactéries Gram Négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*) en utilisant la diffusion par disque. C'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre du halo de suppression des bactéries contenant des extraits de RM.

Selon **Allouni (2018)**, tous les extraits de *Ruta montana* ont pu bloquer la croissance bactérienne et sont parvenu à créer une la zone d'inhibition qui augmente proportionnellement à la concentration de l'extrait brut de RM. Toutes les bactéries testées étaient sensibles aux trois extraits, en particulier *Bacillus cereus*. Tous les extraits ont empêché la croissance des bactéries testés avec une concentration CMI=3,125mg/ml qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 6,5mm. L'effet de ces extraits est plus important que ceux obtenus avec les antibiotiques standards utilisés. Les alcaloïdes totaux de *Ruta montana* ont exercé un effet inhibiteur important de la croissance bactérienne contre *B. cereus*, *E. coli*, *S.typhimurium* à différentes concentrations et contre *S. aureus* avec la concentration de 200 mg/ml par rapport aux extraits bruts de RM. Avec l'extrait alcaloïdique deRM, *B. cereus* présente une extrême sensibilité (34,5±1,5) suivi par *E. coli*, *S.typhimurium* en suite *S. aureus* à une concentration de 200 mg/ml. Suivi par *E. coli*, *S. typhimurium* (24,5 ± 0,5 mm et 22,5 ± 0,5 mm respectivement) ; ces zones sont proche à ceux enregistré sous l'action du standard SXT (24,2 mm et 21 mm respectivement).

3.3. Activités antifongique :

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

Tous les extraits de *Ruta montana* ont présenté une activité antifongique modérée contre les champignons testés.

Selon les résultats de ce même auteur, *Aspergillus niger* est plus sensible aux différents

extraits de *Ruta montana* avec un taux d'inhibition de 60,77 % avec l'extrait brut de graines de RM (EBG), de 57,11 % avec l' l'extrait brut des feuilles de RM (EBF) et de 56% avec l'extrait d'alcaloïdes totaux de RM (EAT) à une concentration de 200 mg/ml alors que l'effet de ces extraits sur *Fusarium oxysporum* est apparu meilleur avec l'extrait des alcaloïdes totaux avec des taux d'inhibition importante 55% à une concentration de 200 mg/ml par rapport aux extraits méthanoliques de des feuilles et des graines de RM (43,33% et 37,55%) respectivement.

CHAPITRE III:

ETUDE TOXICOLOGIQUE DE *RUTA MONTANA*

Le dépistage de la toxicité aiguë et subaiguë des plantes médicinales est une évaluation rapide des profils toxicologiques des plantes médicinales. Ceci nous donne une idée de dangers ou innocuité de ces phyto-médicaments (Naudot, 2013 ; Kuete, 2014).

4.1. Le modèle animal sélectionné

Les souris ont de nombreux avantages en tant qu'animaux de test toxicité. Ils sont petits, relativement bon marché à obtenir et souvent facilement manipulable. Les souris sont généralement plus économiques que les rats à cet égard ; stables et doux à manipuler, ils sont faciles à manier. Autres avantages de l'espèce Y compris une courte période de gestation et une courte durée de vie naturelle. Ces caractéristiques zootechniques permettent d'inclure des études évaluant les performances de reproduction ou étant exposés à la substance d'essai pendant une période proche de la durée de vie prévue.

4.2. Toxicité aiguë

Les problèmes liés à la toxicité aiguë des produits chimiques au cours des 50 dernières années, ainsi que le nombre et la complexité des produits chimiques ont considérablement augmenté. Les données sur la sécurité des animaux sont considérées comme nécessaires pour plusieurs produits chimiques. Ceci a provoqué l'adoption et l'application du test de la dose létale de 50% du lot d'animaux à tester : DL₅₀. Voici les principales raisons et les plus importantes pour mettre en œuvre le test DL₅₀

➤ Pharmacologie et Toxicologie :

- Détermination de doses létales biologiquement normalisées de médicaments
- Détection des effets aigus et dangereux
- Identification de l'organe cible et de la toxicité systémique
- Détermination de l'index thérapeutique de nouveaux médicaments
- Informations sur la sélection des doses pour les études de pharmacologie et de toxicité dosent répétée
- Informations sur la biodisponibilité
- Évaluation des risques des combinaisons de médicaments

➤ **Sécurité humaine**

- Prédire la toxicité humaine et la dose létale
- Prédire les symptômes d'empoisonnement humain
- Information sur la réversibilité des lésions toxiques aiguës
- Détection des dangers pour les groupes à haut risque tels que les nourrissons
- Informations sur l'utilité des antidotes et autres mesures thérapeutiques

➤ **Réglementation gouvernementale :**

- Composants des documents d'enregistrement
- Informations de base sur la classification de l'inventaire chimique Substances toxiques **(Zbinden, 1986)**.

La détermination de la DL_{50} est effectuée uniquement par test de toxicité. Le test toxicité aiguë reste le test pharmacologique le plus couramment utilisé. La procédure est similaire dans la plupart des laboratoires :

- Un teste par dose par voie orale ou parentérale, pas moins de 5 et rarement plus de 10 doses sur des groupes de différentes souris ou rats qui ont jeuné depuis 18 heures.
- Au moins 3 doses ont entraîné la mort.
- Les valeurs inférieures à 100% doivent être utilisées.
- Observations et décès d'animaux enregistré après 24 et 72 heures.
- Autopsies et les examens histologiques des différents organes est systématiquement pratiquée **(Boyd, 1959)**.

La DL_{50} ou dose limité 50 est la dose, qui tue la moitié des animaux du groupe testé, est déterminée par diverses procédures. La méthode la plus pratique est une méthode graphique de **Lichtfield et Wilcoxon (1949)**, qui permet une estimation rapide de la DL_{50} , pente et limites de confiance de la courbe dose-réponse.

Ces données sont illustrées sous forme brute avec la méthode du papier millimétré de probabilité logarithmique **(Miller et Tainter, 1944)** ainsi qu'une autre méthode de calcul de graphe par **De Beer (1945)**. Pour certains médicaments, les animaux ne meurent généralement pas dans les trois jours, ainsi la période d'observation peut être prolongée de 7 à 10 jours **(Zbinden, 1963)**.

La DL₅₀ est un outil utile pour classer les substances selon leur degré de toxicité, en revanche cet outil présente certaines limites. Il ne peut être considéré comme une constante biologique en raison de sa variabilité. Ainsi, l'évaluation du comportement pharmacocinétique et de la biodisponibilité, le test DL₅₀ ne donne que des résultats semi-quantitatifs et souvent ambigus (**Zbinden et Flury-Roversi, 1981**).

Cependant, les estimations des valeurs DL₅₀ peuvent toujours être informatives sur la toxicité du composé. C'est pour cette raison que les informations actuelles de l'Agence de protection de l'environnement Les États-Unis (EPA) et d'autres organisations internationales recommandent maintenant d'utiliser ce test pour estimer la DL₅₀ (**OCDE, 2001**).

4.3 Toxicité subaiguë :

Contrairement à la toxicité aiguë, le test de toxicité subaiguë sont des essais répétés de dosage à court terme (1 à 4 semaines) pour obtenir des informations sur la toxicité de la substance après administration répétée, où une conception d'étude subaiguë réussie est souvent requise (**Eaton et Klaasen, 2001; Wilson et al., 2001**). L'objectif principal des études à court terme est de déterminer l'impact de substances indésirables à faible dose, dose-réponse et parfois identification de l'organe cible (**Kennedy et al., 1986**).

4.4. Symptômes de toxicité

En général, dans les études de toxicité aiguë et subaiguë, les animaux soumis à des études de toxicité aiguë sont observés quotidiennement 14 jours au total. Observations (indépendamment de la gestion drogues) y compris la peau et la fourrure, les yeux et les muqueuses, systèmes et activités : respiratoires, circulatoires, autonomes et nerveux centraux (mouvement et comportement du corps). Une attention particulière doit être portée aux tremblements, convulsions, salivation, diarrhée, léthargie, contusions, œdème, opisthotonos, exophtalmie, opacification de la cornée (vision), gonflement ou rougeur des yeux, somnolence et coma (**Bafor et Igbinuwen, 2009**).

4.5. Gestion des xénobiotiques par l'organisme

Le parcours des xénobiotiques dans l'organisme se décompose en 4 étapes : *absorption*, *distribution*, *métabolisme* (ou *biotransformation*) et *excrétion*. Ces sont des paramètres appelés ADME, comme indiqué ci-dessous.

4.5.1. Absorption

L'absorption est le processus par lequel les xénobiotiques atteignent le sang après avoir traversé un biofilm ou une barrière. Ce passage à travers les membranes cellulaires se produit par différents types de transport. Les xénobiotiques absorbés par le canal principal (poumons, peau, tractus gastro-intestinal) sont ensuite transférés par les milieux sanguins et lymphocytaires vers d'autres organes (reins, foie et d'autres) (**De Sousa et Baertschi, 2002**).

4.5.2. Distribution :

Une fois que les xénobiotiques sont présents dans le sang, ils sont distribués dans divers tissus et organes, qui seront stockés et utilisés (d'une manière bénéfique ou nocive) ou éliminés.

Il faut savoir que trois facteurs ont un impact significatif sur la distribution des xénobiotiques dans le corps se rapportant au :

- Flux sanguin vers un organe ou un tissu,
- Diffusion des xénobiotiques du sang vers les cellules,
- Affinité des organes associés Xénobiotiques de tissus ou d'organes (**Shitara et al., 2006**).

4.5.3. Métabolisme/biotransformation :

Le métabolisme correspond à la conversion des xénobiotiques par les systèmes enzymatiques BIO. Le but de cette modification est de le rendre plus soluble dans l'eau, donc plus facile à éliminer. De nombreux organes peuvent effectuer ces transformations (poumons, reins, intestins, etc.) mais le principal métaboliseur des xénobiotiques est le foie (**Zamek- Gliszczynski et al., 2006**).

4.5.4. Élimination et excrétion :

Le processus d'excrétion entraîne l'élimination des xénobiotiques du corps. La molécule et ses métabolites sont principalement éliminés par les reins (urine) et Il existe deux types de reins : la filtration glomérulaire et la sécrétion tubulaire, mais L'élimination peut également se faire par la bile (fèces), par les poumons dans l'air expiré, par lait (allaitement), la salive, et parfois même à travers les cheveux ou les ongles (**Zamek- Gliszczynski et al., 2006**).

4.6. Foie : organe de métabolisation :

Le foie est un organe multifonctionnel qui joue un rôle important dans une variété de fonctions essentielles : digestion, purification, stockage, détoxification du sang, production et sécrétion de composants plasmatiques et biliaires. Le foie est aussi impliqué dans le métabolisme des protéines, des stéroïdes et des graisses. Il permet le stockage des Vitamines, du fer et du glucose (LeCluyse et al., 2012).

4.6.1 Hépatotoxicité

Elle se définit comme la puissance d'une substance et de tous les mécanismes impliqués qui endommagent le foie. La pathogénicité de la toxicité hépatique est multi-causales : toxicité directe, toxicité indirecte et toxicité de surcharge et/ou accumulation (Rachel, 2009)

4.6.1.1. Toxicité immédiate « obligatoire, prévisible »

Il correspond à l'action directe des xénobiotiques sur des composants cellulaires importants non perturbé par le système immunitaire. Il a plusieurs fonctionnalités, mais principalement à dose-dépendante (Tome, 1999).

- **Stress oxydatif :** le métabolisme des Xénobiotiques augmente la production de ROS Responsable de la dégradation de l'ADN, des lipides et des protéines (El-Demerdash et al., 2013).
- **Peroxydation lipidique:** Les lipides insaturés sont oxydés et coupés en petits fragments qui sont eux-mêmes réactifs et se lient par des liaisons covalentes aux protéines.
- **Liaisons covalentes aux protéines:** Ce phénomène implique essentiellement les métabolites électrophiles et les groupements nucléophiles des protéines ou d'acides nucléiques. Par conséquent, certaines enzymes sont inactivées, des transporteurs membranaires et des protéines régulatrices sont altérés.
- **Déplétion en glutathion :** Les métabolites électrophiles réagissent aussi avec le groupe SH du glutathion, la formation accrue des conjugués au glutathion avec diminution du glutathion hépatique à des conséquences toxicologiques (Tome, 1999).

4.6.1.2. Toxicité indirecte « facultative, imprévisible »

Elle est liée au phénomène d'hypersensibilité de l'hôte, deux types de réactions sont envisagées: *toxicité immuno-allergique* et *toxicité à une prédisposition génétique*. Elle se caractérise principalement par une absence de relation dose-effet (**Meyer, 2016**)

4.6.1.3. Toxicité par surcharge et/ou accumulation

Substances accumulées dans certaines cellules du foie (**Martin et Feldmann, 1983**).

4.7. Le rein : organe d'épuration

Les reins sont situés de chaque côté de la colonne vertébrale et seront observés une fois que les organes abdominaux auront été enlevés. Le rein droit est toujours situé dans une position légèrement plus crânienne que le rein gauche (**Knoblauch et al., 2011**).

Les reins sont normalement d'une couleur brun rougeâtre et des anomalies des reins comprennent des reins petits, rétréci, fermes, jaune pâle avec une surface granulaire rugueuse. Cela peut indiquer une glomérulo-néphropathie chronique, qui est fréquente chez les souris âgées (**Frith et Ward, 1988**).

4.7.1. Néphrotoxicité

La néphrotoxicité se manifeste cliniquement par une insuffisance rénale aiguë de degré variable, accompagnée d'une protéinurie minime et d'une leucocyturie qui précèdent une diminution de la filtration glomérulaire. Sur le plan histologique, la lésion rénale est représentée par une nécrose tubulaire. Les signes d'atteinte rénale ont également été rapportés à des faibles doses chez l'homme et chez l'animal (**Rouas, 2010**).

CHAPITRE IV:

EVALUATION DES METHODES D'EXTRACTION VEGETALES

5. Extraction végétale :

L'extraction végétale est une opération utilisée pour isoler un mélange de molécules bioactives du matériel végétal, par l'addition de composants inactifs ou inertes comme l'eau, les solvants spécifiques, les huiles végétales ou graisses animales. La connaissance des caractéristiques physiques de la matière végétale mène à l'amélioration la méthode de l'extraction (liquide, semi-solide, solide) et de la fabrication les différents préparations que ce soit (décoction, infusion ou macération) utilisées dans différents aspects de vie quotidienne **(Benzegouta, 2015)**.

5.1. Méthodes traditionnelles :

Sont les méthodes conventionnelles, très anciennes qui sont utilisées surtout dans les industries agro-alimentaires, pharmaceutiques ainsi que les parfumeries **(Triaux, 2017)**.

5.1.1. Infusion :

L'infusion est la forme de préparation la plus simple qui consiste à laisser tremper les parties délicates du plante (fleurs, feuilles, sommités) dans l'eau bouillante. Laisser infuser entre 10 et 20 minutes), pour dissoudre une diffusion optimale des substances volatiles comme les essences, résines et huiles végétales **(Kadra, 2018 ; Aderrahmane et al., 2021)**.

5.1.2. Décoction :

Cette méthode consiste à mettre une partie ou la totalité de la plante dans de l'eau froide et on porte le tout à l'ébullition. Laisser refroidir et filtrer le décocté. Le mucilage, riche en composées polaires, se solubilise assez facilement dans l'eau. En présence de cette dernière, le mucilage va rapidement gonfler, éclater les cellules mucilagineuses et se déployer autour de la graine .Sa diffusion dans le milieu sera élevée. De même, une température élevée permettra d'augmenter cette vitesse d'extraction **(Adouane, 2016 ; Aderrahmane et al., 2021)**.

5.1.3. Macération :

Cette technique peut être définie comme une infusion froide plus prolongée .Cette méthode s'applique par contact entre une plante et un liquide ou solvant quelconque .Généralement les

macérations concernent les plantes donnant les métabolismes secondaires risquent de se dégrader sous l'effet de la chaleur (**Aderrahmane et al., 2021**).

5.1.4. Entraînement à la vapeur d'eau :

Dans cette technique, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur et n'est pas en contact avec l'eau. Les vapeurs saturées en composés volatiles sont condensées puis décantées par refroidissement dans un condenseur, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et le matériel végétal, et entre l'eau et les molécules aromatiques peuvent éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation (**Boukhatham et al., 2019**)

5.1.5. Hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est l'inverse de l'entraînement à la vapeur. Dans ce procédé la vapeur est appliquée par le haut du matériel végétal. Cette technique se caractérise par sa rapidité et son économie d'énergie (**Issaddi et Hamitouche, 2016**).

5.1.6. Hydrodistillation :

Cette technique consiste à immerger la matière première dans l'eau, qui est ensuite portée à ébullition. Elle est réalisée sous pression atmosphérique. Cette technique présente des inconvénients ; principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition. Aussi, le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Boukhatham et al., 2019**).

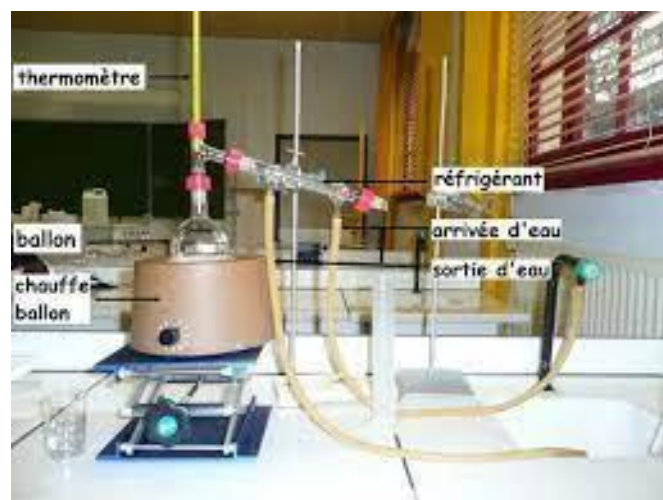


Figure 2 :Extraction par hydrodistillation (**Anonyme 2**)

5.1.7. Extraction par Soxhlet :

Le principe de cette méthode est de faire l'extraction continue par un solvant organique d'une espèce chimique contenue avec une poudre végétale solide le tout dans une pièce de verrerie (Aderrahmane et al., 2021).

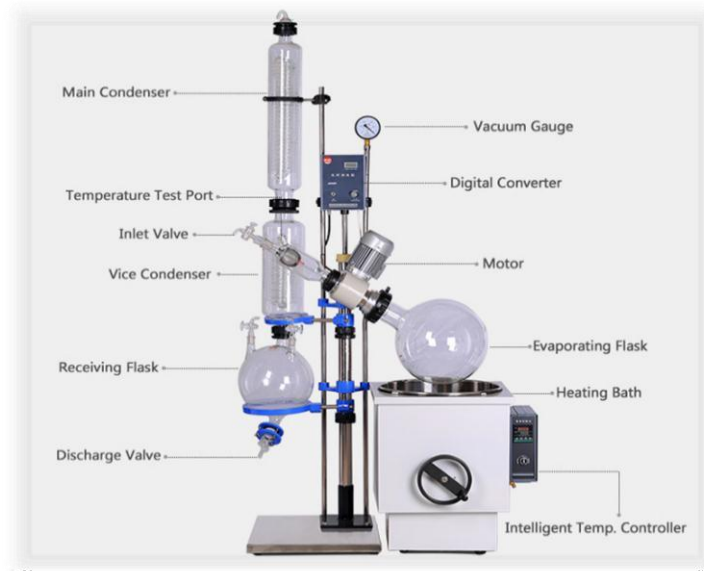


Figure 3: Extraction par Soxlet (Anonyme 3)

5.1.8. Extraction à froid :

C'est l'une des méthodes qui est officielle pour l'obtention des composés volatiles contenus dans les péricarpes d'agrumes par un traitement mécanique. Cette technique consiste à dilacérer les parois des sacs de fruits oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit (l'épicarpe) pour en recueillir le vrai jus sans modification (Boukhatham et al., 2019).

5.2. Méthodes innovantes d'extraction :

Sont des méthodes non conventionnelles mais présentant des objectifs suivants : (Triaux, 2017)

- Réduire le temps d'extraction,
- Utiliser des solvants éco-responsables,
- Augmenter le rendement d'extraction.

5.2.1. Extraction par solvant (ASE) :

C'est une extraction par solvant organique à pouvoir plus élevé que l'eau. C'est la méthode la plus pratiquée, où chaque solvant a des critères pour être choisis et qui sont :

- *La stabilité face à :*
 - La chaleur,
 - La lumière et l'oxygène,
 - Sa température d'ébullition sera de préférence basse pour faciliter son élimination,
 - Ne devra pas réagir avec l'extrait.

- En fonction de la technique et du solvant utilisé on obtient :
 - *Des hydrolysats* : eau comme solvant
 - *Des alcoolates* : éthanol dilué
 - *Des teintures* : éthanol et l'eau
 - *Des résinoïdes* : extraits éthanoliques concentrés
 - *Des concrètes* : extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers (**Boukhatham et al., 2019**).

5.2.2. Extraction par fluide à l'état supercritique (SFE):

Cette méthode a été appliquée à de nombreuses plantes pour l'obtention de leurs huiles essentielles. Elle utilise un fluide supercritique comme solvant d'extraction. C'est à dire un fluide chauffé au-delà de sa température critique et comprimé au-dessus de sa pression critique. A ce moment, le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse, ce qui se traduit par une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvateur. Le dioxyde de carbone (CO₂) est le fluide supercritique le plus utilisé, même si l'eau peut, être utilisée (**Triaux, 2017**).

5.2.3. Extraction assistée par ultra-sons :

L'extraction assistée par ultra-sons est plus de plus répandue. Les matrices végétales qui donnent des composés peuvent être directement utilisés comme des liqueurs ou bien servir d'additifs alimentaires ou cosmétiques.

C'est un procédé qui est achevé en 15 à 30 min de traitement à température ambiante. Cette technique permet d'amélioration des taux d'extraction globaux et de rendement, la possibilité d'utiliser moins de solvants, l'utilisation de sources de produits bruts moins coûteuses, l'amélioration de l'extraction de composés sensibles à la chaleur (**Fabiano-Tixier et al., 2016**).



Figure 4 : Extraction par ultra-sons (Anonyme 4)

5.2.4. Extraction assisté par micro-ondes

Cette technique consiste à tout extraire et surtout l'extraction solide-liquide, les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde différent (**Abderrahmane et al., 2021**). Le phénomène physique de l'extraction s'applique par diffusion de l'énergie par les micro-ondes qui va permettre de chauffer le solvant d'extraction au contact de la matière végétale, solubilisant ainsi les composés d'intérêt dans le solvant. La matrice solide peut elle aussi être sensible aux micro-ondes. C'est alors elle qui sera chauffé préférentiellement ce qui conduira à la libération des substances à extraire dans le solvant (**Triaux, 2017**).

Les avantages de l'extraction par les micro-ondes sont : (**Abderrahmane et al., 2021**).

- Augmenter la pureté de l'extrait,
- Plus rapide,
- Réduire la dégradation par la chaleur,
- Consommer moins de quantité de solvants.

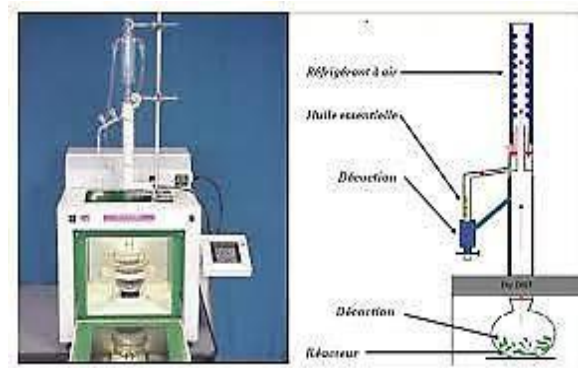


Figure 5 : Extraction par les micro-ondes (Anonyme 5)

5.2.5. Extraction par liquide pressurisé (PLE ou Pressurized liquid Extraction)

Cette méthode consiste en une extraction sous pression. Dans ces conditions, le solvant reste liquide au-delà de son point d'ébullition sous pression atmosphérique. Les solvants d'extraction utilisés en PLE sont les même que les autres méthodes d'extraction et l'eau peut être utilisé. L'automatisation de cette méthode c'est le principal avantage par rapport à méthodes précédentes (Triaux, 2017).

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERILES ET METHODES

Notre plante expérimentée *Ruta montana* L. ou communément appelée « la rue des montagnes » ou « Fidjel » appartient à la famille des *Rutaceae*. Plante méditerranéenne Algérienne issue de notre flore endémique, dotées de vertus médicinales et propriétés biologiques rendue par sa richesse en métabolismes secondaires. De par son utilisation répandue en médecine traditionnelle, le Fidjel ne reste sans effet indésirable et même toxique s'il est utilisé à des doses accrues. C'est dans cette optique que l'objectif de notre étude s'est principalement axé sur l'effet de l'utilisation de *Ruta montana* à des doses limites létales.

A cet effet, une étude *in vivo* de la toxicité aigüe des extraits bruts aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* est réalisée sur des souris *Albinos Wistar*. Ainsi, une étude toxicologique comparative est évaluée afin de déterminer l'effet du stade de développement de la plante (adulte ou partie aérienne vs. jeune ou feuilles) sur la toxicité aigüe des souris *Albinos Wistar*.

1. Matériel végétal

Les différentes parties de la plante *Ruta montana* L. sont récoltées dans la région d'Oued Althmania Wilaya de Mila. Nous avons déterminé la dose limite toxique des extraits végétaux de *Rue* récoltée en deux périodes de l'année en été et en hivers. La collecte est effectuée au mois de Février : période où la plante ne présente que des feuilles (stade jeune) et au mois d'Août: période de floraison de la plante (stade adulte).

Le matériel végétal expérimenté est réceptionné et identifié au laboratoire de Pharmacologie Toxicologie (LURPHATOX) au niveau de l'Institut des Sciences Vétérinaire El Khroub Université des Frères Mentouri Constantine 1. Les parties utilisées de Rue de montagne (*Ruta montana*) sont nettoyées des débris indésirables et séchées dans une étuve ventilée Memmert préchauffée à 60°C pendant une semaine. Puis les feuilles et les parties aériennes de la plante sont broyées finement à l'aide d'un broyeur à couteaux Resch.



Figure 6 : Les différents parties récoltées de la plante *Ruta montana* (parties aériennes à gauche et feuilles à droite les)

Le matériel utilisé pour l'extraction solide-liquide est composé de :

- Erlenmeyers
- Béchers
- Entonnoirs
- Culière-spatule
- Raclette
- Balance analytique Radway
- Broyeur à coteaux Resch
- Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- Papiers filtre wattman n° 1
- Papiers aluminium
- Etuve ventilée Mammert
- Coton carbonique et passoire
- Matière végétale *Ruta montana* (Rue ou Fidjel) :(partie aérienne et feuilles).



Figure 7 : Matériels de laboratoire utilisé

1.1. Mode opératoire :

Nous avons procédé à l'extraction solide-liquide de des feuilles et des parties aériennes de la plante *Ruta montana* selon une procédure d'extraction par décoction et par infusion afin de déterminer le taux de rendement le plus important.

- **La procédure d'extraction à chaud l'extraction par décoction** a été effectuée sur les deux parties (feuilles et parties aériennes) de *Ruta montana* selon le protocole décrit par Bamba et al. (2021).

Une masse de 100 g de poudre végétale fine a été ajoutée à 1L d'eau distillée et le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. Après refroidissement, la décoction (le mélange) a été essorée dans un carré de tissu propre, puis filtrée successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre (papier Whatman® 3mm). Le filtrat obtenu a été ensuite séché lentement à l'étuve à 40 °C pendant 72h. La poudre obtenue ou décocté aqueux a été conservée dans un flacon stérile et sec. Les différentes étapes d'extraction sont présentées dans le schéma suivant :

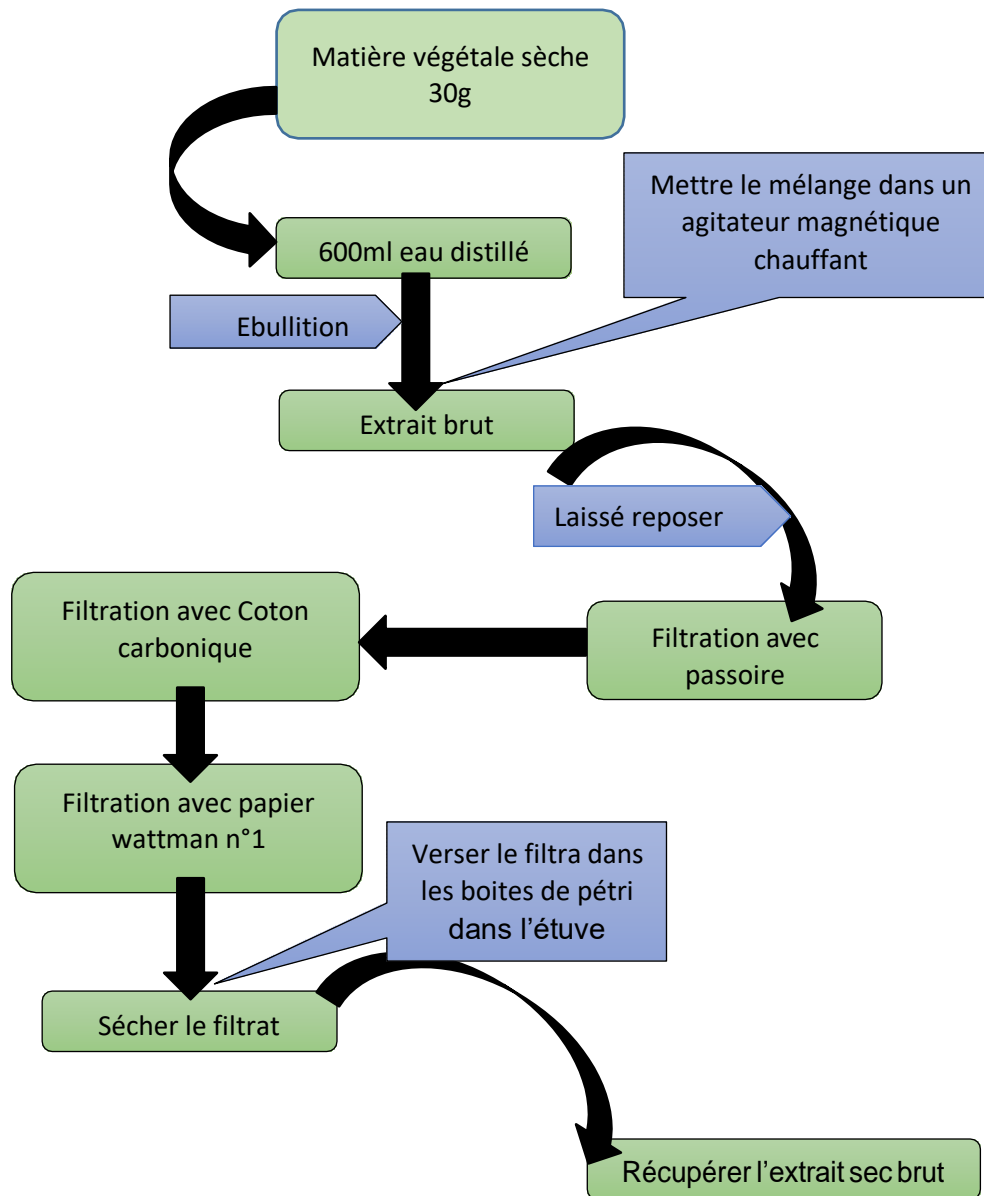


Schéma 1 : Protocole d'extraction solide-liquide par décoction des feuilles et des parties aériennes de la plante *Ruta montana*.L.

1.1.1. Extraction par décoction des parties aériennes de *Ruta montana*

Après avoir récoltés les parties aériennes de la plante Fidjel, un broyage est réalisé afin de réduire la plante en poudre à l'aide de broyeur à couteau Retsch.



Figure 8 : Broyages des parties aériennes de *Ruta montana* (stade adulte de la plante)

- ✓ Peser 30 g de la matière végétale (les parties aériennes broyées)
- ✓ Ajouter 600 ml de l'eau distillée dans bécher contenant 30 g de matière végétale.
- ✓ Mettre le mélange dans un agitateur magnétique chauffant pendant 25 min jusqu'à ébullition.
- ✓ Laisser le mélange refroidir et le couvrir avec du papier d'aluminium pour éviter l'évaporation.
- ✓ Laisser le mélange reposer pendant 24 h.



Figure 9 : Méthode de décoction des parties aériennes de *Ruta montana*

- ✓ Filtrer le décocté reposé à l'aide de coton puis le papier wattman n°1.
- ✓ Peser les boites de pétri puis verser le filtra.
- ✓ Mettre les boites de pétries dans l'étuve à 40°C pour sécher l'extrait et obtenir l'extrait brut aqueux.



Figure 10: Filtration l'extrait brute de décoction de les parties aériennes de *Ruta montana*

- ✓ Après le séchage de l'extrait brut, peser les boites de pétri contenant l'extrait brut sec.
- ✓ Récupérer l'extrait brut à l'aide de la raclette.



Figure 11 : Récupération de l'extrait brut aqueux de la partie aérienne de *Ruta montana*

1.1.2. Extraction par décoction des feuilles *Ruta montana*

Après le séchage les feuilles de la plante, un broyage est réalisé afin de réduire la plante en poudre à l'aide de broyeur à couteau Retsch.



Figure 12: Broyage des feuilles de *Ruta montana* (stade jeune)

- ✓ Peser 30 g de la matière végétale (les feuilles)
- ✓ Ajouter 600 ml de l'eau distillée dans bécher contenant 30 g de matière végétale.
- ✓ Mettre le mélange dans un agitateur magnétique chauffant pendant 25 min jusqu'à ébullition
- ✓ Laisser le mélange refroidir et le couvrir avec du papier d'aluminium pour éviter l'évaporation.
- ✓ Laisser le mélange reposer pendant 24 h.



Figure 13 : Décoction des feuilles de *Ruta montana*

- ✓ Filtrer le décocté après la durée de repos, à l'aide de coton puis le papier wattman n°1.

- ✓ Mettre les boîtes de pétries dans l'étuve à 40°C pour sécher l'extrait et obtenir l'extrait brut aqueux.



Figure 14 : Filtration et séchage de l'extrait de décoction des feuilles de *Ruta montana*

- ✓ Après le séchage de l'extrait brut, peser les boîtes qui contiennent l'extrait brut sec.
- ✓ Récupérer l'extrait brut à l'aide de la raclette.



Figure 15 : Pesée et récupération de l'extrait brut de décoction des feuilles de *Ruta montana*

- **Pour la méthode d'extraction par infusion :**

Mettre un bécher contenant 1000ml d'eau distillée sur un agitateur magnétique chauffant jusqu'à l'ébullition pendant 20 min. Peser 100g de matière végétale, ajouter dans l'eau distillée bouillante, laisser refroidir avec une petite agitation manuelle.

Fermer le contenu avec un papier film pendant 24h, faire la filtration du mélange à l'aide de papier Wattman n°3.

Peser les boîtes de pétris (poids vide) puis verser le filtra dans les boîtes de pétris, mettre dans l'étuve à température de 40°C pendant 3 jours afin de sécher. Après le séchage et le raclage,

les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans une boîte hermétiquement fermée.
Les différentes étapes d'extraction par infusion sont présentées dans le schéma suivant :

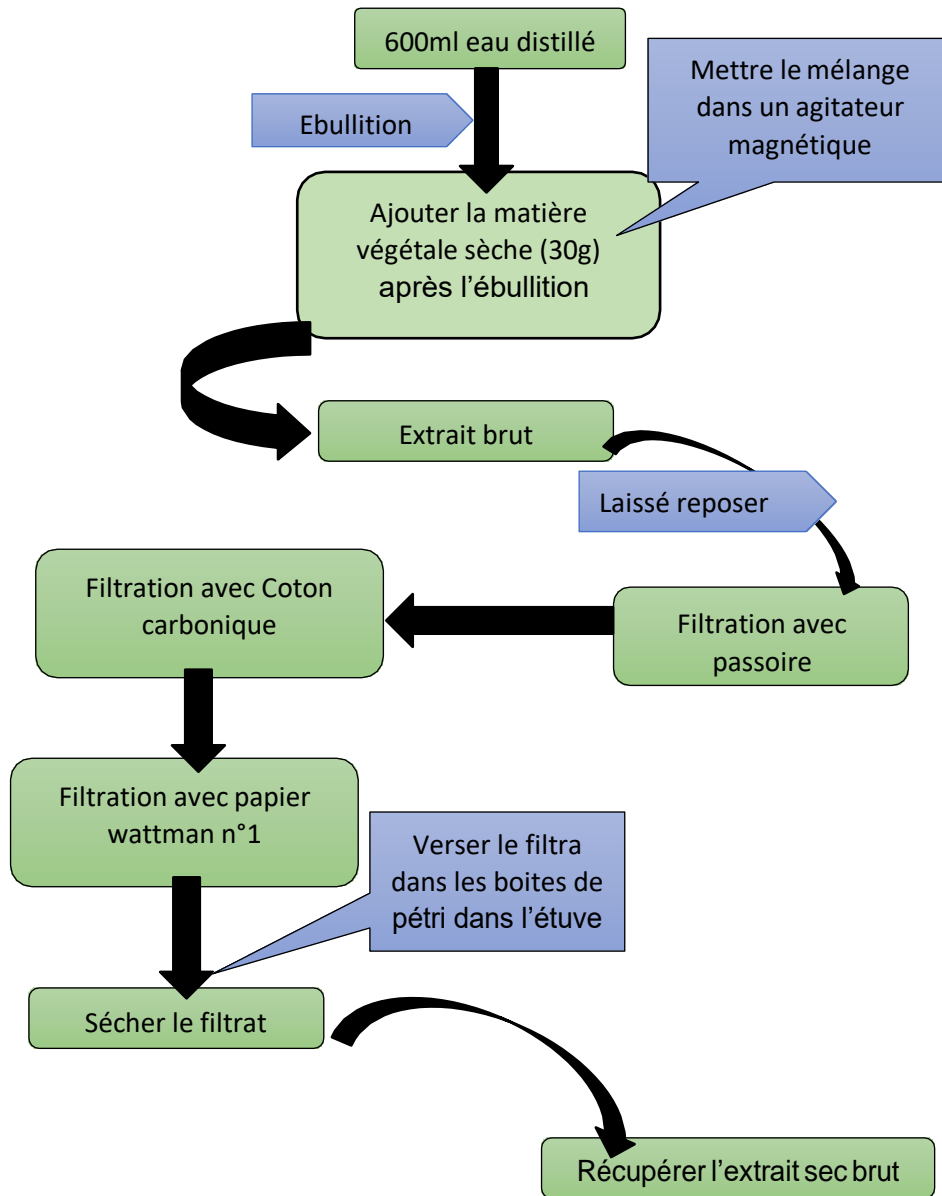


Schéma 2 : Protocole d'extraction solide-liquide par infusion des feuilles et des parties aériennes de la plante *Ruta montana*.L.

1.1.3. Extraction par infusion des parties aériennes de *Ruta montana*

- ✓ Peser 30 g de matière végétale « parties aériennes broyée » de la rue des montagnes
- ✓ Mettre un bécher contenant 600 ml d'eau distillée sur un agitateur magnétique chauffant jusqu'à ébullition pendant 25 min.
- ✓ Après ébullition, ajouter 30 g de matière végétale, laisser refroidir avec une petite agitation manuelle.
- ✓ Fermer le contenu avec papier d'aluminium pendant 24 h.



Figure 16 : Méthode d'infusion des parties aériennes de *Ruta montana*

- ✓ Filtrer l'infusion, après avoir reposé 24h, à l'aide du coton hydrophile puis à l'aide du papier wattman n°1.
- ✓ Peser les boîtes de pétri puis verser le filtra.
- ✓ Mettre les boîtes de pétries dans l'étuve à 40°C pour sécher l'extrait et obtenir l'extrait brut aqueux.



Figure 17: Filtration et séchage de l'infusion d'extrait brut des parties aériennes de *Ruta montana*

- ✓ Après le séchage de l'extrait brut, peser les boîtes qui contenant l'extrait brut sec.
- ✓ Récupérer l'extrait brut à l'aide de la raclette



Figure 18: Récupération et pesée de l'extrait brut de l'infusion les parties aériennes de *Ruta montana*

1.1.4. Extraction par infusion des feuilles de *Ruta montana*

- ✓ Peser 30 g de matière végétale « les feuilles broyées » de *Ruta montana*
- ✓ Mettre un bécher contenant 600 ml d'eau distillée sur un agitateur magnétique chauffant jusqu'à d'ébullition pendant 25 min.

- ✓ Après l'ébullition, ajouter 30 g de matière végétale et la laisser refroidir avec une petite agitation manuelle.
- ✓ Fermer le contenu avec papier d'aluminium pendant 24 h.



Figure 19: Méthode de l'infusion les feuilles de *Ruta montana*

- ✓ Filtrer l'infusion après la durée de repose, à l'aide de coton puis le papier wattman n°1.
- ✓ Mettre les boîtes de pétries dans l'étuve à 40°C pour sécher l'extrait et obtenir l'extrait brut aqueux.



Figure 20: Filtration et séchage l'extrait de l'infusion les feuilles de *Ruta montana*

- ✓ Après le séchage de l'extrait brut, peser les boîtes qui contenant l'extrait brut sec.
- ✓ Récupérer l'extrait brut à l'aide de la raclette.



Figure 21: Récupération l'extrait brut de l'infusion les feuilles de *Ruta montana*

1.1.5. Méthode de calcul du rendement de l'extrait végétal:

La mesure d'un rendement de l'extrait (R) est une étape très importante pour savoir la quantité et le pourcentage d'extrait obtenu par une extraction solide-liquide. Ce rendement est le rapport entre le poids de l'extrait sec (après l'évaporation) exprimé en g et le poids de l'échantillon initial (poudre végétale en g).

Le rendement d'extraction (%) pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (Me / M) \times 100$$

(%) : Rendement d'extraction exprimé en %.

Me : Masse de l'extrait sec résultant en g

M : Masse du matériel végétal (poudre) en g utilisée pour l'extraction.

2. Matériel animal

Afin d'évaluer la toxicité aigüe des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana*, nous a choisis les souris comme modèle animal expérimental. A cet effet, plus de 50 souris blanches mâles et femelles de la race *Albinos Wistar* pesant entre 25.68g et 38.31g, sont récupérées de

l'institut Pasteur d' Alger en février 2023 et réceptionnées au laboratoire de pharmacologie toxicologie (LURPHATOX) de l'Institut des Sciences Vétérinaires-Elkhroub-Constantine1. Nous avons adopté un système d'alimentation contenant des aliments concentrés et de l'eau de robinet.

Nous avons pratiqué un élevage de souris. Les animaux sont mis dans des conditions appropriées de température 25°C, humidité 45% et dispensés d'un éclairage artificiel faisant alterner des séquences de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité. Après leur reproduction, les mâles et les femelles sont séparées dans des cages en plastique, d'une longueur de 34 cm, d'une largeur de 23cm et d'une hauteur de 16 cm.



Figure 22 : Les souris *Albinos Wistar*

2.1. Préparations des animaux

Le principe du protocole du test de toxicité aiguë d'une plante médicinale « *Ruta montana* » est l'utilisation des souris de même sexe et d'un l'âge de 2mois de préfère des femelles puisque elle est très sensible.

Il faut prendre des animaux adultes sains et d'un poids uniforme.

Les animaux sont choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience.

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'expérimentation pendant 7 jours. Les souris blanc femelles de la race albinos *Wistar* pesant entre 25.68g et 38.31g, sont divisées en cinq lots, au nombre de 20 souris comme suit :

.1^{er} lot : contient 4 souris traitées à l'extrait 1 : la décoction des parties aérienne (dose minimale).

.2^{ème} lot : contient 4 souris traitées à l'extrait 2 : la décoction des feuilles (dose minimale)

.3^{ème} lot : contient 4 souris traitées à l'extrait 1 : la décoction de parties aériennes (dose maximale).

.4^{ème} lot : contient 4 souris traitées à l'extrait 2 : la décoction des feuilles (dose maximale)

.5^{ème} lot : contient 4 souris témoin commun pour les quatre lots traités recevant de l'eau distillée comme placebo.

2.2. Préparation des doses administrées

En général, la substance d'essai doit être administrée à volume constant pour toute la gamme de doses en variant la concentration de la préparation. Lorsqu'un produit liquide ou un mélange font l'objet de l'essai, l'utilisation du produit non dilué, donc à concentration constante, peut-être plus appropriée pour l'évaluation du risque de cette substance. Certaines autorités réglementaires le veulent ainsi (**OCDE, 2001**).

Dans aucun cas, le volume de dose maximal ne peut être dépassé. Le volume maximal du liquide qui peut être administré en une seule fois dépend de la taille de l'animal d'essai : le volume ne doit pas dépasser **0,5ml** de poids corporel on va calculer la moyenne corporelle.

- Les doses doivent être préparées juste avant l'administration.
- Administration de la même dose à trois animaux supplémentaires.
- Administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.
- La substance d'essai est administrée en une seule dose en utilisant une sonde gastrique
- Lorsqu'il n'est pas possible d'administrer la dose en une seule fois, celle-ci peut être fractionnée sur une période n'excédant pas 24 heures.
- Les animaux doivent être à jeun avant l'administration de la substance, pour les souris on supprime la nourriture, mais pas l'eau, pendant 3 à 4 heures.

- Après la période de jeûne, les animaux doivent être pesés et puis la substance d'essai leur est administrée.
- Après l'administration de la substance, les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture, pendant 1 à 2 heures pour les souris.

Lorsque des informations sont disponibles qui suggèrent une mortalité peu probable au niveau de dose initial le plus élevé (2000 mg/kg de poids corporel).

Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Une attention particulière s'impose pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance (OCDE, 2001).

A cet effet, les animaux sont mis à jeûne 3-4 heures avant le traitement et ils sont pesés juste avant le traitement par voie orale de l'extrait des différentes récoltes de *Ruta montana*.

2.3. Conditions d'hébergement et d'alimentation :

- La température du local expérimental est maintenue à 22°C (± 3 °C).
- Le taux d'humidité relative devrait être 30% au moins et ne pas dépasser 70%.
- dispensé d'un éclairage artificiel faisant alterner des séquences de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité.
- Les animaux sont hébergés dans des cages individuelles.
- Ils sont nourris avec des préparations classiques pour rongeurs de laboratoire et ont à disposition de l'eau du robinet.

2.4. Matériel et produits utilisés :

- 5 cages en plastique
- 5 biberons
- Seringue de 2.5 ml pour gavage
- Nutriment classique (concentré pour rongeurs)
- Sonde de gastrique
- 2 extraits aqueux (décoction des parties aériennes, décoction de feuilles)
- Litière en copeaux de bois

- Eau de robinet
- Balance électrique
- 20 souris *Albinos Wistar*
- Bistouri
- Formole

3. Evaluation in vivo de la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux de *Ruta*

***montana*:**

L'étude de la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait de *Ruta montana* a été conduite selon les directives **423 d'OCDE** (Organisation de Coopération et de Développement Economique) : Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë). La méthode utilisée dans cette étude est celle de l'ajustement des doses qui permet d'estimer la DL₅₀.

3.1. Description de la méthode d'ajustement des doses :

- L'essai se pratique sur des souris femelles, jeunes adultes. Les femelles doivent être multipares et non gravides.
- Au début de l'essai, chaque animal doit être âgé de 8 à 12 semaines et leurs poids corporel varient entre ($\pm 20\%$) du poids initial moyen des animaux.
- Les animaux sont choisis au hasard, marqués individuellement à dessin d'identification et gardés dans leurs cages cinq jours au minimum avant l'administration de la substance, afin qu'ils s'acclimatent aux conditions du laboratoire.
- Essai à 2000 mg/kg consiste à administré une dose minimale (2000mg/kg) à une souris.
- Essai limite 5000 mg/kg consiste à administrée une dose maximale (5000mg/kg) à une souris.

3.1.1. Protocole expérimentale

- Supprimer la nourriture mais pas l'eau pendant 3 à 4 heures
- Après le période à jeun, pesés les souris.

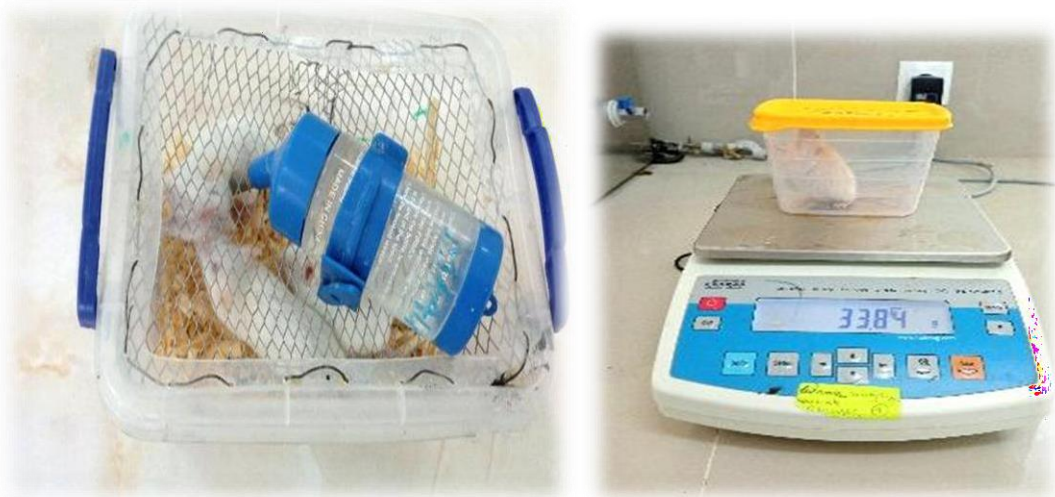


Figure 23: Pesée des souris de race *Albinos Wistar*

- Calculer la moyenne corporelle de chaque lot.
- Calculer la dose administrée pour chaque lot.
- Administré la substance d'essai : décoction des parties aériennes et décoction des feuilles de *Ruta montana*.



Figure 24 : Préparation des doses des extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

- Administré la solution d'extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* par gavage.
- Les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture.

- Les animaux de lots expérimentaux (lot 1 et 2) qui ont pris une dose minimale 2000mg/kg doivent être individuellement observés pendant les 4 premières heures et régulièrement pendant 14 jours.
- Après les résultats de ce gavage, nous avons gavés les lots (3 ,4) par une dose maximale 5000mg/kg et doivent être observés de la même manière que les deux lots précédents (lot 1 et 2).

3.1.2. Marquage des souris

Nous avons assigné des souris à chaque lot avec une couleur spécifique à l'aide d'un marqueur permanent et chaque souris de chaque lot avec un marquage comme suit :

- *Lot n°01 : couleur vert*
 - Souris 01 : nous n'avons pas mis de signe dessus.
 - Souris 02 : nous avons fait une ligne sur la queue en vert.
 - Souris 03 : nous avons fait deux lignes sur la queue en vert.
 - Souris 04 : nous avons fait trois lignes sur la queue en vert.
- *Lot n°02 : couleur noir*
 - Souris 01 : nous n'avons pas mis de signe dessus.
 - Souris 02 : nous avons tracé une ligne sur la queue en noir.
 - Souris 03 : nous avons fait trois lignes sur la queue en noir.
 - Souris 04 : nous avons fait trois lignes sur la queue en noir.
- *Lot n°03 : couleur vert*
 - Souris 01 : nous avons marqué la tête en vert et pas mis de signe dessus.
 - Souris 02 : nous avons marqué la tête et tracé une ligne sur la queue en vert.
 - Souris 03 : nous avons marqué la tête et tracé deux lignes sur la queue en vert.
 - Souris 04 : nous avons marqué la tête et tracé trois lignes sur la queue en vert.
- *Lot n°04 : couleur noir*
 - Souris 01 : nous avons marqué la tête en noir et pas mis de signe dessus.
 - Souris 02 : nous avons marqué la tête et tracé une ligne sur la queue en noir.
 - Souris 03 : nous avons marqué la tête et tracé deux lignes sur la queue en noir.
 - Souris 04 : nous avons marqué la tête et tracé deux lignes sur la queue en noir.



Figure 25: Marquage des souris expérimentées

3.1.3. Administration des doses :

Les solutions testées d'extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* administrée par gavage en une dose minimale 2000mg/kg et après 14 jours en une dose maximale 5000mg/kg est réalisée à l'aide d'une sonde gastrique.

Les souris ont été laissées à jeun 3 à 4 heures avant l'administration de la substance. Après cette période de jeûne, les animaux sont pesés, puis la substance leur est administrée.



Figure 26 : Méthode de gavage des extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

La dose est calculée en fonction du poids corporel à jeun de chaque souris ou bien la moyenne du poids de chaque lot. Après l'administration de la substance, les souris sont privées de nourriture, durant 1 à 2 heures.

3.1.4. Autopsie

Après l'administration des extraits bruts des différentes des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* en dose maximale 5000mg/kg par voie orale aux souris des lots 3 et 4, nous avons remarqué des mortalité des animaux, donc nous avons jugés important de pratiquer une laparotomie exploratrice pour les cadavre et voir l'effet de la dose administré sur les différents organes des souris intoxiquées.



Figure 27 : Autopsie des souris décédées

CHAPITRE : II RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce travail, nous exposerons et discuterons les résultats obtenus de l'étude toxicologique comparative *in vivo* des extraits bruts aqueux des parties aériennes et des feuilles de la plante *Ruta montana*. Une extraction solide-liquide par infusion et par décoction des deux parties végétales étudiées (feuilles ou stade jeune vs. parties aériennes ou stade adulte) est réalisée.

Dans le but d'extraire les métabolismes secondaires et de déterminer la toxicité aiguë *in vivo* du Fidjel par administration par voie orale d'une dose limite minimale (2g/kg) et une dose limite maximale (5g/kg) chez des souris *Albinos Wistar*. Ceci afin de cibler la dose létale (DL₅₀) et voir l'influence du stade de développement de la plante sur la charge en métabolites secondaires et sur le taux de rendement d'extraction végétale contenus dans les parties récoltées afin de déterminer éventuellement leur effet toxique à court terme.

1. Détermination du pourcentage du rendement d'extraction végétale

Après l'extraction solide-liquide par décoction et par infusion des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*, le pourcentage du rendement d'extraction est calculé. Le tableau et la figure suivants résumant ces résultats :

$$R (\%) = (\text{poids de l'extrait obtenu} / \text{poids de la matière végétale}) * 100$$

- **Rendement de décoction :**

R1 : Rendement de décoction des parties aériennes = $(5.23/30)*100 = 17.43\%$

R3 : Rendement de décoction des feuilles = $(16.17/30)*100 = 53.9\%$

- **Rendement d'infusion**

R2 : Rendement d'infusion des parties aériennes : $=(5/30)*100=16.6\%$

R4 : Rendement d'infusion des feuilles $=(14.99/30)*100=49.96\%$

Tableau 4: Pourcentage du rendement d'extraction solide-liquide par décoction et par infusion des parties récoltées (parties aériennes, feuilles) de la plante *Ruta montana*

Parties végétales de <i>Ruta montana</i>		Poids de l'extrait obtenu (g)	Poids végétal Total (g)	Pourcentage du rendement (%)
Parties aériennes	Décoction	5.23g	30g	17.43%
	Infusion	5g	30g	16.6%
Feuilles	Décoction	16.17g	30g	53.9%
	Infusion	14.99g	30g	49.96%

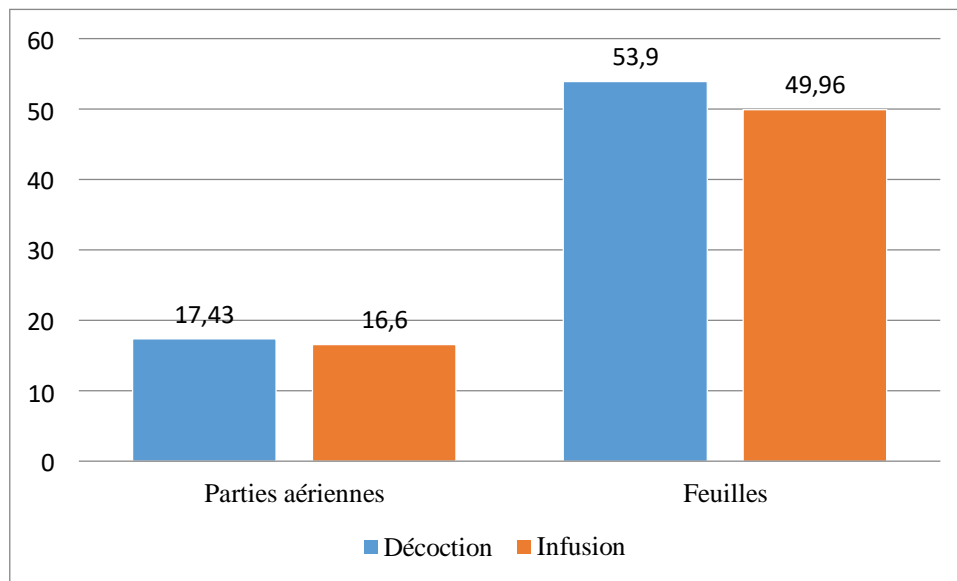


Figure 28: Rendement d'extraction solide-liquide par décoction et par infusion des parties récoltées (les parties aériennes, les feuilles) de *Ruta montana*

Selon la figure et le tableau ci-dessus, on observe que le rendement d'extraction de *Ruta montana* au stade jeune (feuilles) (53.9 ; 49.96 %) est trois fois plus important que celui des parties aériennes au stade adulte (17.43 ; 16,6 %) en utilisant les deux méthodes d'extractions respectives (décoction et infusion). De plus, nous remarquons que le pourcentage de

rendement d'extraction par décoction respectivement des parties aériennes et des feuilles (17.13% ,53.9%) est plus important que le rendement d'extraction par infusion respectivement des parties aériennes et des feuilles (16.6%,49.96%). Ce qui pourrait nous orienter sur le choix de la méthode.

Nos résultats sont en concordance avec les résultats de **Daoudi et al. (2015)** qui ont trouvés que le décocté et le cataplasme sont les formes galéniques les plus utilisées (100%), quant à l'infusion, elle représente 95% des usages de *Ruta montana*.

Nos résultats sont en accord avec le travail de **Mergem (2015)** qui enregistre un rendement d'extraction 13.53% à partir de 100g de les parties aérienne de *Ruta montan* mixte avec 1l de l'eau distillé. De plus **Kara Ali (2017)** trouvée que le rendement est de 53.43% par rapport au poids sec végétal de *Ruta montana*.

2. Effet d'une dose minimale et d'une dose maximale de l'extrait aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* sur l'évolution du poids corporel des souris *Albinos Wistar*

Le poids de chaque souri a été déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai « fidjel » et ensuite au 7ème jour (J7) et le dernier jour du protocole (J14).

2.1 / Résultats de la moyenne corporelle des souris expérimentées :

- **Moyenne corporelle** = $\frac{(p1+p2+p3+p4)}{4}$

- **Lot témoin :**

$$M1 = \frac{(33.86+31.35+25.27+27.71)}{4} = 29.55g$$

- **Lot N°01 :**

$$M2 = \frac{(29.81+38.31+29.35+31.40)}{4} = 32.22g$$

- **Lot N°02 :**

$$M3 = \frac{(31.32+31.01+29.13+29.32)}{4} = 30.20g$$

- **Lot N°03 :**

$$M4 = \frac{(27.91+36.32+28.66+28.44)}{4} = 30.33g$$

- **Lot N°04 :**

$$M5 = \frac{(25.68+28.34+32.34+28.50)}{4} = 28.72g$$

2.2 / Résultats du calcul de la dose minimale et la dose maximale :

- **Lot N°01 : décoction parties aériennes (dose min)**

2000mg	→	1000g	}	$x = \frac{(32.22 \times 2000)}{1000} = 64.44 \text{ mg}$
X	→	32.22g		
64.44mg	→	0.5ml	}	$y = \frac{(64.44 \times 3)}{0.5} = 386.64 \text{ mg}$
Y	→	3ml		

- **Lot N°02 : décoction feuilles (dose min)**

2000mg	→	1000g	}	$x = \frac{(30.20 \times 2000)}{1000} = 60.4 \text{ mg}$
X	→	30.20g		
60.4mg	→	0.5 ml	}	$y = \frac{(60.4 \times 3)}{0.5} = 362.4 \text{ mg}$
y	→	3 ml		

- **Lot N°03 : décoction parties aériennes (dose max)**

5000mg	→	1000g	}	$x = \frac{(30.33 \times 5000)}{1000} = 151.65 \text{ mg}$
X	→	30.33g		
151.65	→	0.5ml	}	$y = \frac{(151.65 \times 3)}{0.5} = 909.9 \text{ mg}$
Y	→	3 ml		

- **Lot N°04 : décoction feuilles (dose max)**

$$\begin{array}{l}
 5000\text{mg} \longrightarrow 1000\text{g} \\
 X \longrightarrow 28.72\text{g} \\
 143.6 \longrightarrow 0.5\text{ml} \\
 Y \longrightarrow 3\text{ml}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 5000\text{mg} \\ X \\ 143.6 \\ Y \end{array}} \right\}
 \begin{array}{l}
 x = \frac{(28.72 \times 5000)}{1000} = 143.6\text{mg} \\
 y = \frac{(143.6 \times 3)}{0.5} = 861.6\text{mg}
 \end{array}$$

Tableau 5: Evolution du poids corporel des souris témoins et des lots expérimentaux recevant l'extrait bruts aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

	1^{er} jour	7^{ème} jour	14^{ème} jour
<i>L1 : Décocté parties aériennes (dose min)</i>	32.22 ± 3.12 g	36.49 ± 2.22 g	35.79 ± 1,11 g
<i>L2 : Décocté feuilles (dose min)</i>	30.20 ± 1.12 g	34.11 ± 3.78 g	35.12± 2.08 g
<i>L3 : Décocté parties aériennes (dose max)</i>	30.33 ± 3.08 g	28.15 ± 2.78 g	32.02 ± 2.07 g
<i>L4 : Décocté feuilles (dose max)</i>	28.72 ± 1.11g	37.32 ± 2.87 g	35.80± 1.02 g
<i>Lt : lot témoin</i>	29.55 ± 2.78 g	33.44± 1.78 g	31.41± 1.66 g

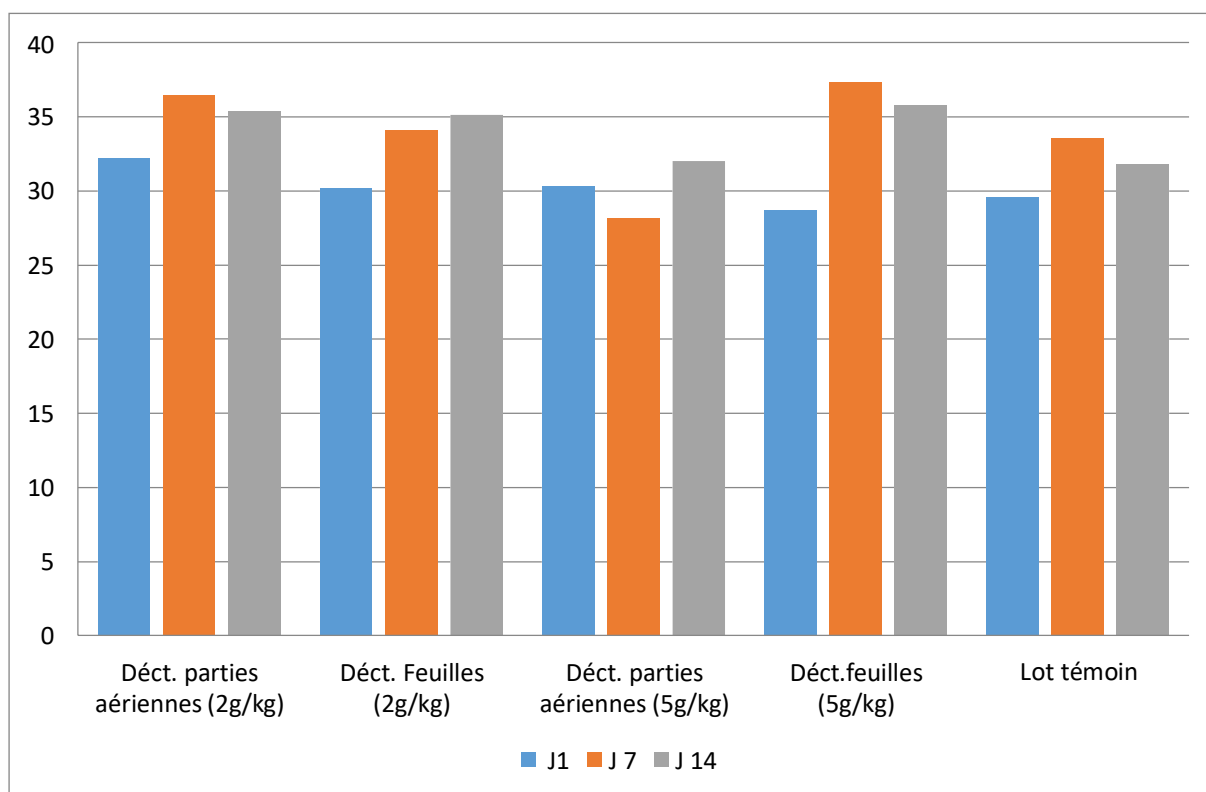


Figure 29: Evolution du poids corporel des souris témoins et des lots expérimentaux recevant l'extrait bruts aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

Dans notre étude, nous avons remarqué une évolution pondérale normale des souris des lots expérimentaux comparativement aux femelles du lot témoin, quel que soit les lots recevant le décocté des parties aériennes de *Ruta montana* à la dose minimale 2000mg/kg (lot 1et 2), : (32.22g,36.49g,35.79g) ou recevant le décocté des feuilles de *Ruta montana* à la dose minimale 2000mg/kg (30.20g,34.11g,35.12g), aussi ou les lots recevant le décocté des parties aériennes de *Ruta montana* à la dose maximale 5000 mg/kg pour le lot3 et 4 (30.33g,28.15g,32.02g) et le lot recevant le décocté des feuilles de *Ruta montana* (décoction à la dose maximale 5000 mg/kg (28.72g,37.32g,35.80) en comparaison avec le lot témoin (29.55g , 33.56g , 31.81g).

Nous pourrions conclure qu'il n'y a aucun effet biologique significatif de l'extrait brut aqueux des parties aériennes et des feuilles sur l'évolution de la condition corporelle.

Nos résultats sont accord avec l'étude de **Allouni (2018)**, où elle est traité les souris par des doses jusqu'à la DL₅₀.

De plus, nos résultats de la condition corporelle des souris expérimentées sont en concordance avec l'étude de **Mergem (2015)** qui a trouvé une évolution normale similaire du poids corporel des animaux traités en comparaison avec les témoins.

3 / L'effet d'une dose minimale et d'une maximale de l'extrait aqueux de *Ruta montana* sur les symptômes et les signes cliniques des souris *Albinos Wistar* :

Nous observons individuellement les souris dans les premières minutes et une fois à chaque une heure pendant 4 heures après l'administration de l'extrait aqueux de *Ruta montana*, puis nous observons quotidiennement et régulièrement à la même heure tous les jours pendant 14 jours.

Après l'administration de l'extrait aqueux de *Ruta montana* par voie orale à des souris femelles, on a remarqué qu'il y a une augmentation régulière des signes d'intoxications et de mortalité en liaison avec la dose injectée. Les signes sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 6: Effet d'une dose minimale et d'une maximale de l'extrait aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* sur les souris *Albinos Wistar*.

	15 premières minutes	4^{ème} heures	1^{er} jour au 3	7^{ème} jours	14^{ème} jours
L1 : Décoction parties aériennes (2g/kg)	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures Yeux fermes Redressement des poils Convulsions	-yeux fermés redressement des poils	aucun signe	aucun signe
L2 : Décoction feuilles (2g/kg)	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures Yeux fermes Redressement des poils Convulsions	-yeux fermés redressement des poils	aucun signe	aucun signe
L3 : Décoction parties aériennes (5g/kg)	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures Yeux Fermes Redressement des poils Convulsions	-yeux fermés redressement des poils	aucun signe	aucun signe
L4 : Décoction feuilles (5g/kg)	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures	Sédation Diminution de l'activité locomotrice Paralyse des pattes postérieures Yeux Fermes Redressement des poils Convulsions	-yeux fermés redressement des poils	aucun signe	aucun signe
Lt : lot témoin	aucun signe	aucun signe	aucun signe	aucun signe	aucun signe

D'après le tableau ci- dessus résumant les effets et les symptômes cliniques des souris recevant des doses de l'extrait aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana*. Nous avons remarqué que les souris qui reçoivent soit les doses minimales ou les doses maximales par voie orale de l'extrait brut des parties aérienne et de l'extrait des feuilles de *Ruta montana* dans les 15 premières minutes ; les femelles présentent les mêmes signes cliniques telles que :sédation, diminution de l'activité locomotrice avec paralyse des pattes

postérieures . Ensuite, dans les 4 premières heures, le tableau clinique des souris traités par l'extrait du décocté de *Ruta montana* s'est caractérisé par d'autres symptômes cliniques comme : redressement des poils, les yeux fermés, convulsions. Alors que nous avons remarqué que les souris qui ont survécu, après 3 jours maximum, elles présentées un comportement normal, similaire aux souris du groupe témoin.

En effet, les convulsions et la paralysie sont expliqués selon **Tamokun et Kuete (2014)** par l'action de la substance toxique sur des récepteurs nerveux ce qui conduit à des effets biochimiques et la perturbation du métabolisme et la perturbation des échanges à travers les membranaires cellulaires se traduisant par des modifications des réponses comportementaux et physiologiques.

L'étude réalisée par **Allouni (2018)** en accord avec notre étude, s'intéresse à la toxicité aigüe par orale de *Ruta montana* chez les souris mâles et femelles pour trouver la dose létale DL₅₀. Cette étude est effectuée pour évaluation de la toxicité aigüe et subaigüe des alcaloïdes totaux des parties aériennes de *Ruta montana* sur des souris *Swiss Albinos* de sexe mâle et femelle.

Les différentes méthodes de calcul et graphique nous a permis de déterminer la DL₅₀ chez les souris mâles et femelles, qui est estimée à 372, 6 ± 13,7 mg/kg et 217 ± 8, 3 mg/kg respectivement. La toxicité aigüe est évaluée par l'administration de la dose 129, 68 mg/kg et 75, 23 mg/kg (1/3 de la DL₅₀) chez les souris mâles et femelles respectivement par voie intrapéritonéale. Pour l'étude de **Merghem (2015)**, l'administrée du xénobiotique est réalisée par voie orale pour la décoction de l'extrait aqueux de *Ruta montana* chez des rats.

4. Résultat de mortalité des souris expérimentées avec la dose limite minimale 2g/kg et la dose limite maximale 5g/kg

Le tableau suivant nous renseigne sur l'état des souris recevant la dose minimale de 2g/kg et la dose maximale 5g/kg de poids vif administrés par voie orale de l'extrait brut aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*.

Tableau 7: Taux de mortalité des souris recevant une dose minimale (2g/kg) et une dose maximale (5g/kg) d'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

	Nombre de souris expérimentées	Nombre de souris mortes	Pourcentage de mortalité
L1 : Décoction parties aériennes (2g/kg)	4	0	0
L2 : Décoction feuilles (2g/kg)	4	0	0
L3 : Décoction parties aériennes (5g/kg)	4	2	50%
L4 : Décoction feuilles (5g/kg)	4	1	25%
Lt : Lot témoin	4	0	0

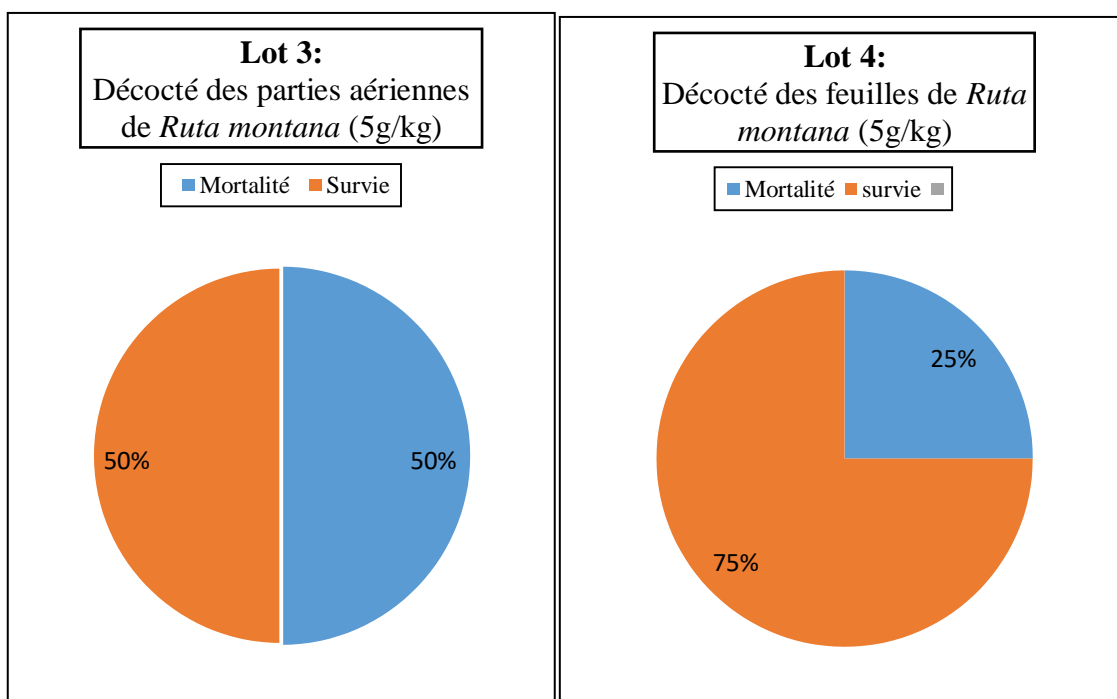


Figure 30: Taux de mortalité des souris recevant une dose minimale (2g/kg) et une dose maximale (5g/kg) d'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana*

D'après les résultats illustrés dans le tableau et les figures ci-dessus, nous remarquons la mort de 50% (2/4 de Lot 3) des souris qui ont reçu par voie orale une dose maximale (5g/kg) de l'extrait brut des parties aériennes de *Ruta montana*. Nous avons remarqué la mort de 25% (1/4 de lot 4) des souris qui ont reçu par voie orale une dose maximale (5g/kg) de l'extrait brut des feuilles de *Ruta montana*. Cette mort pourra s'expliquer par l'état d'intoxication des souris femelles. Ainsi, nous pouvons conclure que la dose létale 50 (DL₅₀) est supérieure à 2g/kg, et inférieure à 5g/kg. (2mg/kg < DL₅₀ < 5mg/kg).

Les résultats obtenus pendant la première période du protocole (48heures) qui ont suivi la première journée d'observation permettent de constater que l'extrait brut total des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* administrés par des doses minimales (2000mg/kg) exercerait son action toxique sur une période de 15minutes à 2 jours. Les jours qui suivants, on ne remarque plus de mortalité.

Ainsi, les souris traitées (lots 1 et 2) rentrent dans une phase de récupération après 48 heures. Après avoir augmenté le dose à (5000mg/kg), nous avons trouvés que les lots 3 et 4 présentent les mêmes signes cliniques des premiers jours d'administration des lots à 2000mg/kg mais le nombre de décès différents (50% de mortalités pour le lot 3, 25% de mortalités pour le lot 4).

Selon **Allouni (2018)**, la mort de ces souris indique que les molécules mères des alcaloïdes sont responsables de la survie des autres souris et non à leurs métabolites, ce qui signifie que l'organisme animal à des capacités de métaboliser les alcaloïdes de la plante soit en rendant inoffensive la substance, soit en l'éliminant entièrement par les voies d'excrétion naturelles.

Par ailleurs, les résultats de l'étude sur la toxicité aigüe de *Ruta montana* par voie orale réalisé par **Merghem (2015)** sont en accord avec notre étude, où cet auteur ne montre aucun décès et aucun signe clinique de toxicité après l'administration des doses 2,4,6,10 et 12g/kg du poids corporel par voie orale chez les souris mâles et femelles.

D'après les résultats de cette étude, on peut conclure que la *Ruta montana* adulte (parties aériennes) malgré son rendement faible (17,43% du décocté), cet extrait à provoque 25% et 50% de mortalité, ceci probablement par la présence des alcaloïdes totaux par rapport la *Ruta montana* jeune (feuilles).

Cette hypothèse est affirmée par une étude réalisée par **Driouche et al (2021)** ; ces auteurs ont révélé que les alcaloïdes totaux de la plante *Ruta montana* récolté au cours de différents saisons a été récolté. Ces auteurs ont noté que le rendement le plus élevé a été obtenu à partir

de la plante récoltée au stade de floraison (en Aout) ; tandis que le rendement le plus faible a été obtenu en hiver (février). Donc les alcaloïdes totaux sont augmentés pendant la période de moisson.

5. Consommation de la quantité de nourriture:

A partir de nos résultats, nous avons remarqué une consommation significativement normale de la quantité de nourriture pour les quatre groupes traités par l'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* recevant la dose minimale ainsi que la dose maximale comparativement au groupe témoin.

6. Consommation de volume d'eau :

A partir de nos résultats, nous avons remarqué une consommation significativement normale de la quantité d'eau pour les quatre groupes traités par l'extrait aqueux des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* recevant la dose minimale (2g/kg) ainsi que la dose maximale (5g/kg) comparativement au groupe témoin.

Selon **Piao et al (2013)**, les alcaloïdes totaux de *Ruta montana* n'ont aucun effet sur l'évaluation pondérale des mâles et femelles, donc la consommation de nourriture et d'eau sont considérés ordinaires.

7. Résultats des organes des cadavres autopsiés

Les résultats respectifs de l'autopsie des souris décédées (lot 3 et lot 4) pendant les 15minutes à 24 heures après l'administration par voie orale d'une dose maximale 5000mg/kg de l'extrait brut des parties aériennes et des feuilles de *Ruta montana* sont représentées dans les figures suivantes.

Après dissection des cadavres, une diminution significative dans la masse relative de foie et des poumons ainsi que des taches sanguines sur le cœur ; un gonflement de l'estomac et une hémorragie sur l'utérus est remarquées.

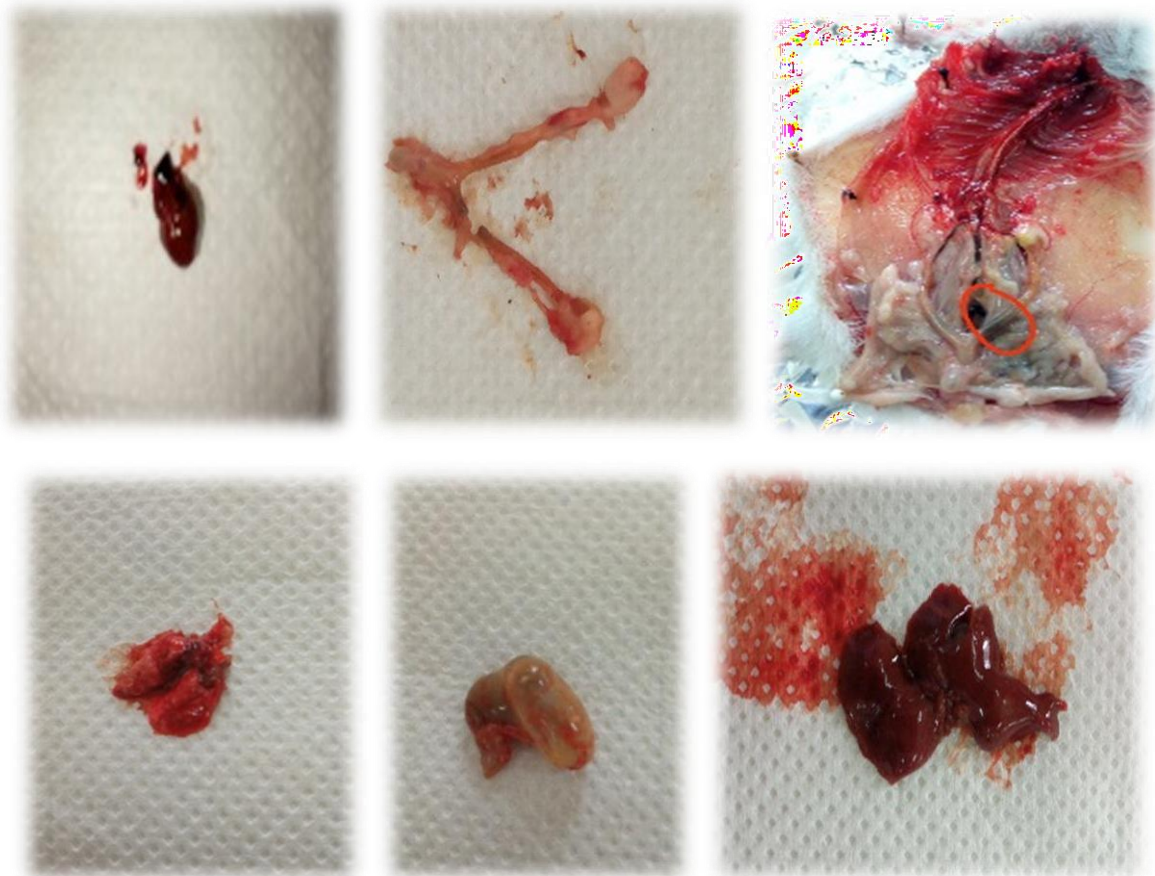


Figure 31 : Organes (foie, poumons, cœur, estomac et utérus) des souris autopsiées du lot 3 et du lot 4

Ces observations sont accord avec les travaux de **Allouni (2018)**. Cet auteur observe une diminution significative dans la masse relative de poumons qui peut être due à une peroxydation lipidique ou à une oxydation des acides gras polyinsaturés dans les mitochondries ce qui conduit à la formation de peroxyde de lipide avec des dommages cellulaires (**Gurre et James, 1980**).

La baisse significative de la masse relative du foie pourrait être en relation avec la pression veineuse systématique accrue reflétée par l'hypertension veineuse hépatique, ce qui peut provoquer une atrophie des cellules hépatiques par des congestions sinusoidales (**Freedman et Keeffe, 2004**),

De plus , **El-Agraa et al. (2002)** affirment que les coupes histologiques du foie, montrent une surcharge hépatocytaire et une congestion sinusoidale et portale dans les tissus hépatiques.

Ces mêmes auteurs ajoutent qu'une perturbation du rythme cardiaque montre un blocage non spécifique des fonctions cardiovasculaires à forte contention entraînant à une hypotension puis éclatement.

Selon **Allouni (2018)**, une hémorragie dans les trompes de Fallope à cause de lacération des vaisseaux sanguins de la couche interne d'utérus. de plus, le gonflement de l'estomac serait provoqué par l'action de la substance toxique en modifiant la perméabilité membranaire.

CONCLUSION

Au terme de notre étude réalisée sur des souris *Albinos Wistar* en évaluant *in vivo* la toxicité aigüe par voie orale des extraits aqueux des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* « Fidjel », nous pouvons conclure que :

- Lors de l'extraction solide-liquide de différentes récoltes (feuilles et parties aériennes) de *Ruta montana*, le rendement d'extraction par décoction est plus important (53.9%; 17.13%) que le rendement d'extraction par infusion (49.96%; 16.6%) pour les deux parties récoltées respectivement. De plus, lorsque la plante *Ruta montana* est jeune (partie feuilles), le rendement d'extraction par décoction ou par infusion est trois fois plus important (53.9 % et 49.96%) que le rendement d'extraction de la même plante lorsqu'elle est au stade adulte (parties aériennes (17.13 ; 16.6%)).
- L'étude de la toxicité aigüe par voie orale de *Ruta montana* par dose minimale (2g/kg) a montré des symptômes graves de toxicité représentés par des signes respiratoires, neurologiques et des paralysies. Après 48h post-gavage, les souris présentent un comportement normal similaire aux souris témoins avec aucune mortalité. Ce qui nous a incités à l'administration de la dose maximale (5g/kg), où nous avons remarqués les mêmes signes cliniques par contre le pourcentage de mortalité est plus important pour le lot 3 (50% de mortalité) et le lot4 (25% de mortalité).
- La dose létale (DL₅₀) des feuilles et des parties aériennes de *Ruta montana* est supérieure à 2g/kg et est inférieure à 5g/kg.
- Après l'administration de l'extrait de l'extrait aqueux des feuilles et parties aériennes de *Ruta montana*, nous avons remarqué une variation du poids corporel est observée pour les lots expérimentaux (1, 2, 3,4) comparativement au lot témoin.
- L'autopsie des souris mortes révèle une diminution significative de la masse des poumons et du foie, l'éclatement des vaisseaux sanguins de cœur, une hémorragie en niveau d'utérus et un gonflement de l'estomac chez les souris décédées du lot3.
- A partir des résultats obtenus, *Ruta montana* pourrait être classée dans la catégorie des plantes toxiques. Il serait donc important de savoir que cette plante utilisée avec précaution dans le traitement traditionnel et en quantité mesurés, en particulier pour les parties aériennes (plante adulte) qui doivent être utilisées en petites quantités afin d'éviter toute intoxications.

REFERNCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abd Ellatif R., Fareh S., Bekhouche M.** valuation de l'effet toxique de l'huile essentielle de *Ruta montana* à l'aide d'un modèle biologique *Drosophila melanogaster*. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi –Tébessa. 2022, p7.
- **Abderrahmen Siham et Bakhadou Nejdade** .Recherche de l'activité antibactérienne des extraits bruts des graines de mucilage de *Trigonella foenum-graecum* L.de la région de Fenoughil(Adrar).Mémoire de master, Université Ahmed DRAIA-Adrar.2022.p28-29.
- **Ait Ouakrouch I, Amal S, Akhdari N, Hocar O.** Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du vitiligo à Marrakech, Maroc. *Ann DermatolVenereol.* 2017;144(12 suppl.):S334
- **Ait Youssef.** plante médicinale de Kabylie. Ed. Ibis press.2006
- **Allouni Rima.** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana*. Thèse de doctorat Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Department de Biochimie, Université Ferhat abbas Sétif1, Algerie,2018,p8
- **Alloun kahina.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *L'aneth* (*Anethum graveolens*. L), de *La sauge* (*Salvia officinalis*. L) et de *la rue des montagnes* (*Ruta montana*. L). Thèse de magister. École nationale supérieure Agronomique EL Harrach, Alger. 2013, p28.
- **Anne-Sylvie Fabiano-Tixier ,Natacha Rombaut, Magali Jacotet-Navvaro, Antoine Bily et Farid Chemat.**Eco-extraction du végétal intensifiée par ultrasons. *L'actualité chimique* -september 2016. n°410.p31-34.
- **Bafor, E. E et Igbinuwen, O.** Acute toxicity studies of the leaf extract of *Ficus exasperata* on haematological parameters, body weight and body temperature. *J Ethnopharmacol*, 2009.123:3027
- **Bamba, B., Benie, C. K. D., Ouattara, A., Doukourou, D. N., Kamou, R. K., & Ouattara, K.** Teneurs en phenols totaux, activités antioxydantes des macérés et décocté des feuilles de *Uvaria chamae* P. Beauv.(Annonaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2021.15(1), 54-67.

- **Barnard, D.L., Xu, Z.Q., Stowell, V.D., Yuan, H.** Coumarins and pyranocoumarins, potential novel pharmacophores for inhibition of measles virus replication. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2002 .13: 39–59
- **Belazizia Nedjoua et Askri Mebarka.** Etude des activités antioxydante et anti bactérienne de la plante *Ruta Montana*. Mémoire de master. Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi. 2020,p17-19.
- **Belkassam, A., Zellagui, A., Gherraf, N., Lahouel, M et Rhouati.** Essential oil composition of Algerian *Ruta montana L.* and its antibacterial effects on microorganisms responsible for respiratory infections. *Advances in Natural and Applied Sciences*,2011. 5(3), 264-268.
- **Benhamou, J et Erlanger, S.** *Maladie du foie et des voies biliaires*, 5^{ème} édition. Paris : flammariion medicine science,2008. p 220.
- **Boudersa Rayene et Bendali nora .**Evaluation in vivo de la toxicité aigüe d'une plante médicinale *Echinops spinosus* sur des souris Albinous Wistar. Mémoire de master ,Université Frères Mentouri Constantine .2022.p.(53-100).
- **Boyd, E. M.** 1 The acute oral toxicity of acetylsalicylic acid. *Toxicol and Appl, Pharmacol.*1949 1:229.
- **Brown, A. L.** An analysis of he developing metanephros in mouse embryos with abnormal kidneys. *Amer. J. Anat.*1931. 47: 117-172.
- **Bruneton, J.** *Pharmacognosie, photochimie des plantes médicinales*, 3^{ème} Ed., Technique et documentation. Lavoisier, Paris 230,1999. p 647- 1120.
- **Carter, T. C.** The genetics of luxate mice. IV. Embryology. *J. Geent*,1954. 52: 1-35.
- **Chaibeddra Zineb.** Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montana* et *Ruta tuberculata* Forsk : point de vue phytochimique et pharmacologique. Mémoire de Magister. Université EL Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi. 2014, p19-31.
- **Chiu, K.W., and Fung, A.Y.** The cardiovascular effects of green beans (*Phaseolus aureus*), common Rue (*Ruta graveolens*), and Kelp (*Laminariajaponica*) in rats. *GenPharmacol*,1997 .29, 859 -862.
- **. Choi, H. Song, J. et Park, K.** Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur. J. Pharm.* 2009.Sci, 37 (3-4): 329
- **DAOUDI, A., HROUK, H., BELAIDI, R., et al.** Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir

antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*, 2016, vol. 7, no 3, p.930.

- **DRIOUCHE, A., BOUTOMI, H., LETTREUCH, H.** Antimicrobial Activity of Xanthotoxin Isolated from *Ruta montana* Extract and Effect of Harvesting Time on its Content *Journal of Materials and Environmental Science*, 2016, vol. 12, no 7, p 977.
- **Dunn, T.B.** Some observations on the normal and pathological anatomy of the kidney of the mouse. *J. Nat. Cancer Inst.* 1949. 9: 285-301.

Duke, A. J., Duke, P. A. K et Duce, J. L. *Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible*, Ed: CRC Press, 2008. p: 394 – 397.

- **Eaton, D. L et Klaasen, C. D.** *Principles of toxicology*. In: *Klaasen CD, editor. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*. New York, NY: McGraw-Hill. 2001. P 1134.
- **El Agraa, S. E., El Badwi, S.M et Adam, S. E.** Preliminary observations on experimental *Ruta graveolens* toxicosis in Nubian goats. *Trop Anim Health*, .2002.34:271– 281.
- **El-Demerdash, F. M., Dewar, Y., Elmazoudy, R. H et Attia, A.** Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD1 mice. *Experimental and Toxicological Pathology*, 2013. p 65: 897-901.
- **Effendi, L. Yajun. Y, Mattheos, A. et Koffas, G.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.* 8:2008, P- 172; 181
- **Forment, M., Roques, H.** *Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie*. Ed. OFALAC, 1941, p : 59.
- **Friedman, S. L et Keeffe, B. E.** *Handbook of liver disease second edition* ,2004.p.18
- **Fritch, H. et Griesbach, H.** Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem*, 14:1975, P- 2437; 42.
- **Gurr, M. I et James, A.T.** *Lipid biochemistry*. 3rd ed. New York, NY: Sciences Publisher, .1980p. 230.
- **Harborne, J.B. et Williams, C.A.** *Advances in flavonoid research since 1992* *Phytochemistry*, 2000.55. P- 481; 504.
- **Hedrich, H.** *The laboratory mouse*, Academic press, Elsevier Ltd, 2012. p187

- **Hemmer, M.** *Conception, synthèse et évaluation biologique de dérivés coumariniques en tant qu'agents anticancéreux potentiels. Thèse de doctorat. Université de Liège 2010*
- **Kadi Nabiha.** *Analyses Biomorphométriques et Phytochimiques de Lobularia martimaL.(Desv).dans la Région de Mostaganem. Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Bdis-Mostaganem.2018.p14.*
- **Kabouche, Z., Benkiki, N., Seguin, E., Bruneau, C.** *A new dicoumarinyl ether and two rare furocoumarins from Ruta montana. 2003.Fitoterapia, 74: 194–196*
- **Kambouche, N., Merah, B., Bellahouel, S., Bouayed, J., Dicko, A., Derdour, A., ... & Soulimani, R.** *Chemical composition and antioxidant potential of Ruta Montana L. essential oil from Algeria. Journal of medicinal food, 11(3), 2008.p593-595.*
- **Kara Ali, W.** *Effet des extraits de la plante médicinale Ruta montana (sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules cancéreuses ovarien (A2780). These de Doctora, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Department de Biologie Animale, Université des Frères Mentouri ,Constantine,Algerie,2017,p81.*
- **Kennedy, J. G. L., Ferenz, R. L et Burgess, B. A.** *Estimation of acute toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD50. J Appl Toxicol,1986. 6 (3):1458.*
- **Knoblauch, S., Randolph Habecker, J et Rath, S.** *Necropsy and histology, in Comparative anatomy and histology: A Mouse and Human Atlas (eds P.M. Treuting and S. Dintzis), Elsevier, Amsterdam.2011, p 15–41.*
- **Kuete, V.** *Toxicological survey of African medicinal plants, page 47.2014.*
- **LeCluyse, E. L., Witek, R. P., Andersen, M. E et Powers, M. J.** 2012.
- **Macheix, J.J. Fleriet, A. et Sarni – Manchado, P.** *Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec Et Doc, Paris. France. 2006,P- 1; 28.*
- **Martin, E et Feldmann, G.** *Histopathologie du foie et des voies biliaires de l'adulte et del'enfant. Ed. Masson,1983. p 64,157-166.*
- **Merghem mounira,** *Evaluation of toxicity in mince and rats and antioxydant activités of Ruta montana L.extracts . Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas Sétif1.Algérie .2015.*
- **Meyer, C.** *Dictionnaire des sciences animales, Cirad, Montpellier, France.2016.*

- **Middleton, E. et Elliott, J.** Biological properties of plant flavonoids and overview. *Int.J. 1996, Pharmacol*, 34(5): 344- 348.
- **Mohamed Nadjib BOUKHATEM, Amine FERHAT, Abdelkrim KAMELI,** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature, *Revue Agrobiologia, Blida, Algeria, ISSN(Print) : 2170-1652, e-ISSN(Online) : 2507-7627, 2019, p 1655-1556.*
- **Naudot, M.** Thèse doctorat « Caractérisation par imagerie en temps réel de cultures cellulaires hépatiques en biopuces mic rofluidiques »2013, p23.
- **North-Lewis, P.** *Drugs and the liver (A guide to drug handling in the liver dysfunction).* Pharmaceutical Press, 2008.p 75-80
- **OCDE,** Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques 2001.
- **Oliva, K. M., Meepagala, D. E., Wedge, D., Harries, A. L., Hale, G., Aliotta, S et Duk, O.** Natural Fungicides from *Ruta graveolens L.* Leaves, Including a New Quinolone Alkaloid. *J. Agri. Food Chem* 2003. 51 (4), 890-896.
- **Ong, K. et Khoo, H.** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life.2000, Sci*, 67: 1695- 1705.
- **Organisation for Economic Cooperation and Development.** *Guideline for testing of chemicals. OECD TG 425. Acute oral toxicity-revised up and down procedure. Paris : OECD. 2001.*
- **Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing.** *Critical reviews in toxicology*, 42: 501-48.
- **Paulini, H et Schimmer, O.** Mutagenicity testing of rutacridone epoxide and rutacridone, alkaloids in *Ruta graveolens L.*, using the *Salmonella/microsome* assay. *Mutagenesis*, 1989.4(1): 45–50.
- **Piao, Y., Liu, Y et Xie , X.** Change Trends of Organ Weight Background Data in Sprague Dawley Rats at Different Ages. *Journal of Toxicologic Pathology*, 2013.26: 29–34.
- **Quezel P. et Santa S.** *Nouvelle Flore De l'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales*, vol. 1-2 Ed.CNRS, Paris, France.1963.
- **Selma ADOUANE,** *Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, Thèse magistère, Université Mohamed Khider-Biskra, 2015-2016, P 14*

- **Scudamore, C. L.** *A Practical Guide to the Histology of the Mouse*.2014, p 10.
- **Shitara, Y., Horie, T et Sugiyama, Y.** *Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution. European journal of pharmaceutical sciences, 27 : 425-46.*
- **Rachel, T.** *Pharmacist, Bpharm, Msc Unité Hospitalière De Recherche Et d'enseignement VIH/Sida Centre Hospitalier De l'Université De Montréal*.2009.
- **Richter, G.** *Métabolisme des Végétaux, Physiologie et Biochimie 5^{ème} Ed. Lausanne*.1993, 339.
- **Rouas, C.** *Thèse doctorat « Etude des mécanismes mis en jeu lors d'une exposition à l'Uranium appauvri sur le système de détoxification in vivo et in vitro »*2010, p 60
- **Ruehl-Fehlert, C., Kittel, B., Morawetz, G., et al.** *Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 1. Experimental and Toxic Pathology, 2003*.55, 91–106.
- **Rytand, D. A.** *The number and size of mammalian glomeruli as related to kidney and body weight, with methods for their enumeration and measurement. Amer. J. Anat, 1993*.62: 507-520.
- **Tabata, H., Nakae, Y., Yoshimi, F.** *Hair growth promoter containing plant extract of Ruta in Rutaceae. Mitsui Chemicals, Inc.Japan*.2004.
- **Tamokou, J. D et Kuete, V.** *Toxic plants used in African traditional medicine in Toxicological Survey of African Medicinal Plants. 2014, p137*
- **Tassadit ISSAADI-HAMITOUCHE,** *Etude de l'autovaporisation instantanée dans l'intensification de l'extraction de l'huile essentielle du bois de santal, Thèse doctorat, Université de la ROCHELLE, 2016, P42*
- **Tome.** *Toxicologie. 2^{ème} édition,2006*.1999. p 61-66.
- **Vauzour, D. Arnaudinad, V. Karisa, S. Cheze, C. et Vercauteren, J.** *Étude de la voie biogénétique menant aux flavan-3-ols". 2^{ème} Journée Scientifique de l'Université Victor Segalen Bordeaux 2*.2001
- **Webster, S. H et Liljegren, E. J.** 1955. *Organ body-weight ratios for certain organs of laboratory animals. III. White Swiss mouse. Amer. J. Anat,1995*. 97: 129-153.
- **. W-erdman, J. Balentine, J.D. Arab, L. Beecher, G. Dwyer, J. Folts, J. Harnl, Y. Hollman, J.P. L-keen, C. Mazza, G. Messina, M. Scalbert, A. Vita, J. Williamson, G. et Burrowes, J.***Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. Washington. Journal of Nutrition,2005, (3) 137: 718- 737.*

- **Wilson, N. H., Hardisty, J. F et Hayes, J. R.** *Short-term, subchronic and chronic toxicology studies.* In: Hayes AW, editor. *Principles and methods of toxicology.* 4th ed. Philadelphia, PA: Taylor and Francis. P : 754.
- **Zamek-Gliszczyński, M. J., Hoffmaster, K. A., Nezasa, K. I., Tallman, M. N et Brouwer, K. L. R.** *Integration of hepatic drug transporters and phase II metabolizing enzymes: mechanisms of hepatic excretion of sulfate, glucuronide, and glutathione metabolites.* *European journal of pharmaceutical sciences*, 2006.27: 447-86.
- **Zbinden, G.** 1963. *Experimental and clinical aspects of drug toxicity.* *Adv Pharmac* .2001.2 : 1-112.
- **Zélie TRIAUX,** *Développement de méthodes d'extraction et d'analyse de molécules terpéniques à activité anti-inflammatoire, Thèse doctorat, Université de strasbourg, 2019, p [70],p[72-73]*
- **Zbinden, G et Flury-Roversi, M.** *Significance of the LD50-test for the toxicological evaluation of chemical substances.* *Arch Toxicol*,1981. 47:7799.
- Anonyme1 :
https://plandejardinjardin-biologique.com/wa_images/cuisson%20des%20preles%20pour%20decoction.jpg?v=1g0671
- Anonyme2 :
<https://chtoukaphysique.com/wp-content/uploads/2018/10/Hydrodistillation-Extraction-desp%C3%A8ces-chimiques.jpg>
- Anonyme3 :
<https://french.alibaba.com/product-detail/Laboratory-Pilot-Plant-Soxhlet-ExtractionChamber-60577727011.html>
- Anonyme4 :
<https://www.hielscher.com/fr/highly-efficient-water-extraction-using-power-ultrasound.htm>
- Anonyme5 :
<https://www.researchgate.net/profile/Asma-Farhat-2/publication/278635494/figure/fig8/AS:810303289823245@1570202767220/Extraction-sans-solvant-assistee-par-micro-ondes-SFME.png>

....	Présenté par : HARCHOUCHE Imane
Année universitaire : 2022-2023	KHEBAZA Nour el houda
Etude <i>in vivo</i> de la toxicité aigüe des extraits bruts aqueux de <i>Ruta montana</i> chez des souris <i>Albinos Wistar</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
ملخص :	
<p><i>Ruta montana</i> تسمى «فيدجيل» هي نبتة طبية من عائلة روتاسيس Rutaceae ، توجد بشدة في الجزائر. في هذه الدراسة، تم تفكيك أوراق روتا مونتانا (مرحلة الشباب) وأجزاء الهواء (مرحلة البالغين) بكفاءة أكبر مما تم إستخراجها من نفس أجزاء النبات. بالإضافة إلى ذلك، عندما يكون النبات صغيرًا (أجزاء من الأوراق)، يكون عائد الاستخراج (تفكيك أو تسريبه) أكبر بثلاث مرات على التوالي من ذلك عندما يكون النبات في مرحلة البالغين (الأجزاء الجوية)</p> <p>في دراسة السمية الحادة في إناث فئران ألبيوس ويستار التي عولجت بجرعات فموية دنيا (2 غ/كغ) من مستخلص الحصاد المائي الخام (الأجزاء الهوائية والأوراق) من روتا مونتانا (القطعة 1 و 2)، تحدث أعراض شديدة للسمية في غضون 15 دقيقة إلى 48 ساعة من تناول (علامات الجهاز التنفسي والعلامات العصبية والشلل). في الأيام التالية، تظهر الفئران سلوكًا طبيعيًا، على غرار السيطرة على الفئران.</p> <p>عند تناول الجرعات القصوى (5 جم/كغ) من المستخلصات المائية للأجزاء والأوراق الجوية من روتا مونتانا (القطعتان 3 و 4)، لوحظت نفس العلامات السريرية مثل الكميات التي تتلقى الجرعة الدنيا (2 جم/كغ) (القطعتان 1 و 2). ومع ذلك، يختلف عدد الوفيات. قد يكون هذا بسبب التركيز العالي للقلويدات الإجمالية في الجزء الجوي من النبات البالغ. وبالتالي، فإن الجرعة المميتة 50 (الجرعة المميتة 50) أكبر من 2 جرام/كجم ولكنها أقل من 5 جرام/كجم.</p> <p>إعطاء المستخلص الخام المائي من المحاصيل المختلفة (الأوراق والأجزاء الجوية) من روتا مونتانا بالجرعة الدنيا (2 غم/كغ) والحد الأقصى للجرعة (5 غم/كغ) ليس له تأثير على وزن الجسم أو استهلاك الماء والغذاء مقارنة بمجموعة التحكم. وكشف تشريح جثة الفئران الميتة عن انخفاض كبير في كتلة الرئة والكبد وتمزق في الأوعية الدموية للقلب ونزيف في الرحم وتورم في المعدة لدى الفئران التي تتلقى الجرعة القصوى البالغة 5 جرام/كجم.</p>	
فئران ألبيوس ويستار، السمية الحادة، <i>Ruta montana</i> : كلمات مفتاحية	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Pharmacologie Toxicologie (LURPHATOX). Université des Frères Mentouri, Constantine 1.	
Président :	BENAAMOUN Leila (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur :	DAKHMOUCHE Schehera Zad (MCA-ENS Assia Djebar, Constantine) .
Rapporteur :	DJAALAB Imène (MCA-Université Frères Mentouri, Constantine1).

....	Présenté par : HARCHOUCHE Imane
Année universitaire : 2022-2023	KHEBAZA Nour el houda
Etude <i>in vivo</i> de la toxicité aigüe des extraits bruts aqueux de <i>Ruta montana</i> chez des souris <i>Albinos Wistar</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
<p>ABSTRACT :</p> <p><i>Ruta montana</i> called «Fidjel» is a medicinal plant of the family <i>Rutacées</i>, very answered in Algeria. In this study, <i>Ruta montana</i> leaves (young stage) and air parts (adult stage) were more efficiently decocted than were teased from the same parts of the plant. In addition, when the plant is young (leaf parts), the extraction yield (decoction or infusion) is respectively three times greater than that when the plant is in the adult stage (aerial parts).</p> <p>In the study of acute toxicity in female <i>Albinos Wistar</i> mice treated with minimum oral doses (2g/kg) of raw aqueous harvest extract (aerial parts, leaves) of <i>Ruta montana</i> (Lot 1 and 2), severe symptoms of toxicity occur within 15 minutes to 48 hours of administration (respiratory signs, neurological signs and paralysis). In the following days, mice exhibit normal behavior, similar to control mice.</p> <p>When dosing the maximum doses (5g/kg) of the aqueous extracts of the aerial parts and leaves of <i>Ruta montana</i> (lots 3 and 4), the same clinical signs are observed as the lots receiving the minimum dose (2g/kg) (lots 1 and 2). However, the number of deaths differs. This may be due to the high concentration of total alkaloids in the aerial part of the adult plant. Thus, the lethal dose 50 (LD₅₀) is greater than 2g/kg but less than 5g/kg.</p> <p>Administration of aqueous raw extract from different crops (leaves and aerial parts) of <i>Ruta montana</i> by minimum dose (2 g/kg) and maximum dose limit (5 g/kg) has no effect on body weight or water and food consumption compared to the control lot.</p> <p>Autopsy of the dead mice revealed a significant decrease in lung and liver mass, ruptured heart blood vessels, hemorrhage in the uterus and swelling of the stomach in mice receiving the maximum dose of 5g/kg.</p>	
Key word : <i>Ruta montana</i> , Acute toxicity, <i>Albinos Wistar</i> mice	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Pharmacologie Toxicologie (LURPHATOX). Université des Frères Mentouri, Constantine 1.	
Président : BENAAMOUN Leila	(MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : DAKHMOUCHE Schehera Zad	(MCA-ENS Assia Djepar, Constantine) .
Rapporteur : DJAALAB Imène	(MCA-Université Frères Mentouri, Constantine1).

<p>....</p> <p>Année universitaire : 2022-2023</p>	<p>Présenté par : HARCHOUCHE Imane</p> <p>KHEBAZA Nour El Houda</p>
<p align="center">Etude <i>in vivo</i> de la toxicité aigüe des extraits bruts aqueux de <i>Ruta montana</i> chez des souris <i>Albinos Wistar</i></p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie</p>	
<p>Résumé :</p> <p><i>Ruta montana</i> appelée « Fidjel » est une plante médicinale de la famille <i>Rutacées</i>, très répandue en Algérie. Dans la présente étude, le rendement de l'extraction du décocté des feuilles (stade jeune) et des parties aériennes (stade adulte) de <i>Ruta montana</i> est plus important que celui de l'infusion des mêmes parties de la plante. De plus, lorsque la plante est jeunes (parties feuilles), le rendement d'extraction (décoction ou infusion) est respectivement trois fois plus important que celui lorsque la plante est au stade adulte (parties aériennes). Lors de l'étude de la toxicité aigüe chez les souris femelles <i>Albinos Wistar</i> traitées par des doses minimales (2g/kg) par voie orale d'extrait brut aqueux des récoltes (parties aériennes, feuilles) de <i>Ruta montana</i> (lot 1 et 2), on remarque des symptômes graves de toxicité dans les 15 minutes à 48 heures suivants l'administration (signes respiratoires, neurologiques et des paralysies). Les jours suivants, les souris présentent un comportement normal, similaire aux souris témoins.</p> <p>Lors de l'administration des doses maximales (5g/kg) des extraits aqueux des parties aériennes et des feuilles de <i>Ruta montana</i> (lots 3 et 4), on observe les mêmes signes cliniques que les lots recevant la dose minimale (2g/kg) (lot 1 et 2). En revanche, il y'a 25% et 50% de mortalités respectives pour le lot 4 et 3. Ceci pourrait être dû à la concentration élevée en alcaloïdes totaux dans la partie aérienne de la plante adulte. Ainsi, la dose létale 50 (DL₅₀) est supérieure à 2g/kg mais elle est inférieure à 5g/kg. L'administration d'extrait brut aqueux des différentes récoltées (feuilles et parties aériennes) de <i>Ruta montana</i> par dose minimale (2 g/kg) et par dose limite maximale (5g/kg) ne présente aucun effet sur le poids corporel ou sur la consommation d'eau et d'aliments comparativement au lot témoin.</p> <p>L'autopsie des souris mortes révèle une diminution significative de la masse des poumons et du foie, l'éclatement des vaisseaux sanguins de cœur, une hémorragie en niveau d'utérus et un gonflement de l'estomac chez les souris recevant la dose maximale 5g/kg.</p>	
<p>Mots –clés : <i>Ruta montana</i>, Toxicité aigüe, Souris <i>Albinos Wistar</i>.</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de Pharmacologie Toxicologie (LURPHATOX). Université des Frères Mentouri, Constantine 1.</p>	
<p>Président : BENAAMOUN Leila (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	
<p>Examineur : DAKHMOUCHE Schehera Zad (MCA-ENS Assia Djébar, Constantine) .</p>	
<p>Rapporteur : DJAALAB Imène (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	