



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de la Biologie Physico-chimique
Laboratoire de la Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique

Mémoire

Présenté par :

M^{elle} Gali Lynda

En vue de l'obtention du diplôme de magister

En biologie

Option : Ingénierie biochimique et biotechnologique.

Thème

**Activités antioxydants et antimicrobienne des extraits de deux
variétés de *Ruta chalepensis* L.**

Devant le jury:

Mr. Kecha M.	Professeur (UAMB).	Président
Mme Bedjou F.	Professeur (UAMB).	Rapporteur
Mr. Touati A /Aziz.	Professeur (UAMB).	Examineur
Mme Khettal B.	Maitre de conférences A (UAMB).	Examinatrice
Mme Oukil N.	Maitre de conférences B (UAMB).	Invitée

Année universitaire 2013/2014

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier M^{me} Bedjou, M^{me} Khettal, et M^{me} Oukil de m'avoir accueilli au niveau de leurs laboratoires de la Biotechnologie végétale et ethnobotanique, Enzymologie, et de la Microbiologie appliquée.

Je tiens à exprimer ma gratitude, et mes remerciements aux membres de juré, Mr Kecha M, Mme Khettal B, Mr Touati A/Aziz, et Mme Oukil N d'avoir accepté examiner ce travail malgré leurs nombreuses charges.

Je remercie M^{me} Bedjou d'avoir rapporté ce travail et sa patience. Je remercie également M^{me} Oukil pour ces conseils.

Mes remerciements vont également à toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin ; je remercie les techniciennes de laboratoire de Biotechnologie végétale et ethnobotanique, et d'Enzymologie. Je tiens à remercier fortement M^{elle} Saidani Karima pour son aide à réaliser la partie microbiologie.

Je remercie surtout ma famille pour son support. Sans oublier mes collègues, A/Wahab, Karim, Zohra, Halima, Malika, et Soad. Mes remerciements vont également à mes amis au niveau du laboratoire, Sara, Souhila, Siham, Lynda et Nabil qui ont contribué par leur soutien et amitié à la progression de mon travail dans une ambiance amicale et stimulante.

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Ruta chalepensis* L

I.1.	Description de la famille des rutacées et leur intérêt économique.....	3
I.2.	Genre <i>Ruta</i> (Rue)	4
I.3.	<i>Ruta chalepensis</i> L.....	4
I.3.1.	Description botanique	4
I.3.2.	Habitat et distribution.....	5
I.3.3.	Noms vernaculaires	6
I.3.4.	Systématique.....	6
I.3.5.	Composition chimique.....	6
I.3.5.1.	Composés phénoliques.....	7
I.3.5.2.	Alcaloïdes.....	8
I.3.5.3.	Composés terpéniques.....	8
I.3.6.	Activités biologiques, utilisations, et toxicité.....	10

Chapitre II : Métabolites secondaires

II.1.	Composés terpéniques.....	13
II.1.1.	Définition.....	13
II.1.2.	Classification.....	13
II.2.	Alcaloïdes.....	15
II.2.1.	Généralités.....	15
II.2.2.	Classification.....	15
II.2.3.	Alcaloïdes chez les rutacées.....	16
II.2.3.1.	Quinoléines.....	16
II.2.3.2.	Acridones.....	17
II.3.	Polyphénols.....	19
II.3.1.	Généralités.....	19
II.3.2.	Classification.....	19
II.3.2.1.	Acides phénoliques.....	20
II.3.2.2.	Flavonoïdes.....	20
II.3.2.3.	Tannins.....	20
II.3.2.4.	Coumarines.....	21
II.3.3.	Activités biologiques.....	21

Chapitre III : Espèces réactives et antioxydants

III.1.	Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant.....	23
III.1.1.	Espèces réactives de l'oxygène.....	23
III.1.1.1.	Radicaux libres	23
III.1.1.2.	Production.....	24
III.1.2.	Stress oxydant et ses conséquences.....	25
III.1.2.1.	Définition du stress oxydant.....	25
III.1.2.2.	Conséquences du stress oxydant.....	25
III.2.	Antioxydants.....	26
III.2.1.	Définition.....	26
III.2.2.	Systèmes antioxydants.....	26
III.2.2.1.	Systèmes enzymatiques.....	27
III.2.2.2.	Systèmes non enzymatiques.....	28

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I.	Matériel végétal.....	29
II.	Etude des caractéristiques fluorescentes de la poudre.....	30
III.	Préparation des extraits bruts.....	30
IV.	Analyse phytochimique des extraits.....	31
IV.1.	Tests phytochimiques.....	31
IV.2.	Chromatographie sur couche mince.....	33
IV.3.	Dosage colorimétrique des polyphénols.....	34
IV.3.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	34
IV.3.2.	Dosage des flavonoïdes.....	34
IV.3.3.	Dosage des flavonols.....	35
IV.3.4.	Dosage des tannins condensés.....	35
V.	Evaluation de l'activité antioxydants.....	35
V.1.	Activité scavenger (Activité anti-radicalaire).....	36
V.1.1.	Activité scavenger du radical DPPH°.....	36
V.1.2.	Activité scavenger du radical ABTS ⁺	37
V.2.	Pouvoir réducteur.....	37
V.3.	Chélation du fer.....	38
VI.	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	38
VI.1.	Préparation de la suspension microbienne.....	39
VI.2.	Test de sensibilité.....	39
VII.	Analyse statistique.....	40

Résultats et discussion

I.	Caractéristiques fluorescentes de la poudre des échantillons.....	41
II.	Rendement d'extraction.....	42
III.	Analyse phytochimique des extraits bruts.....	43
III.1.	Résultats des tests phytochimiques.....	43
III.2.	Analyse chromatographique.....	44
III.3.	Teneurs en composés phénoliques.....	49
IV.	Activité antioxydants.....	51
IV.1.	Activité scavenger.....	52
IV.1.1.	Activité scavenger du radical DPPH°.....	52
IV.1.2.	Activité scavenger du radical ABTS ^{°+}	54
IV.2.	Pouvoir réducteur.....	55
IV.3.	Chélation du fer.....	57
V.	Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydants.....	59
VI.	Activité antimicrobienne.....	62
VI.1.	Activité antibactérienne.....	62
VI.2.	Activité antifongique.....	66
Conclusion.	68
Références bibliographiques.	70
Annexes		
Glossaires		

Liste des abréviations

A.Asc: Acide ascorbique
A₀: Absorbance du contrôle
A₁: Absorbance de l'échantillon
ABTS: Azinobisethylbenzthiazolinesulphonic acid
AcC: Extrait acétonique de la variété cultivée
AcS: Extrait acétonique de la variété sauvage
ADN: Acide désoxyribonucléique
AGI: Acide gras insaturé
ANOVA: Analyse de la variance
ARN: Acide ribonucléique
ATCC: Américain Type Culture Collection
BHA: Butylhydroxyanisol
CAT: Catalase
CCM: Chromatographie sur couche mince
CMI: Concentration minimale inhibitrice
DPPH: Diphenylpicrylhydrazyl
EAG: Equivalent acide gallique
EDC: Extrait aqueux de la variété cultivée
EDS: Extrait aqueux de la variété sauvage
EC: Enzyme committee
EC3G: Equivalent cyanidin-3-glucoside
ECat: Equivalent catéchine
EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid
EQ: Equivalent quercétine
ER: Equivalent rutine.
ERO: Espèces réactives de l'oxygène
EtC: Extrait éthanolique de la variété cultivée
EtS: Extrait éthanolique de la variété sauvage
GPx: Glutathion peroxydase
GSH: Glutathion
IC50: Concentration inhibitrice à 50%
iNOS: Monoxyde d'azote synthase inductible
LDL: Lipoprotéines à faible densité
MeOH: Méthanol
MS: Matière sèche
N.A.R: Nalidixic Acid Resistant
NADPH: Nicotinamide adénine diphosphate
n-BuOH: Butanol
NI: Non indiqué
PC: Pouvoir chélateur
PCA: Plat count Agar
PI: Pourcentage d'inhibition
Q: Quercétine
R_f: Rapport frontal
SOD: Superoxyde dismutase
UAMB: Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.
UFC: Unité formant colonie
UV: Rayonnements ultraviolets
UVA: Rayonnements ultraviolets de type A
ZI: Zone d'inhibition

Liste des figures

Figure 1: Différentes parties de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	5
Figure 2: Structure chimique de quelques métabolites secondaires de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	9
Figure 3: Structure chimique de la molécule Isoprène	13
Figure 4: Classification biogénique des alcaloïdes des rutacées.....	16
Figure 5: Production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	24
Figure 6 : Equilibre entre les antioxydants et les espèces réactives <i>in vivo</i>	26
Figure 7 : Localisation géographique du site de l'échantillonnage.....	29
Figure 8: Echantillons des deux variétés de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	30
Figure 9: Forme radicalaire et réduite du DPPH.....	36
Figure 10: Rendements d'extraction des deux variétés suivant le solvant.....	42
Figure 11: Chromatogramme du système n-Butanol-Méthanol-Eau distillée: 5:1:1.....	45
Figure 12: Chromatogramme du système Dichlorométhane-Méthanol: 19:1.....	47
Figure 13: Résultats du dosage des différentes classes de polyphénols dans les deux variétés de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	49
Figure 14: Inhibition du radical DPPH° par les différents extraits des deux variétés de <i>Ruta chalepensis</i> L. et les standards.....	52
Figure 15: Courbes d'inhibition de l'ABTS+° par les extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L. et le BHA.....	54
Figure 16: Pouvoir réducteur des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	56
Figure 17: Pouvoir réducteur des standards.....	56
Figure 18: Pouvoir chélateur des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L. et l'EDTA.....	58
Figure 19: Corrélations entre les teneurs en flavonoïdes des extraits et l'activité antioxydants...	61

Liste des tableaux

Tableau I: Utilisation traditionnelle de <i>Ruta chalepensis</i> L. dans la thérapeutique.....	11
Tableau II: Principales classes des terpènes.....	14
Tableau III: Structure chimique des principaux groupes d'alcaloïdes des rutacées.....	18
Tableau IV: Différentes classes des polyphénols.....	19
Tableau V: Structure chimique des principaux groupes des polyphénols.....	22
Tableau VI: Principales espèces réactives.....	23
Tableau VII: Souches microbiennes testées.....	38
Tableau VIII: Caractéristiques fluorescentes de la poudre de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	41
Tableau IX: Résultats des tests phytochimiques des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	43
Tableau X: Rapports frontaux (R_f) des bandes obtenues dans le système n-Butanol-Méthanol-Eau distillée.....	46
Tableau XI: Rapports frontaux (R_f) des bandes obtenues dans le système Dichlorométhane-Méthanol.....	48
Tableau XII: Valeurs d'IC50 des extraits et des standards obtenues avec le DPPH.....	53
Tableau XIII: Valeurs d'IC50 des extraits et du BHA obtenues avec l'ABTS.....	55
Tableau XIV: Coefficients de corrélation entre les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydants.....	59
Tableau XV: Activité antibactérienne des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L. et de la Gentamicine.....	62
Tableau XVI: Activité antifongique des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L. et du Fluconazole.....	66

Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source de remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs (**Farnsworth et al., 1986**). Récemment, l'organisation mondiale de la santé a rapporté qu'au moins 75% à 95% des populations des pays sous-développés comptent principalement sur la médecine traditionnelle (**Prasannabalaji et al., 2012**), et environ 38% des américains ont recours à la médecine alternative en raison de la toxicité des médicaments synthétiques. Il est donc indispensable d'étudier ces plantes et donner une explication et une authentification scientifique aux activités de ces plantes afin de limiter l'utilisation des médicaments qui présentent plus d'effets indésirables que bénéfiques (**Fernandes et Banu, 2012**).

Ruta chalepensis L. (Rutacée) couramment appelée rue et localement Awarmi, est l'une des plantes les plus utilisées à des fins thérapeutiques à travers le monde (**Gunaydin et Savci, 2005**). Elle est employée pour le traitement de nombreuses maladies comme la fièvre, les désordres mentaux, les maladies inflammatoires comme le rhumatisme, les ulcères, les maladies infectieuses, etc. (**Al-Said et al., 1990 ; Pollio et al., 2008 ; Moazedi et al., 2010**). Elle est également utilisée dans l'assaisonnement des aliments ou des boissons (**Shehadeh et al., 2007 ; Moazedi et al., 2010 ; Cartas Heredia et al., 2011**).

De nombreuses maladies comme les maladies inflammatoires contre lesquelles la rue est utilisée peuvent prendre leur origine du stress oxydant résultant de l'excès de la production des espèces réactives dans l'organisme (**Khadri et al., 2008**), et son effet thérapeutique contre ces maladies peut être liée en partie à son activité antioxydants. La plante est également employée dans le traitement des intoxications alimentaires et de certaines mycoses causées par des microorganismes pathogènes (**Pollio et al., 2008**).

Les plantes médicinales présentent une grande diversité des substances à activité antioxydants comme les composés phénoliques, les alcaloïdes, etc. qui exercent d'autres effets biologiques dont l'effet antimicrobien (**Cai et al., 2004**). Des études menées avec les feuilles et les jeunes tiges de la rue ont conduit à la mise en évidence de la présence des alcaloïdes, des coumarines, des acides aminés, des stérols, des flavonoïdes, et des saponines (**Mejri et al., 2010 ; Acquaviva et al., 2011 ; Cartas Heredia et al., 2011**).

L'objectif du présent travail est d'effectuer une analyse préliminaire de la composition chimique de trois extraits obtenus avec trois solvants de polarités croissantes (acétone, éthanol, et eau distillée) des parties aériennes (feuilles, tiges, et fleurs) de deux variétés de *Ruta chalepensis* L. (sauvage et cultivée) et d'étudier leurs activités antioxydants et antimicrobienne.

Ce travail comporte essentiellement trois parties :

- Une synthèse bibliographique comprenant trois chapitres, dont le premier est réservé pour la présentation de la plante étudiée, le deuxième donne un aperçu général sur les métabolites secondaires, et enfin un chapitre réalisé sur les radicaux libres et les antioxydants.
- Une partie expérimentale comportant les différentes méthodes et le matériel utilisé dans notre étude.
- Enfin, une partie consacrée à la présentation de nos résultats et leur discussion.
- Une conclusion rassemblant les différents résultats de notre étude ainsi que les perspectives.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :

Ruta chalepensis L.

I.1. Description de la famille des rutacées et leur intérêt économique

Cette famille comporte plus de 150 genres, et 700 à 1000 espèces (**Deysson, 1976 ; Guignard, 1989**). Elle est essentiellement tropicale renfermant des arbres et des arbustes, incluant des genres d'importance en horticulture (*Citrus*), et en médecine (*Pilocarpus*, *Agathosma*) (**Waterman, 1975**). Une rutacée s'identifie avec netteté par son appareil sécréteur constitué de poches sécrétrices, d'un type particulier dites Schizolysigène, qui ne sont rencontrés dans aucune autre famille. Ces poches souvent très superficielles, sont d'origine épidermique c'est ce qui explique qu'il suffit d'écraser légèrement une partie molle d'une rutacée pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage (**Dupont et Guignard, 2007**).

La classification des plantes appartenant à cette famille est basée sur l'organisation de la gynécée. Elle est divisée en deux principales sous-familles (**Deysson, 1976**) :

- **Rutoïdées** : à ovaires plus ou moins indépendants, androcée complet plus ou moins réduit, et fruits sec. On distingue de nombreux tribus :

-Rutées : *Ruta*, *Dictamnus*,

-Galipées : *Galipea*, *Pilocarpus*

-Diosmées : *Diosma*, *Pilocarpus*

-Xanthoxylées : *Xanthoxylum*

- **Aurantioïdées** : à ovaires concréscents, étamines souvent nombreuses:

-Toddaliées : *Toddalia*,

-Aurantiées : *Limonia*, *Citrus*, *Feronia*

Les rutacées ont une très grande valeur économique. Ce sont des plantes fruitières comme le genre *Citrus* : oranger (*C.sinensis*), pamplemousse (*C.grandis*), citronnier (*C.limon*), bigaradier (*C.auratium*) (**Gaussen et al., 1982**). Elles fournissent également des produits à la thérapeutique et à la parfumerie : Les jaborandis (*Pilocarpus*) diurétiques et sialogogues, renferment de nombreux alcaloïdes comme la pilocarpine utilisée en ophtalmologie. L'écorce d'angusture (*Galipea cusparia*) est tonique. Par leurs essences, la rue est abortive, et le buchu (*Barosma*) est antiseptique des voies urinaires (**Deysson, 1976**). Certaines espèces sont productrices de bois commerciaux (**Gaussen et al., 1982**).

I.2. Genre *Ruta* (rue)

Le nom *Ruta* vient du « Reuo », un mot grec qui signifie libérer, montrant sa réputation comme libérateur des maladies (**Cartas Heredia et al., 2011**).

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

I.3. *Ruta chalepensis* L.

I. 3.1. Description botanique

La rue est une plante vivace à feuilles persistantes, un peu lignifiée à la base, caractérisée par une longueur d'un mètre, une couleur verte grisâtre (Figure 1), une odeur désagréable et piquante, et un goût plutôt amère même après le séchage (**Cartas Heredia et al., 2011**).

C'est un arbuste à tiges érigées, nues, Les feuilles sont alternes bi ou tripennées, oblongues, lancéolées, jusqu'à 6mm de largeur. L'inflorescence est lâche en cyme, paniculée, fleurs jaunes, centrales en générale 4 sépales et 4pétales, toutefois aussi à 5 sépales, nus triangulaires ovoïdes de 2mm de long. Les pétales jaunes elliptiques, à ovales, jusqu'à 4mm de large et 6mm de long. Ovaire supère devenant une capsule à 4 ou 5 pointes (**Bayer et al., 1990 ; Iauk et al., 2000 ; Ben Bnina et al., 2010 ; Acquaviva et al., 2011**). Les glandes huileuses sont principalement localisées dans les feuilles (**Zeichen de Sa et al., 2000**).

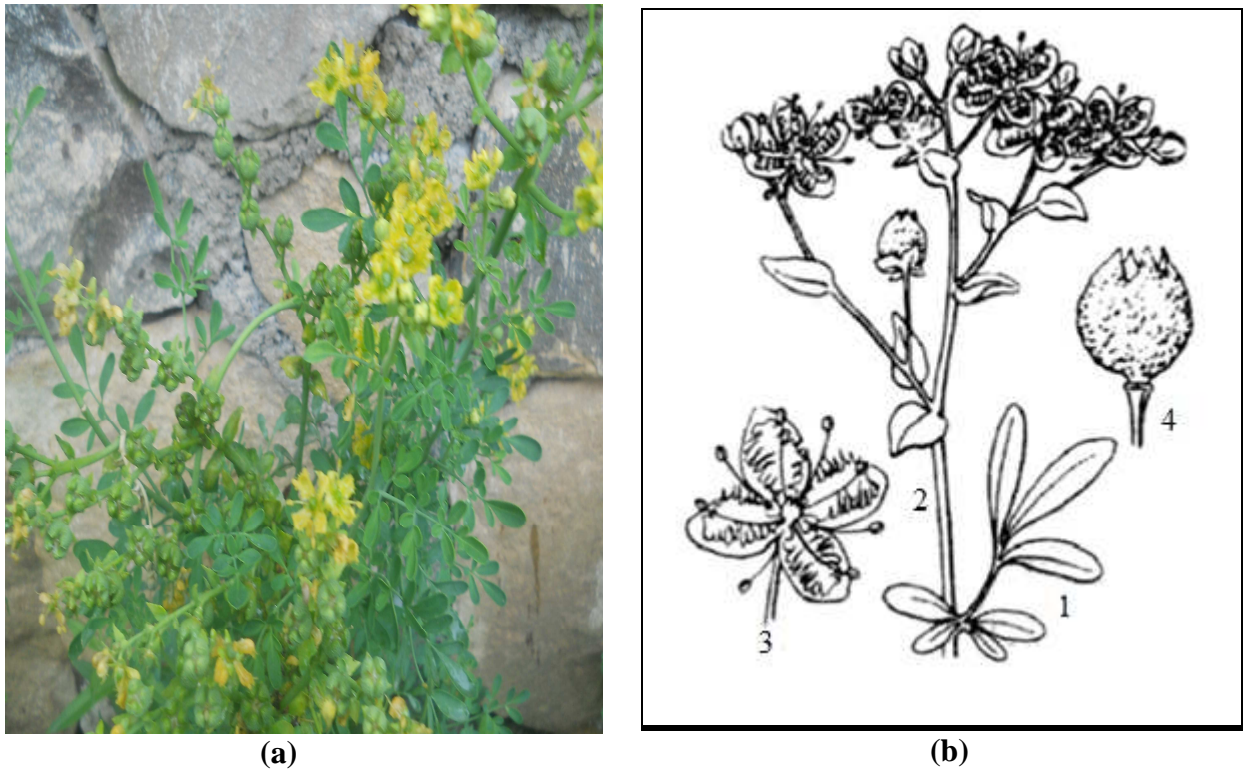


Figure 1: Photographie de *Ruta chalepensis* L. (a) et planche de ces différentes parties (b): feuilles (1), tige (2), fleur (3), et fruit (4).

I.3.2. Habitat et Distribution

Ruta chalepensis L. pousse dans les pentes rocheuses (Iauk et al., 2004 ; Ben Bnina et al., 2010 ; Acquaviva et al., 2011). C'est une herbe native de la région méditerranéenne et de l'ouest d'Asie (Al-Sagair, 2004), mais elle est largement rencontrée dans plusieurs parties du monde, dans les pays tempérés et tropicaux (Mejri et al., 2010), en Europe et en Asie, et fut introduite en Amérique après la conquête Espagnole (Zeichen de Sa et al., 2000 ; Günaydin et Savci, 2005).

I.3.3. Noms vernaculaires

Plusieurs appellations ont été attribuées à *Ruta chalepensis* L. dépendant du pays et de la langue. Elle est appelée communément Rue ou Ruda (**Günaydin et Savci, 2005 ; Gonzalez-Trujano et al., 2006**). En Algérie, elle est appelée Fijel ou Fidjel en arabe (**Merghache et al., 2009 ; Boudjelal et al., 2013**), Awarmi, Issin, ou Zent en Kabyle. Elle est également connue sous le nom de Shazab en Arabie Saudite (**El-Beih et al., 1981**), Egyptian rue en Egypte, Ruta en Italie (**Leto et al., 2013**), Ciladami en Ethiopie (**Mesfin et al., 2009**). Plusieurs autres noms sont utilisés pour désigner la plante : Rue d'Alep, Aleppo rue, Syrian rue, Fringed rue, Garden Rue, Herb of Grace (**Cartas Heredia et al., 2011**).

I.3.4. Systématique (Gausson et al., 1982).

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)

Super division : Spermatophyta (plantes à graine)

Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs)

Sous division : Angiospermae

Classe : Magnoliopsida (dicotylédones)

Sous classe : Rosidae

Super ordre : Rutanae

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : *Ruta*

Espèce : *Ruta chalepensis* L.

I.3.5. Composition chimique

Beaucoup d'espèces du genre *Ruta* constituent une source de diverses classes de produits naturels avec diverses activités biologiques (**De Feo et al., 2002**). L'étude de la composition chimique des parties aériennes de *Ruta chalepensis* L, a conduit à la mise en évidence des alcaloïdes, des glycosides cardiotoniques, des flavonoïdes, des tannins, des coumarines, des anthraquinones, des saponines, des composés volatiles, des glycosides cyanogènes, et des stérols/tri-terpènes (**Günaydin et Savci, 2005 ; Mejri et al., 2010**).

Les acides gras insaturés (AGI) représentent respectivement 79,47% et 80,74% des acides gras totaux des feuilles de *Ruta chalepensis* L cultivée et *Ruta chalepensis* L sauvage avec l'acide linoléique (C18 :2) et linoléique (C18 :3) comme des composés majoritaires. Par contre dans les tiges, les fleurs, et les fruits les AGI représentent un faible pourcentage (Tounsi et al., 2011).

I.3.5.1. Composés phénoliques

Ruta chalepensis L. comporte des tannins et des flavonoïdes dont la rutine qui est un di-glycoside de la quercétine, qui par hydrolyse dans le tractus gastro-intestinal donne la quercétine. La rutine est connue pour sa capacité de diminuer la perméabilité et la fragilité capillaire, et de prévenir le cancer (Harborne, 1991). La rutine contribue à l'activité anti-inflammatoire de *Ruta chalepensis* L. par sa capacité de réduire le niveau du monoxyde d'azote (NO) in vivo en inhibant l'expression de la monoxyde d'azote synthase inductible (iNOS) (Acquaviva et al., 2011 ; Khlifi et al., 2013). Il a été également démontré que la rutine et la quercétine possèdent une capacité scavenger contre le NO (Acquaviva et al., 2011).

Les coumarines de *Ruta chalepensis* L. sont essentiellement rencontrées sous forme des furocoumarines linéaires qui incluent plusieurs composés : imperatorine, isoimperatorine, alloimperatorine, chalepine, chalepensine, le psoralène et ses dérivés la xanthotoxine, le bergaptène, l'isopimpinelline, et la rutamarine (Gray et Waterman, 1978 ; El-Beih et al., 1981 ; Ulubelen et al., 1986 ; Olorunsogo et al., 1990). On trouve également des coumarines simples comme l'ombélliférone (El Sayed et al., 2000) et la ritalpinine (Ulubelen et Terem, 1988) ou à l'état dimérique comme la rutarensine. Les furocoumarines sont responsables de son activité anti-fertilisante (Günaydin et Savci, 2005), et de l'inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines (Shehadeh et al., 2007).

La structure de la rutine (11) et celle de quelques coumarines (12-21) sont représentées dans la figure 2.

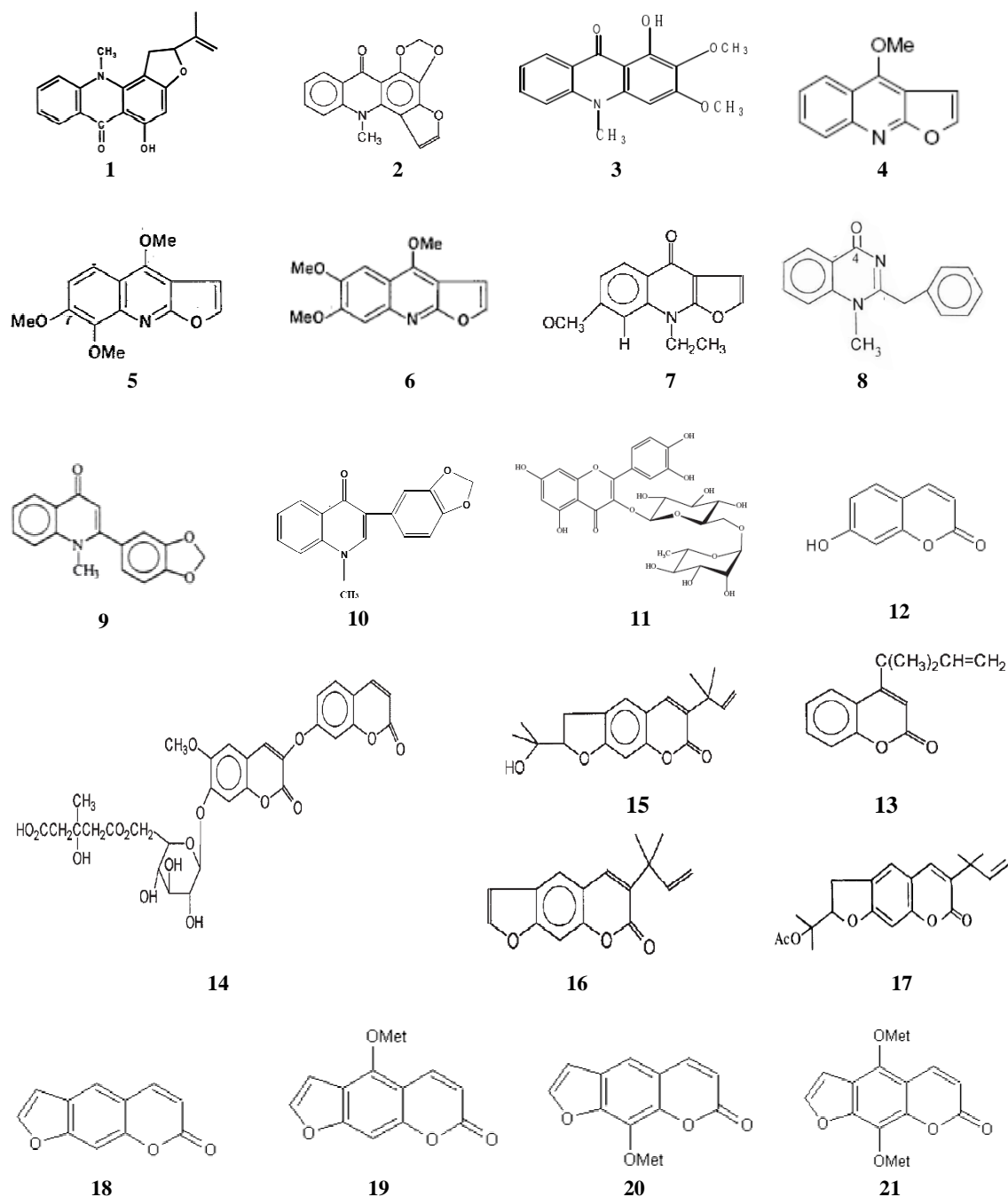
I.3.5.2. Alcaloïdes

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés à partir des parties aériennes et/ou des racines de *Ruta chalepensis* L. et identifiés (Mohr et al., 1982 ; Ulubelen et al., 1986 ; Ulubelen et Terem, 1988 ; Ulubelen et Tan, 1990 ; El Sayed et al., 2000). On distingue plusieurs groupes : Furoquinoléines (skimmianine, gamma-fagarine, dictamnine, la 5-methoxydictamnine, kokusaginine, ptéléine, etc.) (Vaquette et al., 1976 ; Bhoga et al., 2004), Furoquinolones (taifine, isotaifine, 8-methyltaifine) (Mohr et al., 1982), Acridones (rutacridone, citusamine, chaloridone; arborinine, 1-hydroxy-N-methylacridone) (Giridhar et al., 2010), Quinazolones (arborine) (Farediah et al., 1996), 4-Quinolones (graveoline, rutamine) (Grundon et Okley, 1979 ; Megally et al., 2009), et Quinoléines (graveolinine) (Waterman, 1975). La figure 2 donne la structure chimique de quelques alcaloïdes (1-10).

I.3.5.3. Composés terpéniques

Les composés terpéniques de *Ruta chalepensis* L. sont généralement sous forme de mono-terpènes, sesquiterpènes, et di-terpènes dont la majorité sont des cétones, des aldéhydes, des alcools, des acétates, ou des acides rencontrés dans son huile essentielle (Mejri et al., 2010 ; Fakhfakh et al., 2012). Ces composés représentent également les principaux constituants de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* L. (Stashenko et al., 2000 ; De Feo et al., 2002) et de *Ruta montana* L. (Belkassam et al., 2011). L'odeur caractéristique de la rue est due au methyl n-nonyl cétone (2-Undécanone) qui constitue le composé majeur de l'huile volatile (Günaydin et Savci, 2005). Cependant la composition de l'huile essentielle varie selon le climat, la période de la récolte, les caractéristiques du milieu géographique, la technique d'extraction, (Tounsi et al., 2011 ; Fakhfakh et al., 2012), et la partie de la plante (Ben Bnina et al., 2010). Ce composé constitue le composé majoritaire de l'huile essentielle des différentes parties de *Ruta chalepensis* L. poussant spontanément en Algérie (38.38%-68.95%) (Merghache et al., 2009).

La composition de l'huile essentielle (terpènes) obtenue des différentes parties de *R. chalepensis* L. (cultivée et sauvage) est représentée dans l'annexe I.



Rutacridone (1) (Junghanns *et al.*, 1997), Chaloridone (2) (Giridhar *et al.*, 2010), Arborinine (3), Dictamine (4) (Bhoga *et al.*, 2004), Skimmianine (5), Kokusaginine (6) (Vaquette *et al.*, 1976), Taifine (7) (Günaydin et Savci, 2005), Arborine (8) (Farediah *et al.*, 1996), Graveoline (9) (Grundon et Okley, 1979), Rutamine (10) (Megally *et al.*, 2009), Rutine (11) (Koolin *et al.*, 2013), Ombelliférone (Singh *et al.*, 2010) (12), Rotalpinine (13), Rutarensine (14), Chalepine (15), Chalepensine (16), Rutamarine (17), Psoralène (18), Bergatène ou 5-méthoxypsoralène « 5-MOP » (19), Xanthoxine ou 8-méthoxypsoralène « 8-MOP » (20), isopimpinelline ou 5,8-méthoxypsoralène « 5,8-MOP » (21) (Gray et Waterman, 1878 ; Günaydin et Savci, 2005).

Figure 2: Structure chimique de quelques métabolites secondaires de *Ruta chalepensis* L.

I.3.6. Activités biologiques, utilisations, et toxicité

I.3.6.1. Activités biologiques

Un grand nombre d'études ont été effectuées sur les activités biologiques de *Ruta chalepensis* L. afin de justifier ses multiples utilisations. Certaines de ces études ont confirmé l'efficacité de la plante. Il a été établi qu'elle possède une activité anti-inflammatoire, antipyrétique, et dépressive du système nerveux central (Al-Said et al., 1990). Elle exerce également une activité dissuasive sur les larves de *Hypsipyla grandella* (un lépidoptère) (Mancebo et al., 2001), larvicide et dissuasive sur *Spodoptera littoralis* (un lépidoptère) (Megally et al., 2009), anti-fertilisante, abortive chez les femelles du rat (Desta, 1994) et fertilisante chez les rats mâles (Al Qarawi, 2005), inhibitrice de l'agrégation des plaquettes sanguines (Shehadeh et al., 2007), anticonvulsivante, anxiolytique (Gonzalez-Trujano et al., 2006), antispasmodique, (Moazedi et al., 2010), anti-hypertensive (Vázquez-Cruz et al., 2010) anticancéreuse (Khlifi et al., 2013), antifongique (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999 ; Iauk et al., 2000 ; Ben Bnina et al., 2010), antibactérienne (El Sayed et al., 2000 ; Alzoreky et Nakahara, 2003 ; Sathiya Priya et al., 2009 ; Ben Bnina et al., 2010 ; Haddouchi et al., 2013), et antioxydante (Ashour et al., 2011 ; Fakhfakh et al., 2012 ; Khlifi et al., 2013).

I.3.6.2. Utilisations

La plante est considérée comme l'une des plantes les plus utilisées à des fins thérapeutiques (Zeichen de Sa et al., 2000 ; Ben Bnina et al., 2010). Elle est employée comme anti-hypertensive, emménagogue, laxatif, et antihelminthique (Vázquez-Cruz et al., 2010), et dans le traitement de l'épilepsie, de l'hystérie, des vertiges et de l'anxiété (Gonzalez-Trujano et al., 2006). Elle est recommandée dans le traitement de l'insomnie, des troubles rénaux et autres. Son huile est fréquemment utilisée comme antitussif, rubéfiant, et pour le traitement de l'eczéma, le psoriasis. C'est également une plante ornementale (Cartas Heredia et al., 2011) et est appliquée comme aphrodisiaque (El Sayed et al., 2000), un tonifiant pour les cheveux, un répulsif pour les insectes, en assaisonnement des aliments et des boissons en Jordanie (Shehadeh et al., 2007). Le tableau I donne les utilisations thérapeutiques de la plante selon les pays.

Tableau I : Utilisations traditionnelles de *Ruta chalepensis* L. dans la thérapeutique.

Pays	Partie	Préparation	Utilisations	Références
Algérie	-Plante entière -Partie aérienne	NI -Infusion, Poudre	Antihelminthique, les désordres mentaux, digestifs, intoxications, Anti-hypertensif, Antispasmodique, Eczéma	Pollio et al., 2008 Boudjelal et al., 2013
Arabie Saoudite	- Partie aérienne - Feuilles	-Décoction -Infusion dans le vinaigre	-Analgésique, antipyrétique, rhumatisme, désordres mentaux, -Convulsions et autres désordres mentaux	Al-Said et al., 1990 Iauk et al., 2004 Al-Sagair, 2004 Acquaviva et al., 2011 Fakhfakh et al., 2012
Chine	Racines	Décoction	Antivenimeux, abortif,	Al-Said et al., 1990 Iauk et al., 2004 Acquaviva et al., 2011
Inde	NI	NI	Névralgie, ascite, rhumatisme, désordres des menstruations	Al Qarawi, 2005 Günaydin et Savci, 2005
Espagne	Parties aériennes	Liniment (1), pommade (2), cataplasme ou lotion (3) Infusion seul ou avec d'autres plantes (4), infusion dans une boisson alcoolique (5)	Antiseptique (1), hémorragies (2), affection de système respiratoire (3), vers intestinaux chez les enfants (4), varice, hémorroïdes (5),	
Jordanie	-Rejeton - Feuilles	NI NI	- indigestion, nervosité, arthrites, -antidiabétique, morsures des scorpions	Pollio et al., 2008
Maroc	Feuilles	Utilisation topique	Affection de l'oreille	
Portugal	Parties aérienne	Infusion	Anti-hypercholestérolémique, diarrhée, douleurs abdominales	
Tunisie	Feuilles	NI	Abortif, antiseptique (infection/infestation), otite	
Pays de l'Amérique centrale	Différentes parties	Infusion	Rubéole, scarlatine, maux de tête	Olorunsogo et al., 1990

NI : Non indiqué.

I.3.6.3. Toxicité

Les plantes comme tout médicament, peuvent provoquer des effets indésirables intrinsèques et/ou extrinsèques, mais moins importants que ceux produits par les agents synthétiques (Al Mofleh, 2011).

Des études de la toxicité des différents extraits de *Ruta chalepensis* L., sont menées sur des souris. Il a été établi que l'extrait éthanolique entraîne une diminution de l'activité locomotrice, et l'affaiblissement du réflex cornéen à court terme, une diminution du taux des globules rouges, une alopécie, et une prise du poids uniquement chez les mâles à long terme. Par contre, l'effet spermato-toxique et mortel n'est pas obtenu (Shah et al., 1991 ; Gonzalez-Trujano et al., 2006). L'embryotoxicité de la plante est confirmée par des études menées avec les extraits aqueux des feuilles sur les souris (Zeichen de Sa et al., 2000 ; Gonzales et al., 2007).

La présence des furocoumarines dans la plante peut rendre son utilisation dangereuse à cause de leur phototoxicité (photosensibilisation caractérisée par la formation des vésicules sur la peau) (Seigler, 1998). Les furocoumarines peuvent également inhiber certaines enzymes comme le cytochrome P450 qui intervient dans la détoxification des xénobiotiques comme les médicaments dans le foie, ce qui peut y entraîner une accumulation potentiellement dangereuse de molécules médicamenteuses (Lièvre, 2004). L'effet inhibiteur du chalepine et de l'impératorine sur la chaîne respiratoire a été démontré (Olorunsogo et al., 1990). Ainsi l'ingestion ou le contact externe prolongé avec des plantes contenant des quantités considérables de ces composés peut entraîner des effets nuisibles aux organismes non adaptés à leur détoxification (Gray et Waterman, 1978).

Chapitre II :

Métabolites secondaires

Une des singularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante est mal connu. Le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal : ce sont des métabolites secondaires (**Guignard, 2000**). Ces derniers constituent un groupe de composés qui jusqu'à une époque récente ont été considérés comme des déchets du métabolisme végétal. Durant ces trois dernières décennies, il a été montré que de nombreux métabolites secondaires ont un rôle écologique (défense, pollinisation, etc.) très important (**Raven et al., 2000 ; Hopkins, 2003**). On distingue trois majeures classes : les composés terpéniques, les alcaloïdes, et les composés phénoliques (**Daniel, 2006**).

II.1. Terpènes, terpénoïdes ou isoprénoïdes

II.1.1. Définition

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) (Figure 3) (**Lamarti et al., 1994 ; Hopkins, 2003**).

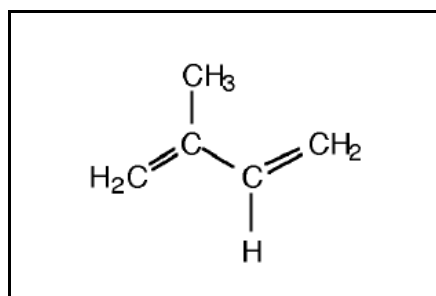
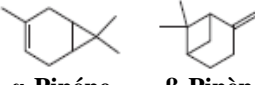
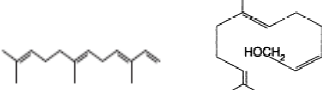
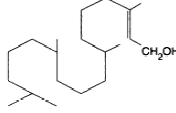
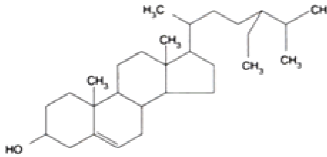
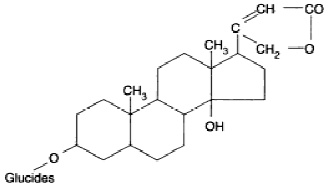
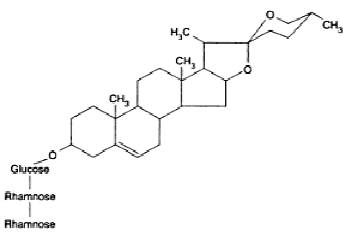


Figure 3: Structure chimique de la molécule Isoprène (méthylbutadiène=2-méthyl 1,3-butadiène) (**Lamarti et al., 1994**).

II.1.2. Classification

La classification des terpènes est basée sur le nombre des molécules isoprène qu'ils contiennent. On distingue ainsi, les héli-terpènes (C₅), les mono-terpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les di-terpènes (C₂₀), les tri-terpènes (C₃₀), les tétra-terpènes (C₄₀) et les poly-terpènes (C_{5n}) (**Matkowski, 2008**). Le tableau II présente les principales classes des terpènes avec quelques exemples.

Tableau II : Principales classes des terpènes

Classe	Généralités	Exemples	Références
Mono-terpènes (C10)	Les mono-terpènes et les sesquiterpènes sont parfois appelés huiles essentielles parce qu'ils sont très volatils et interviennent dans le parfum ou l'essence des plantes qui les produisent	 α-Pinène β-Pinène	Raven et al., 2000
Sesquiterpènes (C15)		 Farnésène Farnésol	
Di-terpènes (C20)	Les di-terpènes sont peu répandus, les plus connus sont le phytol ou la chlorophylle et la gibbérelline, une hormone végétale	 Phytol (chlorophylle)	Guignard, 1979
Tri-terpènes (C30)	Stérols : ils ont pour rôle dans la plante d'augmenter la fluidité et la stabilité membranaire. le stigmastérol et le sitostérol étant les plus abondants chez les végétaux	 Sitostérol	Hopkins, 2003
	Glycosides cardiotoniques : on distingue les cardénolides, les plus répandus, à cycle lactonique pentagonal, et les bufanolides à cycle lactonique hexagonal Ils sont utilisés en médecine pour stimuler ou ralentir les battements du cœur. Les exemples les plus connus, sont la digitaline et la digoxine des digitales (<i>Digitalis</i>)	 Digitoxine (<i>Digitalis purpurea</i>)	Cartier et Roux, 2007 Page et al., 1999 Raven et al., 2000
	Saponines : les saponosides sont, soit des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes alcaloïdes glycosylés, ou des glycosides tri-terpéniques. Ils peuvent également se trouver sous forme aglycone ou génine appelés sapogénines. Ils possèdent de nombreuses activités biologiques comme l'activité antimicrobienne, antimutagène, etc.	 Saponoside stéroïdique (<i>Melilotus sp</i>)	Sparg et al., 2004

II.2. Alcaloïdes

II.2.1. Généralités

Les alcaloïdes présentent un groupe de composés très hétérogène (**Daniel, 2006**). Plus de 10 000 composés ont été identifiés (**Deng et al., 2012**). Ce sont des composés basiques au goût amer (**Raven et al., 2000**) d'où le terme alcaloïde introduit par W. Meissner en 1818 (**Paris et Hurabielle, 1980**) pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des *alcalis* (de l'arabe *al Kaly*, la soude et du grec *eidōs*, l'aspect). Dans la nature, les alcaloïdes peuvent provenir des animaux, des insectes, des organismes marins, et des plantes, mais la source la plus importante sont les angiospermes dicotylédones (**Richter, 1988 ; Roberts et Wink, 1998**). Chez les végétaux, ils ont pour rôle essentiel, la défense. Ils peuvent de plus y remplir plusieurs autres rôles : ils constituent une réserve protéique, régulent la croissance, et interviennent dans le maintien de l'équilibre ionique (**Daniel, 2006**). Chez le végétal, les alcaloïdes existent sous forme de sels solubles (citrate, malate, tartrate, méconate, isobutyrate, benzoate) ou combinés à des tannins (**Guignard, 2000**). Leur biosynthèse se fait principalement à partir des acides aminés, mais également à partir des composés terpéniques (**Paris et Hurabielle, 1980**) dans des tissus en croissance (racines en croissance, feuilles en croissance, etc.) (**Guignard, 2000**).

II.2.2. Classification

Plusieurs critères peuvent être utilisés pour leur classification: selon leurs activités écologiques, leur distribution botanique (**Bruneton, 1987**), leur basicité (**Roberts et Wink, 1998**), leurs activités biologiques (**Anizewski, 2007**), et le plus souvent selon leur origine biogénique (**Cordell, 2012**) :

1. **Dérivés de l'ornithine et de la lysine:** pyrrolidines, pipéridines, pyridines, indolizédines, quinolizidines, tropanes, indolizidines.
2. **Dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine :** donnent le noyau isoquinoléine dont le principal groupe comporte les benzylisoquinoléines : morphine, berbérines, etc.
3. **Dérivés du tryptophane :** indole et quinoléine. Plusieurs composés appartiennent à ce groupe, comme l'Ajmaline, la Vindoline, etc.
4. **Dérivés de l'histidine :** imidazole.
5. **Alcaloïdes terpéniques (et stéroïdiques)**
6. **Dérivés des purines :** exemple la caféine.

II.2.3. Alcaloïdes chez les rutacées

La famille des rutacées renferme de nombreux groupes d'alcaloïdes (Figure 4), mais les plus abondants et les plus étudiés sont les quinoléines et les acridones (**Waterman, 1975**). Les furoquinoléines et les acridones sont exclusivement rencontrés chez cette famille (**Junghanns et al., 1997 ; Stashenko et al., 2000**), et se trouvent d'une manière concomitante dans de nombreuses espèces de rutacées (**Maier et al., 1990**).

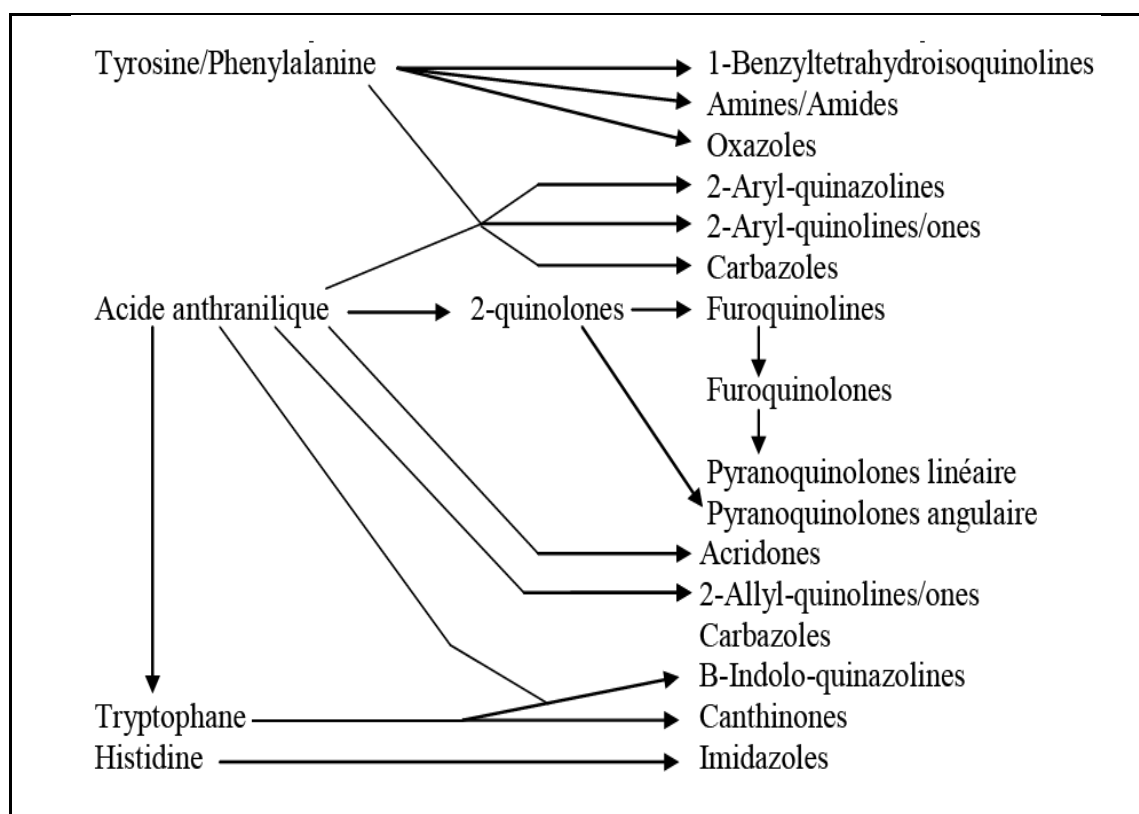


Figure 4: Classification biogénique des alcaloïdes des rutacées (**Waterman, 1975**).

II.2.3.1. Quinoléines

Ces composés représentent les alcaloïdes les plus communs de la famille des rutacées (**Waterman, 1975**). Dans cette classe figurent les 2-Alkyl et 2-Aryl-quinoléine, les quinolones, et les furoquinoléines (Tableau III).

Angustura trifoliata Elias et *Galipea officinalis* Hanck constituent la source majeure des 2-Alkyl et 2-Aryl-quinoléines chez les rutacées (**Waterman, 1975**). Ces composés sont surtout des agents anti-leishmania (**Fournet et al., 1989 ; Fournet et al., 1993**).

Les quinolones sont représentées par les 2-quinolones et les 4-quinolones. Ces dernières sont largement utilisées comme agents antibactériens pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses. En plus de leur activité antibactérienne, ces alcaloïdes peuvent exercer des activités antiparasitaire (**Marques et al., 2012**) et anticholinestérasique (**Cardoso-Lopes et al., 2010**).

La skimmianine, la dictamine, la kokusaginine, et la gamma-faragine sont les furoquinoléines les plus abondantes (**Waterman, 1975**). Ces alcaloïdes constituent de puissants agents antimicrobiens en se liant à l'ADN. Ils exercent également des activités anticancéreuse (**Musiol et al., 2011**) anti-cholinestérasique (**Cardoso-Lopes et al., 2010**), mutagène, antivirale, cytotoxique (**Bhoga et al., 2004**), et antiparasitaire (**Fournet et al., 1993 ; Kamdem Waffo et al., 2007 ; Mwangi et al., 2010 ; Wansi et al., 2010**).

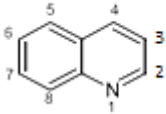
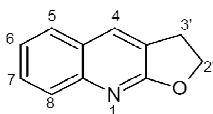
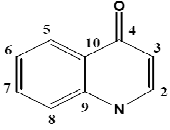
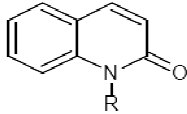
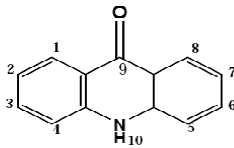
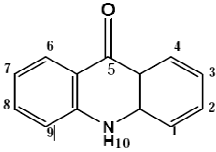
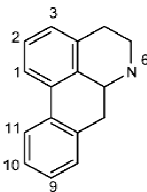
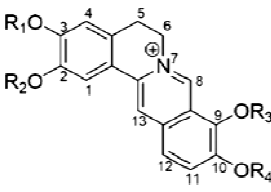
II.2.3.2. Acridones

Les acridones sont des composés typiques de la famille des rutacées. Environ 40 parmi eux ont été identifiés (**Baumert et al., 1982**). Ils sont retrouvés dans environ 20 genres de cette famille (**Maier et al., 1990**). L'acridone est un anneau tricyclique comportant un atome azote en position 10 et un groupement cétone en position 9 (**Giridhar et al., 2010**).

Ces alcaloïdes sont très intéressants en raison de leurs propriétés mutagène, antivirale, et antispasmodique (**Junghanns et al., 1997**). Leur structure planaire leur permet d'intercaler dans les brins d'ADN et d'ARN, se comportant ainsi comme de puissants agents anticancéreux. Ils ont également été testés pour leurs propriétés, antivirale, antifongique (**Kumari et Kumar, 2011**), antibactérienne, et contre les algues microscopiques (**Wansi et al., 2006**). Ils ont une importante activité antimicrobienne leur permettant d'être utilisés en chimiothérapie devant la résistance des germes vis-à-vis des antibiotiques synthétiques comme la pénicilline et les sulfamides, mais aussi en raison de la facilité et le coût faible de leur synthèse (**Giridhar et al., 2010**). Ils montrent en outre, une activité antiparasitaire contre certains protozoaires (**Kamdem Waffo et al., 2007 ; Mwangi et al., 2010**). Plusieurs dérivés synthétiques des acridones ont été développés contre l'herpès (citrusinine D), le cancer (glyfoline), le paludisme, la leishmanie, etc. (**Giridhar et al., 2010**).

Les benzolisoquinoléines peuvent également constituer un groupe intéressant d'alcaloïdes en raison de leur propriété antioxydante (Cassels et al., 1994 ; Rackova et al., 2004 ; O'Brien et al., 2006), et antimicrobienne (Yan et al., 2008), mais elles sont dépourvues de la diversité structurale chez les rutacées. Leur distribution est restreinte. Ils sont essentiellement rencontrés dans trois espèces *Zanthoxylum*, *Phellodendron*, et *Toddalia*.

Tableau III: Structure chimique des principaux groupes d'alcaloïdes des rutacées.

Quinoléines	
 <p>(Fournet et al., 1989)</p> <p>2-Alkyl-Quinoléines 2-propyl; 4-OMe: Chimianine A (<i>Galipea longiflora</i>) 2-(1-propenyl): Chimianine B (<i>Galipea longiflora</i>)</p>	 <p>(Bhoga et al., 2004)</p> <p>Furoquinoléines 4,7,8-OMe: Skimmianine (<i>Ruta</i>, <i>Citrus</i>) 4,7-OMe: Evolitrine (<i>Angostrua</i>, <i>Euodia</i>)</p>
 <p>(Waterman, 1975)</p> <p>4-Quinolones 1-H; 2-nonyl (<i>Ruta graveolens</i>) 1-H; 2-tridec-8-en-1-yl: Evocarpine (<i>Evodia rutaecarpa</i>)</p>	 <p>(Musiol et al., 2011)</p> <p>2-quinolones R=H; 4,8-OMe : Edulitine (<i>Casimiroa edulis</i>) R=Me 4-OMe, 8-OH: Folifidine</p>
Acridones	
 <p>5,6,7,8-OCH₃ : Melicopicine 3,4,7-H, 8-OMe: Rutacridone</p>	 <p>(kumari et Kumar, 2011)</p> <p>1,2,3,4-OCH₃ : Melicopicine (<i>Acronychia</i>, <i>Melicope</i>) 3,8,9-H, 4-OMe: Rutacridone (<i>Ruta</i>)</p>
Benzylisoquinoléines	
 <p>(Rackova et al., 2004)</p> <p>Aporphines 1-OH, 2-OMe, 9-H, 10-OMe, 11-OH: Magnoflorine 1-OH, 2-OMe, 9-OH, 10-OMe, 11-H: Laurifoline</p>	 <p>(Yan et al., 2008)</p> <p>Berbérines R1=-CH₂-, R3=R4=CH₃: Berbérine R1=OH, R2=R3=R4=OMe, 11-H: Jatrorhizine (<i>Zanthoxylum</i>, <i>Phellodendron</i>)</p>

II.3. Polyphénols

II.3.1. Généralités

L'appellation polyphénols ou composés phénoliques regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Raven et al., 2000 ; Svobodová et al., 2003 ; Hennebelle et al., 2004 ; Tsao, 2010**). Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques: celle de l'acide shikimique, et la voie des poly-acétates. De plus, la diversité structurale des composés poly-phénoliques due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.3.2. Classification

Les polyphénols sont divisés en plusieurs classes selon le nombre de cycles aromatiques qu'ils contiennent et les éléments que ces cycles lient (**Manach et al., 2004 ; D'Archivio et al., 2007**). Du point de vue nutritionnelle, les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tannins sont les plus importants (**Svobodová et al., 2003**). Le Tableau IV représente les différentes classes des polyphénols.

Tableau IV: Différentes classes des composés phénoliques (**Daayf et Lattanzio, 2008**)

Squelette carboné	Classes des composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénone et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthones
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1)2	Tannins hydrolysables
(C6-C3)2	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes
(C6-C3) n	Lignines
(C6) n	Catéchols
(C6-C3-C6) n	Tannins condensé

II.3.2.1. Acides phénoliques

Cette classe de composés phénoliques comporte les dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) et les dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3). Ces derniers sont généralement des constituants des essences végétales, des lignanes (dimères), ou des polymères constituant des lignines (**Guignard, 1979**). L'acide caféique, *p*-coumarique, férulique, et sinapique étant les plus connus. Ils se trouvent généralement sous forme liée (glycosides ou esters de l'acide shikimique, quinique, tartarique). L'acide chlorogénique est l'ester de l'acide caféique et de l'acide quinique (**Manach et al., 2004 ; D'Archivio et al., 2007**). Les dérivés de l'acide benzoïque sont peu répandus et sont représentés essentiellement par l'acide gallique, salicylique, vanillique, syringique, et protocatéchique (**Bruneton, 2009**).

II.3.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le plus grand groupe des composés phénoliques chez les plantes (**Harborne, 1991 ; Raven et al., 2000 ; Hannebelle et al., 2004**). Ils consistent en un groupe de substances à faible poids moléculaire (**Svobodová et al., 2003**) comprenant deux anneaux aromatiques A et B liés par trois carbones qui forment un hétérocycle dont la nature est à l'origine des différentes sous-classes: flavones, flavonones, flavanols, flavonols, isoflavonols, flavanones, anthocyanines, pro-anthocyanidines (**Williamson et Scalbert, 2000 ; Manach et al., 2004 ; D'Archivio et al., 2007**). Ces molécules dérivent de la voie shikimique et la voie des polyacétates, ils sont qualifiés de composés mixtes (**Guignard, 2000**).

II.3.2.3. Tannins

Les tannins sont des composés de poids moléculaire élevé largement distribués dans le règne végétal intervenant au niveau de la plante, dans la défense contre les herbivores et les rayons ultraviolets (UV) (**Svobodová et al., 2003**). On distingue les tannins hydrolysables qui sont des esters de l'acide gallique (gallo-tannins) ou ellagique (ellagitannins) et des composés divers (sucres, composés phénoliques comme la catéchine, etc.), l'acide tannique étant le plus connu (**Reed, 1995 ; Cartier et Roux, 2007**) et les tannins condensés (appelés également proanthocyanidines ou tannins catéchiqes). Ces derniers sont des oligomères (2-7) de flavanols (Flavan-3-ols). Selon le type de la liaison entre les molécules des flavanols, on distingue les proanthocyanidines de type A (liaison C₂-O-C₇ ou C₂-O-C₅) et de type B (liaison C₄-C₆ ou C₄-C₈) (**Handique et Baruah, 2002 ; Tsao, 2010**).

II.3.2.4. Coumarines

Le terme coumarine est appliqué collectivement à un groupe de composés présents dans la nature et possédant un noyau 2H-1-benzopyran-2-one (**Gray et Waterman, 1978**). Ils sont formés par la voie des phénylpropanoïdes par la cyclisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique (ou acide ortho-coumarique) (**Guignard, 1979**). On distingue des coumarines simples, des pyranocoumarines, et des furocoumarines (linéaires ou angulaires) (**Bruneton, 2009**). Au niveau des rutacées ces composés se trouvent principalement (60%) sous forme de coumarines simples, suivis par les furocoumarines, et les pyranocoumarines (**Gray et Waterman, 1978**).

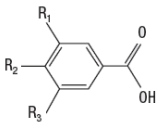
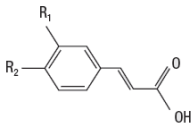
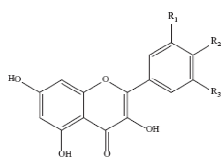
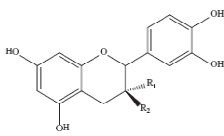
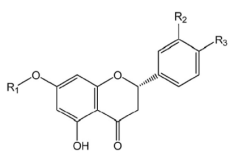
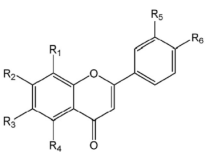
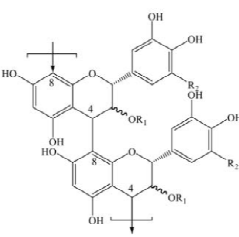
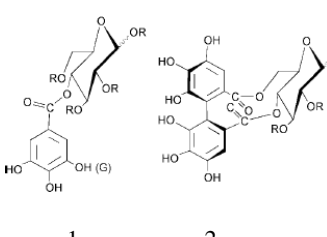
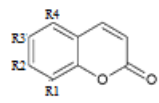
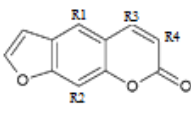
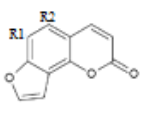
La structure chimique de quelques exemples de polyphénols de chaque classe est représentée dans le tableau V.

II.3.3. Activités biologiques

Les phénols en particulier les polyphénols montrent une grande variété d'actions biologiques bénéfiques. Du point de vue, pharmacologique et thérapeutique, la propriété antioxydante est la plus importante de ces composés (**Djéridane et al., 2006**).

Les flavonoïdes possèdent des activités antioxydante, anti-inflammatoire (**Heim et al., 2002 ; Su et al., 2008**), antimicrobienne, antimutagène (**Cos et al., 1998**) et sont capables d'inhiber certaines enzymes (**Svobodová et al., 2003**). Les anthocyanes sont des agents diurétiques, antiseptiques. Les tannins par leur propriété astringente sont des agents cicatrisants, et anti-diarrhéiques. Les acides phénoliques ont des propriétés antipyrétique, cholérétique, antiproliférative, et antimicrobienne (**Hennebelle et al., 2004 ; Pericin et al., 2009**). Certaines coumarines simples sont des agents veinotoniques, immunostimulants, broncho-dilatateurs (**Bruneton, 2009**). Les furocoumarines en particulier les furocoumarines linéaires sont des agents photo-sensibilisants en raison de leur capacité à se lier à l'ADN, une propriété utilisée en Puvathérapie (traitement du psoriasis, du vitiligo, mycosis fongoïde, lymphome T cutané, etc.) (**Bourgaud et al., 1995 ; Seigler, 1998**).

Tableau V: Structure chimique des principaux groupes des polyphénols

Acides phénoliques		
		
Dérivés de l'acide benzoïque R1=R2=R3= OH : Acide gallique R1=H, R2=OH, R3=OCH3: Acide vanillique R2=OH, R1=R3=OCH3 : Acide Syringique	Dérivés de l'acide cinnamique R1=R2=H, R3=R4=OH : Acide caféique R1=H, R3=OH, R2=R4=OCH3 : Acide cinapique R1=R2=R4=H, R3=OH : Acide <i>p</i> -coumarique	D'Archivio et al., 2007
Flavonoïdes		
		
Flavonols R1=R2= OH, R3=H: Quercétine R1=H, R2= OH, R3= H: kaempferol R1=OH, R2= OH, R3= OH: Myricétine	Flavanols R1=H, R2=OH : (+)-Catechine R1=OH, R2=H : (-)-Epicatechine R1=R2=OH; (+)-Galocatechine	Koolen et al., 2013
		
Flavanones R1=Hesperidose, R2=OH, R3= OMe: Neoponcirine R1=R2=H, R3=OH: Narigenine R1=Rutinose, R2= H, R3=OMe: Isonarigine	Flavonone R1=R2=R3=R5=R6= OMe, R4=H R1=R4=OH, R2=R3= R6=OMe, R5=H R1=R2=R3=R6=OMe, R4=OH, R5=H	Estrada-Reyes et al., 2010
Tannins		
		
Tannins condensés R1=R2=H : Procyanidine R1= R2=OH: Prodelphenindines (Zhang et line, 2008)	Tannins hydrolysables 1: Gallotannins 2: Ellagitannins (Handique et Baruah, 2002)	
Coumarines		
		
Coumarines simples R1=R2=R3=R4=H : Coumarine R1=R3=R4=H, R2=OH: Ombélliférone R1=R4=H, R2=R3=OH: Aescultine	Furocoumarines linéaires R1=R2=R3=R4=H : Psoralène R1=OMe, R2=R3=R4=H : Bergaptène R1=R2=H, R3=R4=OMe: Halkendine	Furocoumarines angulaires R1=OMe, R2=H : Sphondine R1=H, R2=OMe : Isobergaptène R1=R2=OMe: Pimpinelline
Gray et Waterman, 1978		

Chapitre III :
Espèces réactives
et antioxydants

III.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et stress oxydant

L'intérêt des radicaux libres produits *in vivo* n'est apparu que pendant les années 1970, après la découverte de la Superoxyde Dismutase (SOD) dans les cellules d'organismes vivants en 1968 ce qui a permis de démontrer pour la première fois l'existence de radicaux libres dans les organismes vivants (**Halliwell, 1991**).

III.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

III.1.1.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable: il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Goudable et Favier, 1997 ; Afonso et al., 2007**).

L'oxygène est un élément essentiel à la vie aérobie, mais à forte concentration il est toxique. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) contenant de l'oxygène sont des molécules chimiquement réactives du fait de la présence des électrons impairs (**Bursal et al., 2013**). Ils comprennent des espèces radicalaires et d'autres non radicalaires pouvant donner naissance à des radicaux libres (**Oktay et al., 2003**). Le radical hydroxyle (OH°) est le plus réactif en raison de sa demi-vie très courte (**Elmastaş et al., 2006**). D'autres radicaux peuvent dériver du l'azote, du chlore (**Halliwell, 2008**), du fer, du cuivre, et du soufre (**Halliwell, 2011**). En terme de nocivité pour les tissus, les principaux ERO sont respectivement le radical hydroxyle et l'anion superoxyde (**Mantle et al., 1998**). Le tableau VI représente certaines espèces réactives.

Tableau VI : Principales espèces réactives (**Hennebelle et al., 2004 ; Halliwell, 2008**).

	Nom	Formule
Espèces radicalaires	Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\circ-}$
	Radical hydroxyle	OH°
	Monoxyde d'azote	NO°
	Nitroxyde	NOO°
	Peroxynitrite	ONOO°
	Radical peroxy	ROO°
	Acide hypochlorique	HOCl
Espèces non radicalaires	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
	Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
	Ozone	O_3

III.1.1.2. Production

La formation des ERO et des autres espèces réactives *in vivo* est la conséquence des réactions biochimiques essentielles (Opara, 2002). Leur formation est également induite par des facteurs exogènes tels que la lumière (UV, visible), les radiations ionisantes, les agents chimiques (le tabac, certains polluants, les solvants organiques et les pesticides) (Mantle et al., 1998 ; Liu et Ng, 1999 ; Oktay et al., 2003 ; Gülçin et al., 2004 ; Elmastaş et al., 2006). Dans le corps humain, le système immunitaire représente la source la plus importante des espèces réactives (Halliwell, 2011). Ils peuvent également provenir de la respiration normale et les peroxysomes qui constituent l'une des principales sources des oxydants dans les cellules (Oktay et al., 2003). Il existe deux grandes voies de formation des radicaux libres : le transfert d'électrons catalysé par les métaux de transition (fer, cuivre) et la voie catalysée par les enzymes (Cillard et Cillard, 2006). La figure 5 représente les différentes réactions conduisant à la formation de différentes espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.

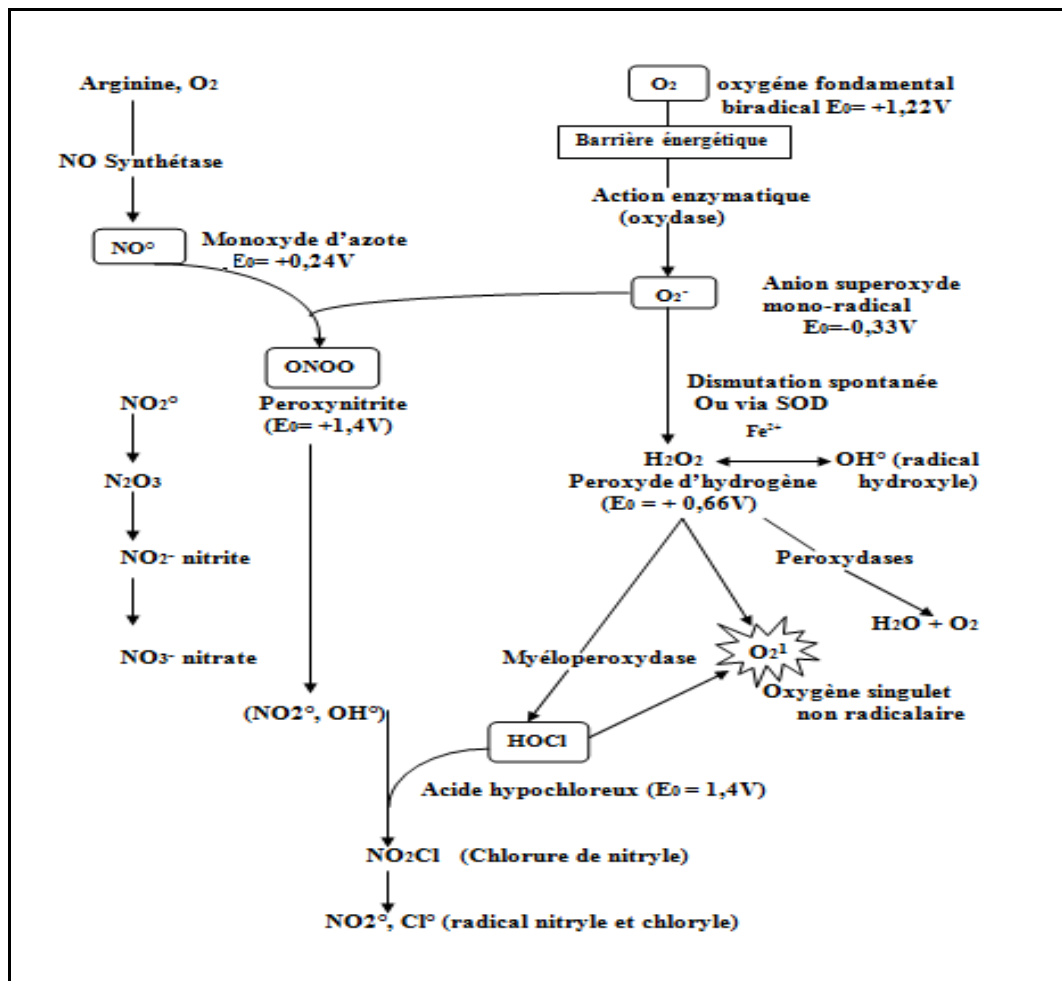


Figure 5: Production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Serteyn et al., 2002).

III.1.2. Stress oxydant et ses conséquences

III.1.2.1. Définition du stress oxydant

Dans l'organisme humain le rôle des différents antioxydants est de contrôler le niveau des espèces réactives réalisant ainsi un équilibre antioxydants/pro-oxydants (Figure 6) qui permet un bon fonctionnement de l'organisme tout en minimisant les dommages oxydatifs (**Halliwell, 2008**). Le stress oxydant apparaît dans une cellule lorsque cet équilibre est rompu en faveur de l'état pro-oxydant (**Goudable et Favier, 1997**) en raison d'une production excessive et prolongée des espèces réactives favorisée par plusieurs facteurs comme l'âge (**Sarikurkcu et al., 2008**), les maladies infectieuses (**Halliwell, 1991**), l'exposition aux radiations UV, les polluants de l'environnement, la fumée, les pesticides, etc. (**Abdel-Hameed, 2009**).

III.1.2.2. Conséquences du stress oxydant

Les espèces réactives sont impliquées dans l'étiologie de presque toutes les maladies. Dans certaines de ces maladies, elles peuvent jouer un rôle fondamental comme dans le cas du cancer et les maladies neurodégénératives (**Halliwell, 2011**). Des lésions d'origine radicalaire sont en effet susceptibles de modifier la structure des lipides, des sucres, des protéines et des acides nucléiques (**Shone et al., 2003 ; Cai et al., 2004 ; Jang et al., 2007**). Les lipoprotéines telles que les lipoprotéines de faible densité ou LDL, riches en cholestérol et en phospholipides sont des cibles privilégiées de la peroxydation lipidique. Les LDL oxydées sont fortement incriminées dans l'athérogenèse (**Beaudeau et al., 2006**). De nombreuses autres pathologies sont associées au stress oxydant comme les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, etc.), les maladies cardiovasculaires, la cataracte, la toxicité aiguë du foie, le rhumatisme, la néphrite, le diabète, et les dommages de l'ADN qui peuvent stimuler la carcinogenèse (**Cai et al., 2004 ; Abdel-Hameed, 2009 ; Bursal et al., 2013**).

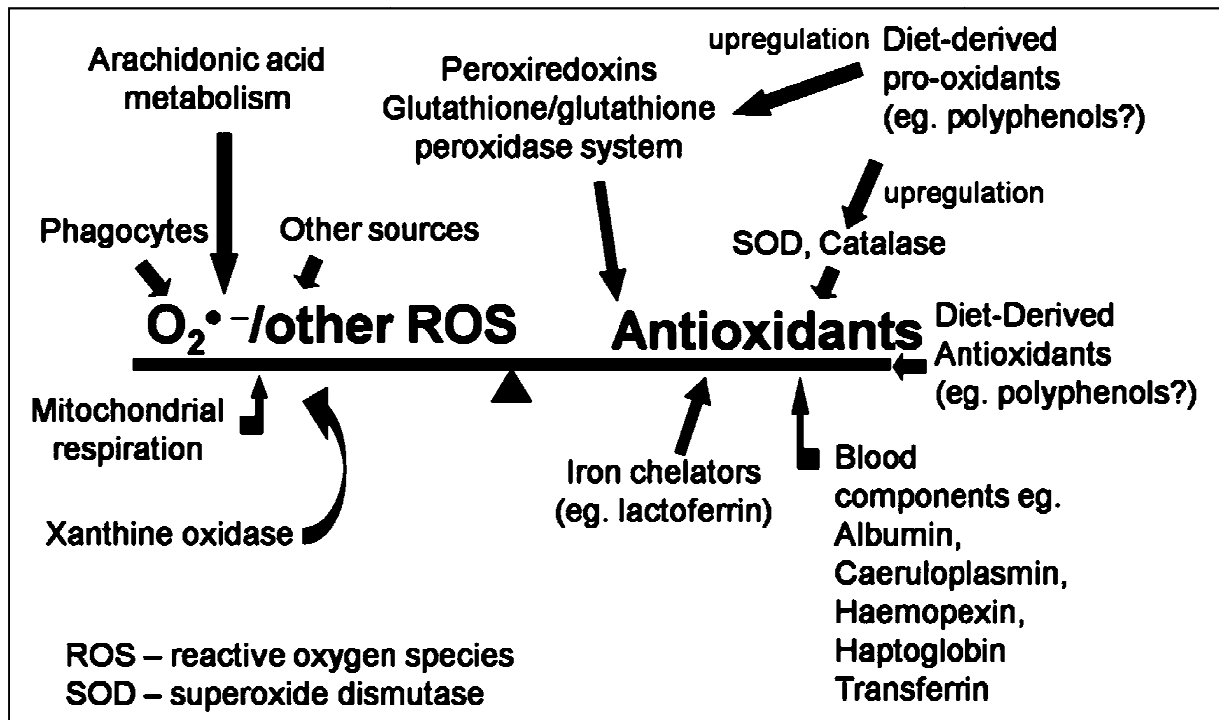


Figure 6: Equilibre entre les antioxydants et les espèces réactives *in vivo* (Haliwell, 2008).

III.2. Antioxydants

III.2.1. Définition

Un antioxydant est un composé qui, présent à une faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, inhibe ou évite l'oxydation de ce dernier (Haliwell, 1991 ; Matkowski, 2008). Les antioxydants sont également définis comme un groupe de composés qui permettent la survie des plantes et améliorent la santé humaine par la consommation de plantes alimentaires (Borchardt *et al.*, 2008).

III.2.2. Systèmes antioxydants

Afin de limiter la concentration des espèces réactives, les cellules sont équipées de divers systèmes antioxydants qui agissent de plusieurs manières (Carrière *et al.*, 2006). Il s'agit notamment de systèmes enzymatiques et d'autres non enzymatiques (Abdel-Hameed, 2009).

III.2.2.1. Systèmes enzymatiques

Ces systèmes comportent principalement trois enzymes : la superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1), la glutathion peroxydase (EC 1.11.1.9), et la catalase (EC 1.11.1.6) (**Gamain et al., 1996**).

III.2.2.1.1. Glutathion peroxydase (GPx)

C'est l'enzyme clé de la dégradation de la plupart des hydroperoxydes (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène, produit par la dismutation par la SOD de l'anion superoxyde (**Afonso et al., 2007**). L'activité de cette enzyme dépend de la présence de Sélénium comme cofacteur, de la glutathion réductase qui réduit le glutathion oxydé en glutathion réduit (GSH) et du NADPH provenant de la voie des pentoses (**Gamain et al., 1996**). Elle élimine également les peroxy-nitrites qui sont des oxydants très puissants. Dans la cellule, elle est localisée au niveau du cytoplasme de la mitochondrie et des membranes. Une GPx intestinale a été identifiée. Elle éliminerait les hydroperoxydes provenant des aliments oxydés (**Cillard et Cillard, 2006**).

III.2.2.1.2. Superoxydes dismutases (SOD)

Elles transforment l'ion superoxyde ($O_2^{\circ-}$), en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), beaucoup moins dangereux. Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La SOD1 cytosolique et la SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse (**Afonso et al., 2007**).

III.2.2.1.3. Catalase (CAT)

Elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour donner l'eau et l'oxygène moléculaire (**Goudable et Favier, 1997**). L'inconvénient de cette enzyme est qu'elle est localisée uniquement dans les peroxysomes et ne peut donc pas agir dans les autres compartiments cellulaires (cytoplasme, mitochondrie, lysosome, noyau) où le peroxyde d'hydrogène est également présent. Ce dernier diffuse très facilement à travers les membranes et peut donc agir à distance de son lieu de production (**Cillard et Cillard, 2006**).

III.2.2.2. Systèmes non enzymatiques

Des molécules endogènes de faible poids moléculaire peuvent exercer en plus de leurs rôles physiologiques dans l'organisme un rôle antioxydant (**Matkowski, 2008**). Il s'agit de la mélatonine, l'acide urique, (**Turkoglu et al., 2006 ; Borchardt et al., 2008**), la bilirubine, les composés avec des groupements thiols (le glutathion (GSH), N-acétylcystéine) (**Halliwell, 1991 ; Goudable et Favier, 1997**), et le coenzyme Q (**Carrière et al., 2006**). Ces molécules peuvent agir en piégeant les radicaux libres, en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (la mélatonine) (**Marshall et al., 1996**), en réparant les dommages oxydatifs (glutathion) (**Carrière et al., 2006**), ou encore en séquestrant les ions de transition (les protéines telles que la transferrine, la ferritine, la lactalbumine sont capables de séquestrer le fer, et la céruloplasmine, l'albumine sont capables de séquestrer le cuivre) empêchant ainsi la formation des radicaux libres (**Cillard et Cillard, 2006**).

Des antioxydants exogènes peuvent être apportés par le régime alimentaire (fruits et légumes) et l'utilisation de certaines plantes (plantes médicinales, aromatiques, etc.). Ces antioxydants sont de nature très variée. Il s'agit des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, quinones, coumarines, lignanes, stilbenes, tannins), des composés azotés (alcaloïdes, amines, bétalaïns) (**Cai et al., 2004 ; Erkan et al., 2008**), des vitamines (Vitamine C et E), et des caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) (**Goudable et Favier, 1997**)

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

La partie aérienne (Feuilles, tiges, et fleurs) de deux variétés de rue (cultivée et sauvage) ont été récoltées en Avril 2013 au niveau de la région d'Adekar (situé au nord de Bejaïa : 36° 41' 00" Nord 4° 40' 00" Est) (Figure 7) (Altitude 1092m).

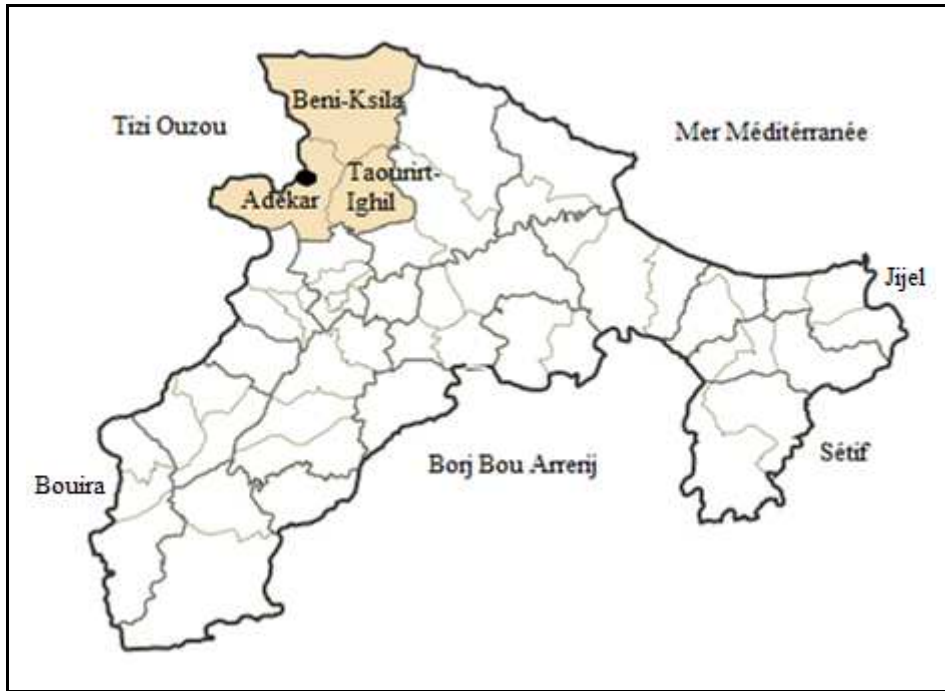


Figure 7 : Localisation géographique du site de l'échantillonnage.

Le cercle noir indique le site de la récolte des échantillons.

L'identification est faite au niveau de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa (UAMB). Les échantillons (Figure 8) sont nettoyés et séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant une semaine puis à l'étuve (Memmert) à 40°C, puis broyés en fine poudre dans un broyeur électrique puis tamisée (tamiseur Retsch) pour obtenir une poudre de 125µm qui servira aux différentes extractions.



Figure 8: Photographies des échantillons des deux variétés de *Ruta chalepensis* L.

II. Etude des caractéristiques fluorescentes de la poudre

L'analyse de la fluorescence de la poudre est réalisée en ajoutant des réactifs : HCl concentré, HCl concentré + eau distillée, H₂SO₄ concentré, H₂SO₄ 50% + eau distillée, acide acétique, méthanol, acétate d'éthyle, éther de pétrole, NaOH 10% (aqueux), NaOH 1N (dans l'éthanol), FeCl₃ (5%) suivi par l'observation à la lumière du jour et sous UV (203nm) (Kumar *et al.*, 2011).

III. Préparation des extraits bruts

Les extraits acétonique et éthanolique sont obtenus par extraction exhaustive de 20 g de poudre de chaque variété au soxhlet (Behl-Laborr-Technik) avec 200ml d'éthanol (96%) ou d'acétone ($\geq 99\%$). L'extrait aqueux est obtenu en utilisant la méthode d'Oktay *et al.* (2003) qui consiste à mélanger 25g de poudre avec 500ml d'eau distillée bouillante pendant 15mn. La solution est ensuite filtrée en utilisant un papier filtre.

Les solvants sont éliminés à l'étuve (Memmert WTB Binder) à 40°C. Les résidus obtenus sont reconstitués à raison de 50mg/ml avec le méthanol (99,6%) pour les extraits acétonique et éthanolique et avec l'eau distillée pour l'extrait aqueux et conservés à 4°C.

IV. Analyse phytochimique des extraits

IV.1. Tests phytochimiques

L'analyse qualitative de la composition en métabolites secondaires des différents extraits est réalisée par les méthodes basées sur des réactions spécifiques de chaque type de métabolites.

IV.1.1. Composés phénoliques

IV.1.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes

Le test est réalisé par l'hydroxyde de sodium (NaOH). En additionnant ce dernier à des concentrations différentes, l'extrait montre une coloration jaune qui disparaît en ajoutant un acide. 1ml de chaque extrait est additionné de 0,5ml d'hydroxyde du sodium à des concentrations de 0,5mg/ml, 1mg/ml, et 1,5mg/ml. Quelques gouttes d'HCl concentré sont ensuite ajoutés (**Sahu et al., 2010**).

IV.1.1.2. Mise en évidence des tannins

Les tannins condensés ou catéchiques ont été mis en évidence à chaud en présence de HCl concentré : 4ml de chaque extrait sont évaporés. Les résidus sont repris dans 2 ml d'eau distillée. Quelques gouttes d'HCl concentré sont ensuite additionnées. Le tout est chauffé au bain-marie bouillant. La formation d'un précipité rouge indique un test positif.

La détection des tannins hydrolysables ou galliques se fait par saturation avec l'acétate de sodium du filtrat de la solution précédente et l'ajout de 3gouttes d'une solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 (2%). L'apparition d'une coloration bleu-noir intense est signe de la présence des tannins galliques (**Békéro et al., 2007**).

IV.1.1.3. Mise en évidence des coumarines

2ml de chaque extrait sont mis dans deux tubes à essais puis évaporés. Les résidus sont ensuite repris avec 2 ml d'eau distillée. Le tout est chauffé au bain marie. La présence de coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes de 0.5ml d'ammoniaque (NH_4OH) à 25% et observation de la fluorescence sous UV (203nm). Une fluorescence intense dans le tube où a été ajoutée l'ammoniaque indique la présence de coumarines (**Bouزيد, 2008**).

IV.1.2. Composés terpéniques

IV.1.2.1. Mise en évidence des stéroïdes/tri-terpènes

Les stéroïdes sont détectés par la réaction de Liebermann. 3ml de chaque extrait est mélangé avec 3ml d'acide acétique. Le mélange est ensuite chauffé puis refroidi. Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sont additionnées. L'apparition d'une couleur bleu-verte indique une réaction positive (Sahu et al., 2010).

IV.1.2.2. Mise en évidence des glycosides cardiotoniques

La révélation de la présence des glycosides cardiotoniques est effectuée selon le test Keller-Killiani. 2ml de chaque extrait sont évaporés. Les résidus sont dilués dans 5ml d'eau distillée puis, 2ml d'acide acétique glacial, contenant une goutte d'une solution FeCl₃ (5%) sont additionnés. L'ajout de l'acide sulfurique concentré conduit à la formation d'un anneau noir à l'interface indiquant la présence des sucres oxydés caractéristiques des cardénolides. Un anneau violet au dessous de l'anneau noir et un anneau bleu-vert au niveau de la phase acétique peuvent apparaître (Khan et al., 2011).

IV.1.2.3. Mise en évidence des saponosides

2ml de chaque extrait sont évaporés. Les résidus sont ensuite additionnés de 5ml d'eau distillée, puis agités vigoureusement. L'apparition d'une mousse de plus d'1cm de hauteur persistante durant 1heure indique la présence abondante des saponines (Békéro et al., 2007).

IV.1.3. Mise en évidence des alcaloïdes

3ml de chaque extrait sont évaporés. 3ml d'HCl dilué (37%) sont ajoutés aux résidus obtenus puis filtrés. Quelques gouttes de réactif de Mayer (5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) sont ajoutées au filtrat. L'apparition d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (El-Kamali et El-amir, 2010).

IV.1.4. Mise en évidence des protéines

1ml de chaque extrait est évaporé. 1ml de H₂SO₄ concentré est additionné à chaque résidu. La présence des protéines entraîne l'apparition d'un précipité blanc qui devient jaune par chauffage. Après addition d'ammoniaque (NH₄OH), le précipité jaune devient orange (Sahu et al., 2010).

IV.2. Chromatographie sur couche mince CCM

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique qui peut nous renseigner sur le nombre et l'identité des composés d'un mélange. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (**Bounias, 1983**).

Dans ce travail la CCM est réalisée sur une plaque en verre. La phase stationnaire est constitué d'une couche de 0,5cm d'un gel de silice déposé sur une plaque en verre (19,7x20x0,2 cm). L'élution est faite en utilisant les deux systèmes de solvants suivants (**Abdel-Hameed, 2009**):

- Système 1 : Dichlorométhane-Méthanol 19 :1 (CH₂Cl₂-MeOH : 19 :1).
- Système 2 : n-Butanol-Méthanol-Eau distillée (n-BuOH-MeOH-H₂O : 5 :1 :1).

10µl de chaque extrait (50mg/ml pour le système 1 et 25mg/ml pour le système 2) et des standards (quercétine, rutine, et acide gallique à une concentration de 8mg/ml) sont déposés à une distance de 1cm de la partie inférieure de la plaque. La plaque est ensuite placée en position verticale dans la cuve contenant la phase mobile (solvant) qui se déplace le long de la phase stationnaire (gel de silice sur la plaque en verre) selon le phénomène de capillarité. Lorsque le solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve. La révélation est effectuée après séchage de la plaque à l'étuve (40°C/ quelques minutes) par l'utilisation des réactifs chimiques et l'UV. Les rapports frontaux (R_f) des différentes bandes sont déterminés selon la formule suivante (**Bounias, 1983**):

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

IV.3. Dosage colorimétrique des polyphénols

IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant la méthode adaptée par **Khelifi et al. (2013)** avec quelques modifications.

Le principe de la méthode repose sur la réduction du réactif Folin-Ciocalteu (mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

0,25ml de chaque extrait est additionné de 1,25ml de réactif Folin-Ciocalteu (0,2N). Le mélange est laissé pendant 5mn à température ambiante, puis 1ml de carbonate de sodium (7,5%) est ajouté. Après 1heure d'incubation l'absorbance est mesurée à 765nm par un spectrophotomètre visible (UNICO 1200) contre un témoin réalisé de la même manière en remplaçant l'échantillon par le méthanol ou l'eau distillée. Une courbe d'étalonnage est réalisée avec l'acide gallique (Annexe III). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/g MS).

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée par la méthode d'Arvouet-Grand et al. (1994) adapté par **Gursoy et al. (2009)** basée sur la formation d'un complexe jaune flavonoïde-Aluminium.

1ml de chaque extrait est mélangé avec un volume égal de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) dans du méthanol (2%). Le mélange est incubé pendant 10mn, et l'absorbance est lue à 415 contre un témoin consistant en 1ml de l'échantillon et 1ml du méthanol sans $AlCl_3$. Les teneurs sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par g de matière sèche obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant la quercétine (Annexe III).

IV.3.3. Dosage des flavonols

Le dosage des flavonols est réalisé selon la méthode de Kumaran et Karunakaran (2007) adapté par **Mbaebie et al. (2012)**.

Un volume de 1ml de chaque extrait est mélangé avec 1ml de chlorure d'aluminium à 2% dans du méthanol et 1,5ml d'une solution d'acétate de sodium (5%). Le mélange est incubé pendant 2.5 h à 25°C et la lecture est effectuée à 440nm. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par g de matière sèche déterminés à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant la quercétine. Un témoin est réalisé de la même manière en remplaçant le chlorure d'aluminium et l'acétate de sodium par du méthanol et de l'eau distillée.

IV.3.4. Dosage des tannins condensés

La détermination de la teneur en tannins condensés est réalisée par la méthode de Sun et al. (1998) adaptée par **Liu et al. (2008)**, basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré en rouge mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tannins n'implique que la première unité du polymère (**Ba et al., 2010**).

500 µl de chaque extrait est mélangé avec 3ml de la vanilline (à 4% dans le méthanol) et 1,5ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré. Le mélange est laissé au repos pendant 15mn à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 500nm contre un témoin réalisé de la même façon que pour l'échantillon en remplaçant l'extrait par le méthanol ou l'eau distillée. Les concentrations sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par g de la matière sèche (mg ECat/g MS) déterminés à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant la catéchine (Annexe III).

V. Evaluation de l'activité antioxydants

V.1. Détermination de l'activité scavenger (Activité anti-radicalaire)

L'activité scavenger des radicaux libres est très importante en raison des effets néfastes de ces radicaux dans les aliments et les systèmes biologiques. Le DPPH et L'ABTS sont les plus utilisés en raison de la facilité de la réalisation, de la rapidité de la réaction, et de sa sensibilité (**Pourmorad et al., 2006 ; Gülçin et al., 2010a**).

V.1.1. Activité scavenger du radical DPPH°

Le DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) est largement utilisé pour déterminer la capacité scavenger des extraits (**Jang et al., 2007**). Sa structure présente un centre azoté et possède des caractéristiques absorbatives à 517nm. Sa réduction en 1,1,-diphényl-2-picrylhydrazine (Figure 9) par le don d'un atome hydrogène ou d'un électron entraîne un changement de la couleur de la solution du pourpre au jaune (**Jayaprakasha et al., 2008, Liu et al., 2008**).



Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)

Diphenylpicrylhydrazine (non radicalaire)

Figure 9: Forme radicalaire et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

L'effet des différents extraits des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. sur le DPPH est estimé selon la méthode rapportée par **Gursoy et al. (2009)**. 1ml de chaque concentration de l'extrait (20-100µg/ml) est ajouté à 1ml d'une solution du radical DPPH (dans du méthanol 0,2mM). Le mélange est fortement agité puis laissé au repos pendant 30mn. L'absorbance est mesurée à 517nm. L'acide ascorbique et le BHA sont utilisés comme des standards positifs. L'inhibition du DPPH exprimée en termes de pourcentage (PI) est donnée par la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Où A_0 et A_1 sont l'absorbance du contrôle et de l'échantillon respectivement.

Les valeurs peuvent également être exprimées en terme d'IC₅₀ qui désigne la concentration de l'échantillon inhibant 50% du radical DPPH° (**Su et al., 2008**).

V.1.2. Activité scavenger du radical ABTS^{°+} (Acide 2,2'azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonique))

L'activité scavenger du radical ABTS est déterminée selon la méthode de **Re et al. (1999)**. Le cation ABTS^{°+} est généré en mélangeant 5ml d'une solution aqueuse d'ABTS (14mM) avec 5ml de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) à 4,9mM. Le mélange est ensuite stocké à l'abri de la lumière à température ambiante durant 16h. La solution est diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0,7±0,02 à 734nm.

Un volume de 2ml de la solution ABTS^{°+} diluée est additionné à 20µl de chaque extrait ou du BHA à différentes concentrations. L'absorbance est mesurée après 6mn à 734nm. Le BHA est utilisée comme standard. Les mesures sont effectuées en double.

Les pourcentages d'inhibition (PI) sont mesurés en utilisant la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Où A₀ et A₁ sont l'absorbance du contrôle et de l'échantillon respectivement.

V.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de *Ruta chalepensis* L. est déterminé selon la méthode de **Jayaprakasha et al. (2001)**. Ce test est basé sur la réduction de l'ion Fe³⁺ (fer ferrique) du ferrocyanure en sa forme réduite Fe²⁺ (fer ferreux) qui sera suivie par la mesure de la formation d'une couleur bleue à 700nm (**Ak et Gülçin, 2008**).

Un volume de 1ml de chaque concentration de l'extrait est mélangé avec 2.5ml de tampon phosphate (0.2M, pH 6.6) et 2.5ml de ferricyanure de fer [K₃Fe(CN)₆] (1%). Le mélange est mis dans un bain marie (Memmert) à 50°C pendant 20mn. Après refroidissement, 2,5ml de trichloracétique (10%) sont additionnés. Le mélange est centrifugé à 5000trs /10mn. 2,5ml du surnageant sont prélevés et sont additionnés de 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm. L'augmentation de l'absorbance indique un fort pouvoir réducteur. Le BHA et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards.

V.3. Chélation du fer

La capacité de la chélation du fer par les extraits est estimée par la méthode de **Dinis et al. (1994)**. Le test consiste à inhiber la formation d'un complexe entre la ferrozine et l'ion Fe^{2+} de couleur rouge. Cette inhibition se traduit par la diminution de la couleur rouge dont l'intensité est mesurée à 562nm.

2ml de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 0,05ml de chlorure de fer ($FeCl_2$) à 2mM. La réaction est initiée par l'ajout de 0,2ml de ferrozine (5mM). Le mélange est agité vigoureusement puis laissé pendant 10mn à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 562nm. L'acide Ethylènediaminetétraacétique (EDTA) est utilisé comme standard. Le pourcentage de l'inhibition est donné par la formule suivante :

$$PI (\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

Où A_0 et A_1 sont l'absorbance du contrôle et des échantillons respectivement.

VI. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits de *Ruta chalepensis* L. est testée sur trois souches bactériennes et trois souches fongiques représentées dans le tableau VII.

Tableau VII : Souches microbiennes testées

Souches bactériennes		Souches fongiques	
Gram-	Gram+	Levure	Moisissures
<i>Escherichia coli</i> (N.A.R)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC6538)	<i>Candida albicans</i> (ATCC1024)	<i>Aspergillus niger</i> (939N)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)			<i>Aspergillus flavus</i> (2CA936)

ATCC: American Type Culture Collection ;

N.A.R: Nalidixic Acid Resistant;

VI.1. Préparation de la suspension microbienne

Les souches bactériennes et fongiques sont initialement revivifiées par culture dans le bouillon nutritif, à partir duquel une culture jeune de 18h est réalisée sur des milieux sélectifs pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (milieu gélosé Chapman et milieu gélosé Hektoen respectivement) et sur le milieu gélosé Plat count agar (PCA) pour *Pseudomonas aeruginosa* à 37°C et sur le milieu gélosé Sabouraud Dextrose à 30°C pour la levure et les moisissures. Une suspension de chaque microorganisme est réalisée par le transfert de quelques colonies bien isolées de chaque culture dans de l'eau physiologique stérile (0,9%). La suspension est ensuite ajustée à une absorbance de 0,08-0,1/ $\lambda= 625\text{nm}$ (10^8 UFC/ml) pour les bactéries, de 0.12-0.15/ $\lambda= 530\text{nm}$ (10^6 UFC/ml) pour *Candida albicans*, et 10^6 spores/ml (Transmittance= 68-82%/ $\lambda= 530\text{ nm}$) pour les moisissures (**Pfaller et al., 1998**).

VI.2. Test de sensibilité

L'activité antimicrobienne est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu solide. 15ml du milieu Muller Hinton et de Sabouraud Dextrose en fusion (40-45°C) sont coulés dans des boîtes de Pétri (9cm) stériles. 0,1ml de la suspension microbienne correspondante est étalée sur la surface des milieux gélosés se servant d'un râtelier étaleur (**Kelen et Tepe, 2008**).

Des spots de 20 μ l de chaque extrait à différentes concentrations (10, 30, et 50mg/ml soit 0,1, 0,3, et 0,5mg/20 μ l) sont appliqués à la surface des milieux gélosés préalablement ensemencés. Les boîtes sont ensuite conservées à 4°C pendant 3h pour une pré-diffusion (**Bansemir et al., 2006**) puis incubées à 37°C/24h pour les bactéries, 30°C/24h pour la levure, et 30°/48h pour les moisissures (**Haddouchi et al., 2013**).

Le méthanol est utilisé comme témoin négatif. La Gentamicine (1mg/ml soit 0,01mg/20 μ l) est utilisée comme antibiotique de référence, et le Fluconazole (1, 3, et 5mg/ml soit 0,01, 0,03 et 0,05mg/20 μ l) comme antifongique de référence. Tous les tests sont effectués en double. L'activité antimicrobienne est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

VII. Analyse statistique

Toutes les mesures sont réalisées en double. Les résultats des dosages et des tests biologiques (activité antioxydants et antimicrobienne) sont exprimés en moyennes \pm écart type. L'analyse de la variance ANOVA, suivie du test Tukey est employée pour déterminer le taux de signification en utilisant le logiciel OriginPro (version 8.6E). La différence est considérée significative à $p \leq 0,05$. Les corrélations entre l'activité antioxydants et les teneurs en polyphénols sont réalisées par le calcul du coefficient de corrélation Pearson « r » ($p \leq 0,05$) et par régression linéaire sur le programme EXCEL. Les valeurs d'IC50 sont déterminées en employant le logiciel OriginPro 8.6.

Résultats et discussion

I. Caractéristiques fluorescentes de la poudre des échantillons

Cette analyse constitue surtout un moyen permettant la distinction entre les plantes qui présentent des caractéristiques botaniques proches et qui diffèrent par leur composition chimique comme c'est le cas des espèces de *Ruta*. Certains constituants ont tendance à montrer une fluorescence dans le visible à la lumière du jour, d'autres présentent des florescences sous UV comme certains alcaloïdes, et certains d'autres ne le sont qu'après leur transformation en dérivés fluorescents en appliquant des réactifs appropriés (Kumar et al., 2011). Les résultats de l'analyse du comportement fluorescent de la poudre sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Caractéristiques fluorescentes de la poudre de *Ruta chalepensis* L.

Traitement	Lumière visible	UV (302nm)	Composés probablement décelés	Référence
La poudre telle quelle est	Vert clair	Vert clair	-	-
HCl concentré	Bleu-vert	Pourpre	Tri-terpènes	Khan et al., 2011
HCl concentré + eau distillée	Beige	Jaune	Acridones	Junghanns et al., 1997
H ₂ SO ₄ concentré	Brun noir	Violet	-	-
H ₂ SO ₄ 50% + eau distillée	Rouge-brunâtre	Bleu	-	-
Acide acétique	Vert foncé	Violet	Tri-terpènes	Khan et al., 2011
Méthanol	Vert-jaune	Violet	-	-
Acétate d'éthyle	Beige	Orange-rosâtre	-	-
Ether de pétrole	Vert	Rouge	-	-
NaOH 10% (aqueux)	Jaune	Vert	Flavonoïdes	Sahu et al., 2010
NaOH 1N (dans l'éthanol)	Jaune	Jaune		
FeCl ₃ (5%)	Vert-noir	Violet	Polyphénols	Meot-Duros et Magné, 2009

L'ajout des différents réactifs conduit à l'apparition de plusieurs couleurs et florescences résultant de la réaction des réactifs utilisés avec les constituants de la poudre. Les différentes réactions ont conduit à la mise en évidence de certains constituants de *Ruta chalepensis* L. comme les acridones (alcaloïdes) qui présentent une fluorescence jaune et sont décelés par l'HCl + l'eau distillée (Junghanns et al., 1997). De même, l'ajout des acides concentrés (HCl, et acide acétique) conduit à l'apparition d'une couleur bleu-verte caractéristique des tri-terpènes qui apparaissaient en pourpre ou en violet sous UV (Khan et al., 2011). La couleur jaune est observée en utilisant le NaOH indiquant la présence des flavonoïdes (Sahu et al., 2010).

II. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction obtenus avec les trois solvants utilisés sont représentés dans la figure 10.

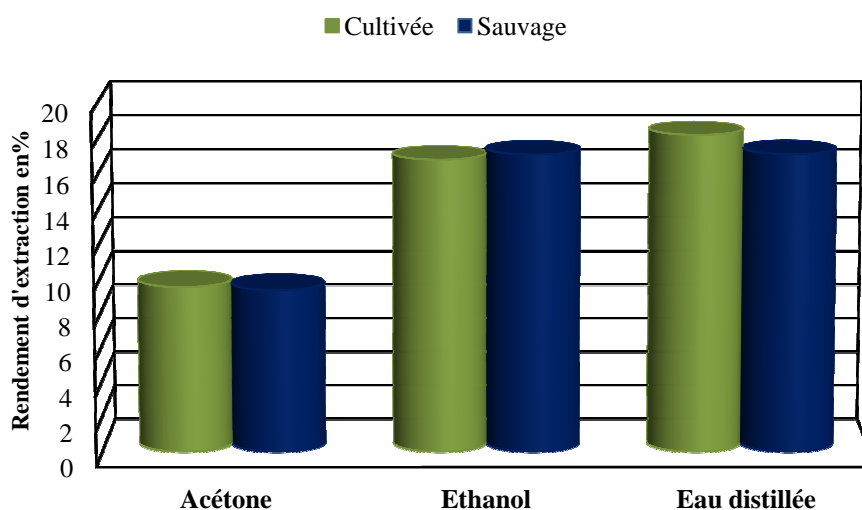


Figure 10: Rendements d'extraction des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. suivant le solvant.

D'après ces résultats, le rendement d'extraction est influencé par le type de solvant. L'acétone donne le rendement le plus faible (9,311% et 9,49%), par contre l'éthanol et l'eau distillée donnent des rendements proches (16,7-17,057% et 17,077-18,17% respectivement). Un rendement d'extraction élevé (39%) est obtenu avec le méthanol tamponné (80% méthanol et 20% de tampon phosphate) (Alzoreky et Nataha, 2003). Au contraire au type de solvant, le taux d'extraction varie peu entre les deux variétés de *Ruta chalepensis* (cultivée et sauvage).

Les rendements d'extraction obtenus par l'éthanol (16,764-17,057%) sont proches de ceux rapportés par Fakhfakh et al. (2012) utilisant l'extraction par le soxhlet (14,86% et 18,06%). Par contre nos résultats obtenus avec l'eau distillée sont supérieurs (17,077-18,17%) à ceux rapportés par ce dernier (9,27-11,85%). De même, un rendement d'extraction de 4% est obtenu par Alzoreky et Nakahara (2003) en utilisant l'acétone comme solvant. Ces résultats pourraient être attribuées à la différence de la méthode d'extraction qui peut influencer le taux d'extraction (Turkmen et al., 2006 ; Hayouni et al., 2007). En outre, des rendements d'extraction de 3,5% et 26% obtenus avec l'éthanol 96% ou 95% en utilisant le soxhlet ont été rapportés par Al-Said et al. (1990) et Acquaviva et al. (2011) respectivement. Ces variations de rendement pourraient être attribuées à certains facteurs comme le volume du solvant utilisé et la durée d'extraction (Turkmen et al., 2006).

III. Analyse phytochimique des extraits bruts

III.1. Résultats des tests phytochimiques

Les propriétés pharmacologiques de *Ruta chalepensis* L. sont surtout attribuées à la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins, des furocoumarines, des glycosides, des acides aminés, et des saponines (Ben Bnina et al., 2010 ; Acquaviva et al., 2011). Les résultats des tests phytochimiques des extraits sont représentés dans le tableau IX.

Tableau IX: Résultats des tests phytochimiques des extraits de *Ruta chalepensis* L.

Composés	Variété cultivée			Variété sauvage		
	Acétone	Ethanol	Eau distillée	Acétone	Ethanol	Eau distillée
-Flavonoïdes	+	+	+	+	++	+
-Tannins catéchiques	+	+	+	+	+	+
-Tannins galliques	+	+	+	+	+	+
-Coumarines	+	++	+	+++	+	+
-Stérols/ tri-terpènes	++	+	-	+	+	-
-Glycosides cardiotoniques	-	-	-	-	-	-
-Saponosides	+	+	+++	+	+	+++
-Alcaloïdes	+++	+++	-	+	+	-
-Protéines	-	-	-	-	-	-

+ : réaction faiblement positive, ++ : réaction moyennement positive, +++ : réaction franchement positive,

- : réaction négative (symbole mis en basant sur l'intensité de la couleur).

La présence ou l'absence de certains composés dans un extrait est fonction de leur solubilité dans le solvant d'extraction. D'après nos résultats, les flavonoïdes, les tannins (catéchiques et galliques), et les coumarines sont présents dans tous les extraits, mais à des proportions différentes, par contre les alcaloïdes, et les stérols sont présents dans les extraits éthanoliques et acétoniques et absents dans les extraits aqueux. Les alcaloïdes sont généralement insolubles dans l'eau ou faiblement solubles (Daniel, 2006) ce qui explique leur absence dans les extraits aqueux. Les saponosides ont des propriétés détergentes qui permettent la formation de la mousse. Ils sont présents en abondance dans les extraits aqueux et sont faiblement présents dans les autres extraits cela pourrait être dû au fait que ces composés sont essentiellement sous forme glycosylée (les sapogénines ne comportent pas une partie glucidique) ce qui les rend hydrosolubles (Hopkins, 2003). Les glycosides cardiotoniques et les protéines sont absents dans tous les extraits.

Une analyse phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta chalepensis* L. effectuée par **Al-Said et al. (1990)** a révélé la présence des tannins, des flavonoïdes, des coumarines, des alcaloïdes, des stérols/tri-terpènes, des saponines ce qui est en accord avec nos résultats obtenus avec l'extrait éthanolique. De même, les coumarines, les flavonoïdes, les stérols, et les alcaloïdes ont été mises en évidence dans l'extrait aqueux et/ou sa fraction méthanolique (**Vázquez-Cruz et al., 2010**).

III.2. Analyse chromatographique (CCM)

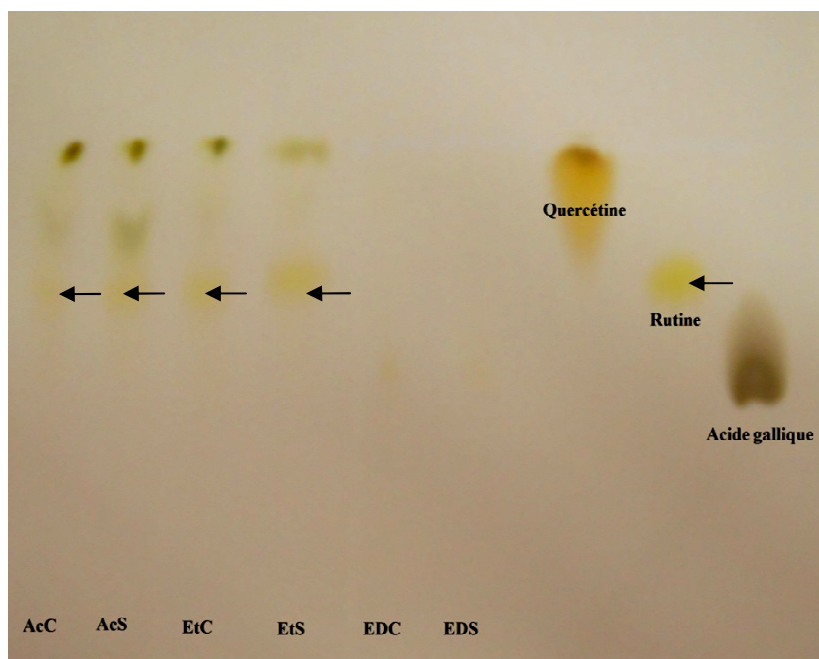
L'observation des plaques est réalisée à la lumière du jour sans ou avec réactifs et sous UV (302nm). Le FeCl_3 (5%) et l'acide sulfurique 40% dans le méthanol sont utilisés comme réactifs chimiques pour la révélation des composés phénoliques et terpéniques respectivement (**Abdel-Hameed, 2009**).

Le Système n-Butanol-Méthanol-Eau distillée donne 3 bandes visibles à la lumière du jour dans les extraits acétoniques et éthanoliques (Figure 11A). Le Tableau X donne les rapports frontaux des trois bandes et des standards. La première bande ($R_f = 0,64$) de couleur jaune a le même rapport frontal que la rutine ($R_f = 0,64$) et présente la même couleur. A l'observation des plaques sous UV ces bandes prennent une couleur sombre de même pour la rutine (Figure 11B) confirmant qu'il s'agit bien de la rutine. La quantification de la rutine dans l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* L. par HPLC réalisée par **Acquaviva et al. (2011)** a donné un pourcentage de 3,5%.

La quercétine de couleur jaune présente un rapport frontal ($R_f = 0,89$) identique à celle de la troisième bande de couleur jaune-verte (Figure 11A) qui peut contenir ce flavonoïde.

Après pulvérisation avec une solution de FeCl_3 à 5%, les standards et les bandes 1 ($R_f = 0,64$) et 3 ($R_f = 0,89$) (observation dans le visible) prennent une couleur noir en raison de la présence des polyphénols avec plus de deux groupements hydroxyles (**Meot-Duros et Magné, 2009**).

Les bandes 1 fluorescentes ($R_f = 0,08-0,17$) de système n- Butanol-Méthanol-Eau distillée pourraient correspondre aux furocoumarines (**Harborne, 1992**).



(A)

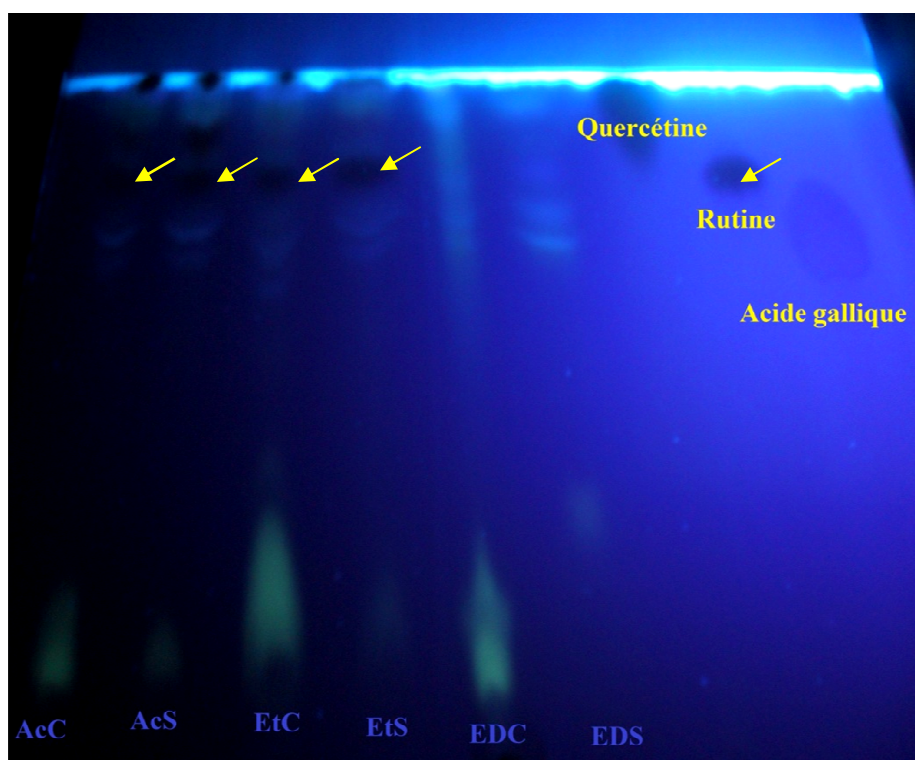


Figure 11: Chromatogramme du système n-Butanol-Méthanol-Eau distillée: 5:1:1.
A: observation dans le visible. **B :** observation sous UV à 203nm. Et : Extrait éthanolique, Ac: Extrait Acétonique, ED: Extrait aqueux, C: Variété cultivée, S: Variété sauvage,

Tableau X: Rapports frontaux (R_f) des bandes obtenues dans le système n-Butanol-Méthanol-Eau distillée : 5 :1 :1.

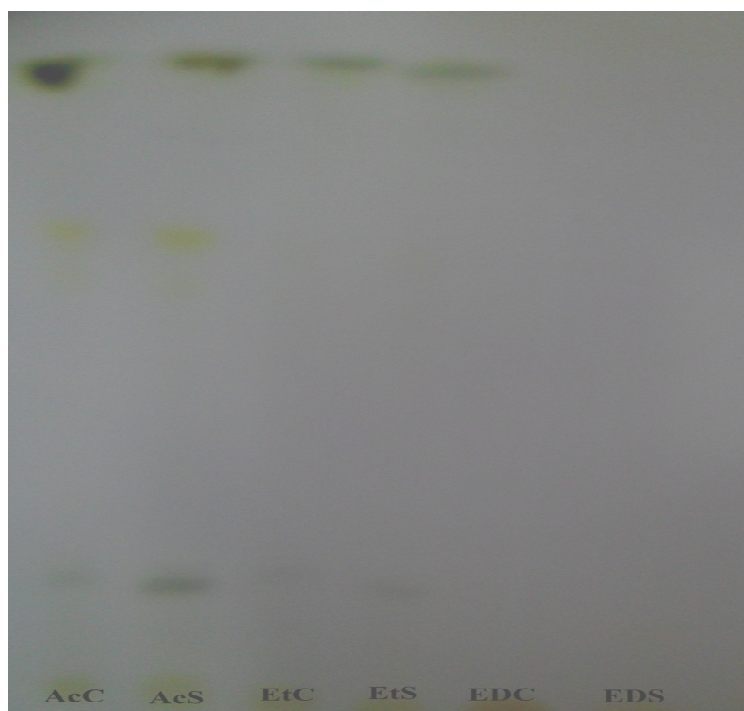
Bandes/Extrait	Observation dans le visible					
	Variété cultivée			Variété sauvage		
	Ac	Et	ED	Ac	Et	ED
1**	0,64	0,64	-	0,64	0,64	-
2*	0,89	0,89	-	0,89	0,89	-
3	0,75	-	-	0,75	-	-
Observation sous UV (203nm)						
1	0,08	0,17	0,17	0,08	0,11	0,16
2	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
3	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
4**	0,64	0,64	-	0,64	0,64	-
5*	0,89	0,89	-	0,89	0,89	-
Standards (observation dans le visible et sous UV)						
Quercétine*		Rutine**		Acide gallique		
0,89		0,64		0,45		

Ac: Extrait Acétonique, **Et:** Extrait Ethanolique, **ED:** Extrait Aqueux. * : la quercétine est probablement présente dans les extraits éthanoliques et acétoniques, ** : la rutine est présente dans les extraits éthanoliques et acétoniques.

L'analyse chromatographique est également réalisée en utilisant le système Dichlorométhane-Méthanol: 19:1 qui a fournit les chromatogrammes représentés dans la figure 12. Les rapports frontaux des bandes obtenues sont représentés dans le tableau XI.

L'observation dans le visible a permet de visualiser trois bandes au niveau des extraits acétoniques et uniquement deux bandes au niveau des extraits éthanoliques (figure 12A). Par contre, aucune bande n'est observée au niveau des extraits aqueux. Les standards utilisés (rutine, quercétine, et acide gallique) n'ont pas migré.

L'observation sous UV (203nm) permet de constater plusieurs bandes de couleurs ou fluorescences différentes (figure 12B) correspondants à différents composés.



(A)

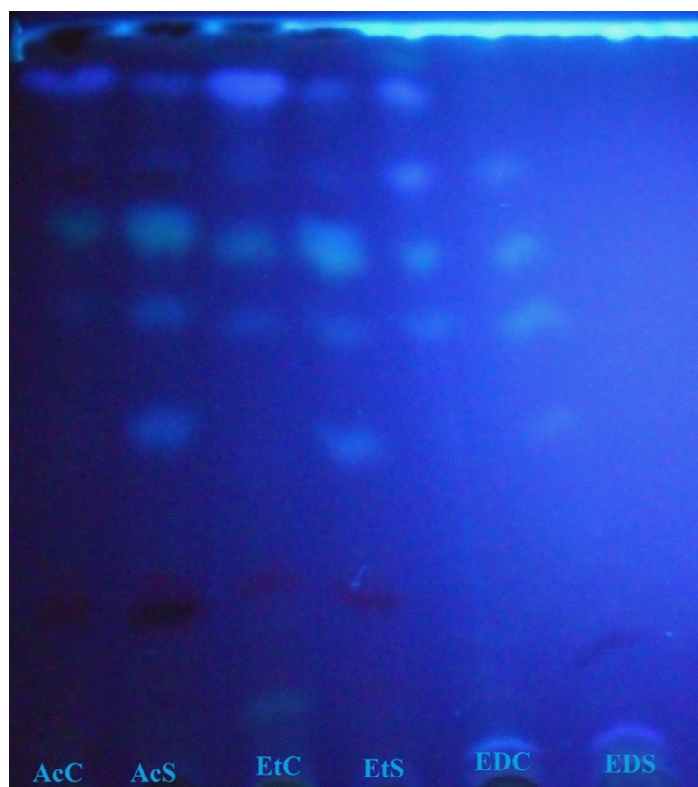


Figure 12: Chromatogramme du système Dichlorométhane-Méthanol: 19:1. **A** : Observation dans le visible, **B** : Observation sous UV (203nm). **Ac**: Extrait acétonique, **Et**: extrait éthanolique, **ED**: Extrait aqueux, **C** et **S** désignent la variété cultivée et sauvage respectivement.

Après pulvérisation avec l'acide sulfurique à 40% dans le méthanol les bandes N° 1 ($R_f=0,17-0,18$) prennent une couleur bleu-verte cela indique qu'elles peuvent correspondre aux tri-terpènes (Khan *et al.*, 2011). Sous UV ces bandes apparaissent en rouge-rose, absentes dans les extraits aqueux.

Les bandes présentant une fluorescence jaune ($R_f= 0,56-0,57$) pourraient correspondre aux furocoumarines et celles avec une fluorescence bleue ($R_f=0,74-0,78$) pourraient correspondre aux coumarines (Harborne, 1992).

On constate également l'absence de la bande N°2 ($R_f= 0,4-0,44$) (observation sous UV) dans les extraits de *Ruta chalepensis* cultivée ce qui peut constituer une caractéristique chimique permettant de distinguer les deux variétés.

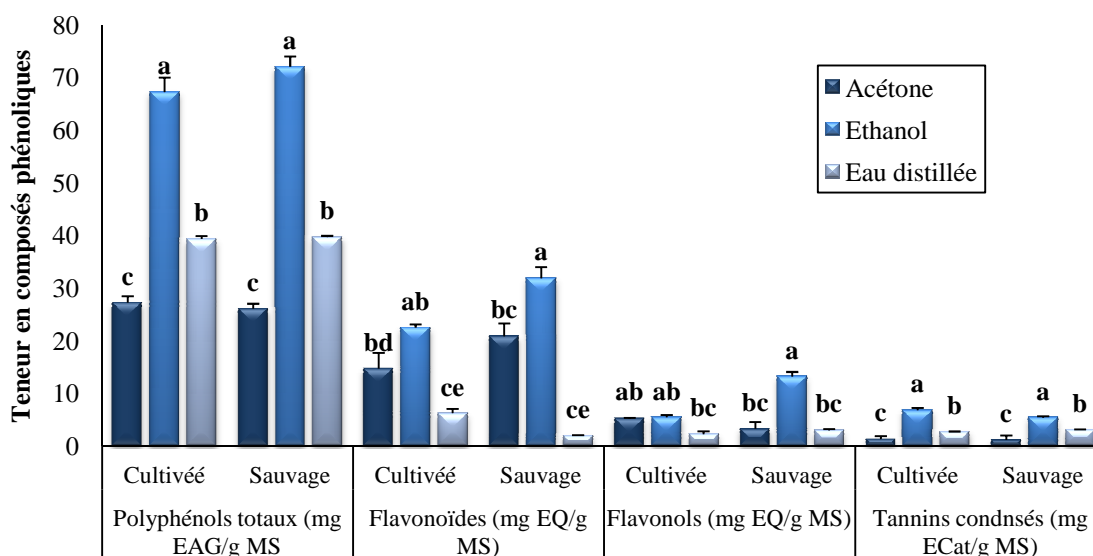
Tableau XI: Rapports frontaux (R_f) des bandes obtenues dans le système Dichlorométhane-Méthanol : 19 :1.

Bande/Extrait	Observation dans la visible					
	Variété cultivée			Variété sauvage		
	Ac	Et	ED	Ac	Et	ED
1	0,17	0,18	-	0,17	0,18	-
2	0,6	-	-	0,6	-	-
3	0,88	0,9	-	0,9	0,9	-
Observation sous UV						
1	0,2	0,23	-	0,21	0,16	-
2	-	-	-	0,43	0,4	0,44
3	0,57	0,56	0,57	0,57	0,56	0,57
4	0,69	0,65	0,65	0,69	0,65	0,65
5	0,73	-	-	0,73	-	-
6	0,78	0,74	0,76	0,76	0,74	0,76
7	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
8	0,95	0,96	-	0,96	0,96	-

Ac: Extrait Aétonique, Et: Extrait Ethanolique, ED: Extrait Aqueux.

III.3. Teneurs en composés phénoliques

Les polyphénols, et en particulier les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tannins condensés sont considérés comme des agents à potentiel antioxydant important et qui exercent de plus une activité antimicrobienne (Heim *et al.*, 2002 ; Zhang et Line, 2008). La figure 13 ci-après donne les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, et en tannins condensés des extraits des de *Ruta chalepensis* L.



Les barres verticales indiquent les écarts types, les barres portant les mêmes lettres indiquent une différence non significative à $p \leq 0,05$.

Figure 13: Résultats du dosage des différentes classes de polyphénols dans les deux variétés de *Ruta chalepensis* L.

La teneur en polyphénols totaux varie de $26,095 \pm 0,94$ à $72,085 \pm 1,944$ mg EAG/g MS correspondant respectivement à l'extrait acétonique et éthanolique de *Ruta chalepensis* sauvage. On constate que la teneur est très variable selon le solvant d'extraction utilisé (existence d'une différence significative $p \leq 0,05$) et peu variable selon la variété (absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$)).

L'éthanol donne les valeurs les plus élevées ($65,34 \pm 2,73$ et $72,085 \pm 1,94$ mg EAG/g MS respectivement pour la variété cultivée et la variété sauvage et les teneurs les plus faibles sont enregistrés avec l'acétone ($26,095 \pm 0,94$ et $27,245 \pm 1,21$ mg EAG/g MS).

La teneur en flavonoïdes exprimée en mg équivalent quercétine/g de la matière sèche (mg EQ/g MS) présente une différence selon les solvants utilisés et la variété. Les extraits aqueux et éthanolique de *Ruta chalepensis* sauvage donnent les valeurs minimale et maximale respectivement ($1,96 \pm 0,13$ et $31,9 \pm 2,12$ mg EQ/g MS). L'éthanol donne toujours les teneurs les plus élevées ($31,9 \pm 2,12$ et $22,535 \pm 0,57$ mg EQ/g MS respectivement pour la variété sauvage et cultivée). L'extrait aqueux comporte les teneurs les plus faibles en flavonoïdes ($1,96 \pm 0,13$ mg EQ/ g MS pour la variété sauvage et $6,245 \pm 0,79$ mg EQ/ g MS pour la variété cultivée). L'analyse statistique montre l'existence d'une différence significative entre les solvants et entre les deux variétés de la plante ($p \leq 0,05$).

La teneur la plus élevée en flavonols a été enregistrée avec l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* sauvage ($13,22 \pm 0,86$ mg EQ/g MS). Les teneurs les plus faibles ont été obtenues avec les extraits aqueux des deux variétés de la plante ($2,29 \pm 0,49$ et $3,005 \pm 0,25$ mg EQ/g MS) et l'extrait acétonique de la variété sauvage ($3,29 \pm 1,26$ mg EQ /g MS) qui ne présentent pas une différence significative ($p \leq 0,05$), alors que la teneur de l'extrait acétonique de la variété cultivée ($5,46 \pm 0,46$ mg EQ/g MS) ne présente aucune différence significative avec celle de l'extrait éthanolique de la même variété ($5,29 \pm 0,08$ mg EQ/g MS).

Les tannins condensés présentent une distribution similaire à celle des polyphénols totaux ; les deux variétés (cultivée et sauvage) ne présentent pas une différence significative, par contre la teneur en tannins condensés varie significativement selon le solvant. Les extraits éthanoliques en sont les plus riches ($6,81 \pm 0,44$ et $3,155 \pm 0,2$ mg ECat/g MS pour *Ruta chalepensis* sauvage et cultivée respectivement) et les extraits acétoniques en sont les plus pauvres ($1,35 \pm 0,014$ et $2,74 \pm 0,04$ mg ECat/g MS). Les extraits aqueux donnent des teneurs de $2,74 \pm 0,04$ à $3,15 \pm 0,014$ ECat/ g MS).

Les teneurs en composés phénoliques de l'extrait éthanolique et méthanolique de *Ruta chalepensis* L. poussant en Tunisie ont été rapportées par **Fakhfakh et al. (2012)** et **Khelifi et al. (2013)**:

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits éthanoliques de *Ruta chalepensis* L. récoltée en deux sites différents de Tunisie sont respectivement de $8,04 \pm 1,42$ - $12,14 \pm 2,75$ mg EAG/g MS et $51,61 \pm 7,95$ - $67,67 \pm 5,53$ mg EQ/ g MS et celles des extraits aqueux sont de $14,02 \pm 4,9$ - $17,67 \pm 4,93$ mg EAG/g MS et $8,07 \pm 3,22$ - $71, 8,51 \pm 4,97$ mg EQ/g MS (**Fakhfakh et al., 2012**). Les teneurs en polyphénols totaux de nos extraits sont plus élevées que celles rapportées par ce dernier. Ceci pourrait être attribué à la différence de la période de récolte

et le climat qui peuvent influencer la composition chimique des végétaux (**Miliauskas et al., 2004**). De plus, l'utilisation de l'eau distillée bouillante dans notre travail peut être à l'origine de la teneur élevée en polyphénols totaux ($39,32 \pm 0,56$ - $38,71 \pm 0,22$ EAG/g MS) par rapport à celles obtenues par **Fakhfakh et al. (2012)** ce qui est en accord avec l'étude de **Katalinic et al. (2006)** qui ont démontré l'augmentation de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux ainsi que son activité antioxydants avec l'élévation de la température (20°C et 98°C).

La teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tannins condensés, et en anthocyanines de l'extrait méthanolique, obtenue par extraction au soxhlet ont été également rapportées. La teneur en polyphénols est de $58,17 \pm 2,43$ mg EAG/g MS, celle des flavonoïdes est de $12,78 \pm 0,08$ mg EQ/ g MS, les tannins condensés ont une teneur de $4,73 \pm 0,14$ mg ECat/g MS, et les anthocyanines possèdent un taux de $413,29 \pm 3,40$ mg Equivalent cyanidin-3-glucoside (EC3G)/ Kg MS (**Khelifi et al., 2013**).

Des teneurs en polyphénols de *Ruta montana* L. et *Ruta graveolens* L. poussant en Algérie ont été rapportées. L'extrait éthanolique de *Ruta montana* L. montre une teneur en polyphénols totaux de $3,13 \pm 0,3$ mg EAG/g MS et une teneur en flavonoïdes de $1,62 \pm 0,4$ mg d'équivalent rutine par g de la matière sèche (ER/g MS) (**Djeridane et al., 2006**). La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens* L. est estimée à $4,18$ mg EAG/g MS et celle des flavonoïdes à 2 mg ER/ g MS (**Djeridane et al., 2010**). Ces résultats sont plus faibles que ceux obtenus dans notre étude. En effet, le procédé d'extraction effectué dans ces deux travaux, a conduit à l'élimination d'une grande partie de composés pouvant interférer avec le dosage des polyphénols en raison de manque de la spécificité du réactif Folin-Ciocalteu qui peut être réduit par d'autres substances que les polyphénols (**Wong et al., 2006**). Cela pourrait être à l'origine de cette différence en plus de la différence de l'espèce.

IV. Activité antioxydants

L'activité antioxydants des composés est attribuée à divers mécanismes d'action, parmi eux, la capacité réductrice, la fixation des ions métalliques de transition (catalyseurs), la décomposition des peroxydes, et l'activité scavenger (**Gülçin et al., 2004**). De plus, la capacité antioxydante des extraits végétaux est largement influencée par la composition des extraits et les conditions de la réalisation du test. Pour cette raison, il est nécessaire d'effectuer plus d'une mesure de l'activité antioxydants afin de prendre en considération les différents mécanismes d'action (**Li et al., 2008**). Dans ce travail, trois mécanismes d'action ont été étudiés ; l'activité scavenger du DPPH° et de l'ABTS^{°+}, le pouvoir réducteur, et la chélation du fer.

IV.1. Activité scavenger (Activité anti-radicalaire)

IV.1.1. Activité scavenger du radical DPPH°

Le radical organique DPPH° est largement utilisé pour la détermination de l'activité anti-radicalaire des composés isolés ou des extraits (Katalinic et al., 2006). Ce test détermine la capacité des extraits à piéger l'électron impair de ce radical qui se traduit par la transformation de la couleur pourpre en jaune (Jayaprashka et al., 2008).

La capacité des extraits des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. et des standards à piéger ce radical est représentée sous forme de courbes du pourcentage d'inhibition (Figure 14) qui montre que l'inhibition du radical DPPH° est proportionnelle à la concentration de l'extrait.

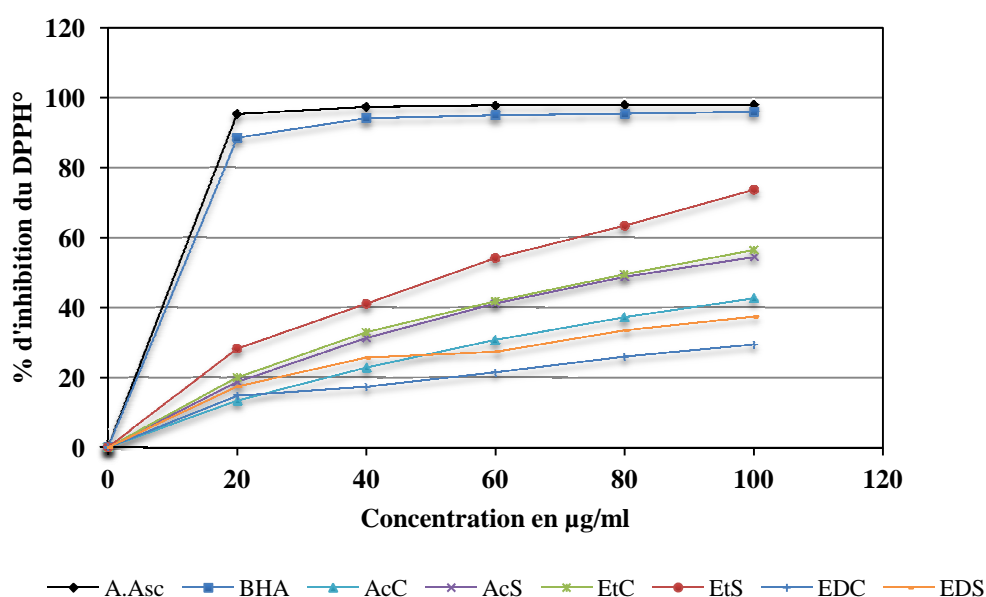


Figure 14: Inhibition du radical DPPH° par les différents extraits des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. et les standards. **A.Asc:** Acide ascorbique, **BHA:** Butylhydroxyanisol, **Ac:** Extrait acétonique, **Et:** Extrait éthanolique **ED:** Extrait aqueux. Les lettres **C** et **S** désignent les deux variétés cultivée et sauvage respectivement.

L'acide ascorbique (A.Asc) et le Butylhydroxyanisol (BHA) présentent des pourcentages d'inhibition très importants par rapport aux extraits. L'extrait éthanolique de la variété sauvage (EtS) montre l'activité anti-radicalaire la plus prononcée qui présente avec un pourcentage d'inhibition de $73,625 \pm 0,29\%$ à $100 \mu\text{g/ml}$.

La classification des échantillons suivant leur pourcentage d'inhibition à 100µg/ml est comme suit : A.Asc>BHA>EtS>EtC≈AcS>AcC>EDS>EDC avec des pourcentages d'inhibition de 97,92±0,056%, 95,92±0,06%, 73,625±0,29%, 56,42±0,34%, 54,435±1,47%, 42,625±0,29%, 37,345±0,49%, 29,38±0,15% où le symbole ≈ indique l'absence d'une différence significative (p≤ 0,05).

L'activité scavenger du radical DPPH° exprimée en termes d'IC50 donne les résultats présentés dans le tableau XII. L'IC50 ou la concentration inhibitrice à 50% désigne la concentration d'un extrait ou d'un composé permettant la diminution de l'absorbance ou de la concentration de la solution de DPPH° à la moitié de sa valeur initiale (Erkan et al., 2008). Plus l'IC50 est faible plus l'extrait ou le composé est efficace.

Tableau XII: Valeurs d'IC50 des extraits et des standards obtenues avec le DPPH

Echantillon	IC50 (µg/ml)
A.Asc	4,24 ± 0,028 ^d
BHA	5,69 ± 0,22 ^c
AcC	>100
AcS	83,95 ± 3,15 ^a
EtC	79,54 ± 0,78 ^a
EtS	51,18 ± 1,14 ^b
EDC	>100
EDS	>100

Les valeurs portant des lettres identiques ne montrent pas une différence significative et celles portant des lettres différentes sont significativement différentes (p≤0,05).

D'après le tableau XII, les standards sont plus efficaces possédant des IC50 plus faibles (4,24±0,028 µg/ml pour l'acide ascorbique et 5,69±0,22 µg/ml pour la BHA) que celles des extraits de *Ruta chalepensis* L. On constate que les extraits de la variété sauvage exercent une activité scavenger vis-à-vis du DPPH° plus importante que les extraits correspondants de la variété cultivée. Les extraits éthanoliques étant les plus puissants parmi les autres extraits (51,18±1,14 et 79,54±0,78 µg/ml). Ces valeurs sont proches de celle de l'extrait méthanolique obtenu par Khlifi et al. (2013) (70,01±. 2,11) et plus faibles de celle de l'extrait éthanolique rapportée par Fakhfakh et al. (2012) (220µg/ml). Les extraits aqueux ont des IC50 supérieures à 100µg/ml qui montrent des pourcentages d'inhibition inférieurs à 50% à cette concentration.

IV.1.2. Activité scavenger du radical ABTS^{°+}

L'activité scavenger des extraits est également étudiée en utilisant l'ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium pour donner le radical ABTS^{°+}. La génération du radical avant l'ajout des extraits est nécessaire afin d'éviter l'interférence des composés dans la formation du radical ce qui conduit à une surestimation de la capacité antioxydante (**Katalinic et al., 2006**).

L'ajout des extraits et le BHA entraîne une dé-colorisation de la solution d'ABTS^{°+} indiquant l'existence d'une activité scavenger des échantillons. L'inhibition de l'ABTS^{°+} par les extraits et le BHA est présentée dans la figure 15.

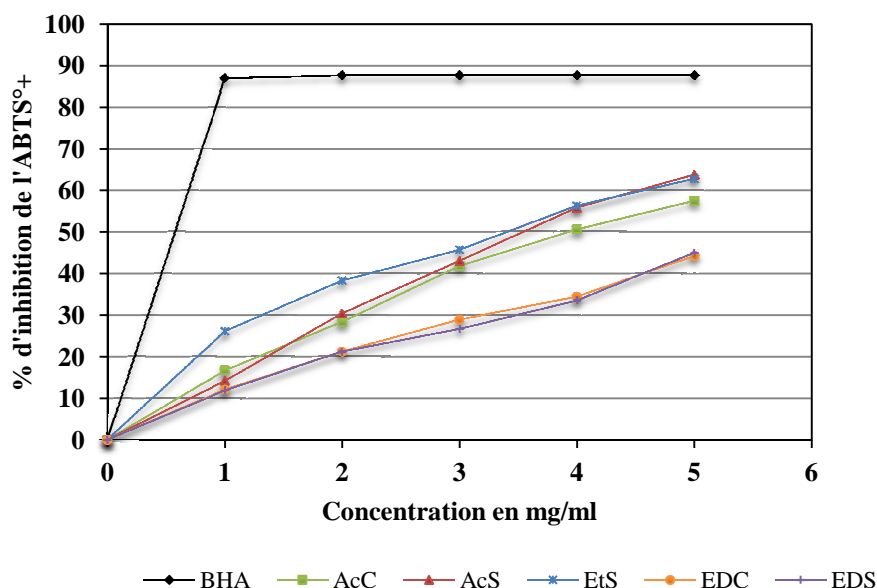


Figure 15: Courbes d'inhibition de l'ABTS^{°+} par les extraits de *Ruta chalepensis* L. et par le BHA. BHA: Butylhydroxyanisole, Ac: Extrait acétonique, Et: Extrait éthanolique ED: Extrait aqueux. Les lettres C et S désignent les deux variétés cultivée et sauvage respectivement.

Les résultats obtenus diffèrent légèrement de ceux obtenus avec le DPPH. L'activité scavenger du radical ABTS^{°+} par les extraits est inférieure à celle du BHA. Les pourcentages d'inhibition à la concentration de 5mg/ml sont par ordre croissant comme suit : $44,94 \pm 0,68\% \approx 44,205 \pm 3,92\% < 57,45 \pm 1,03\% \approx 59,645 \pm 1,48\% \approx 62,7 \pm 1,04\% \approx 63,715 \pm 2,42\% < 87,59 \pm 0,1\%$ correspondant respectivement aux échantillons : EDS, EDC, AcC, EtC, EtS, AcS, et BHA.

Les valeurs d'IC50 figurées dans le tableau XIII sont seulement déterminées pour les extraits acétoniques et éthanoliques qui présentent des inhibitions supérieures à 50%. L'extrait éthanolique de la variété sauvage est le plus efficace et réduit la concentration du radical ABTS^{°+} de 50% à une concentration de $3,13 \pm 0,002$ mg/ml. Par contre les IC50 de l'extrait éthanolique de la variété cultivée et les extraits acétoniques ne sont pas différentes (différence non significative à $p \leq 0,05$).

Tableau XIII: Valeurs d'IC50 des extraits et du BHA obtenues avec l'ABTS.

Echantillon	IC50 (mg/ml)
BHA	$0,55 \pm 0,42^c$
AcC	$3,95 \pm 0,14^a$
AcS	$3,8 \pm 0,46^a$
EtC	$3,78 \pm 0,1^a$
EtS	$3,13 \pm 0,002^b$
EDC	>5
EDS	>5

Les valeurs portant des lettres identiques ne présentent aucune différence significative, et celles qui portent des lettres différentes sont significativement différentes ($p \leq 0,05$)

IV.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est généralement utilisé comme indicateur de la donation des électrons (Shon *et al.*, 2003 ; Wang *et al.*, 2008) qui constitue un mécanisme important des antioxydants permettant la réduction des composés oxydés. Cette réduction permet la régénération des antioxydants oxydés (Ksouri *et al.*, 2009).

La capacité de nos extraits et des standards à réduire le fer ferrique du ferrocyanure de fer est représentée dans les figures 16 et 17. L'absorbance à 700nm augmente avec la concentration des extraits indiquant l'existence de composés capables de donner des électrons.

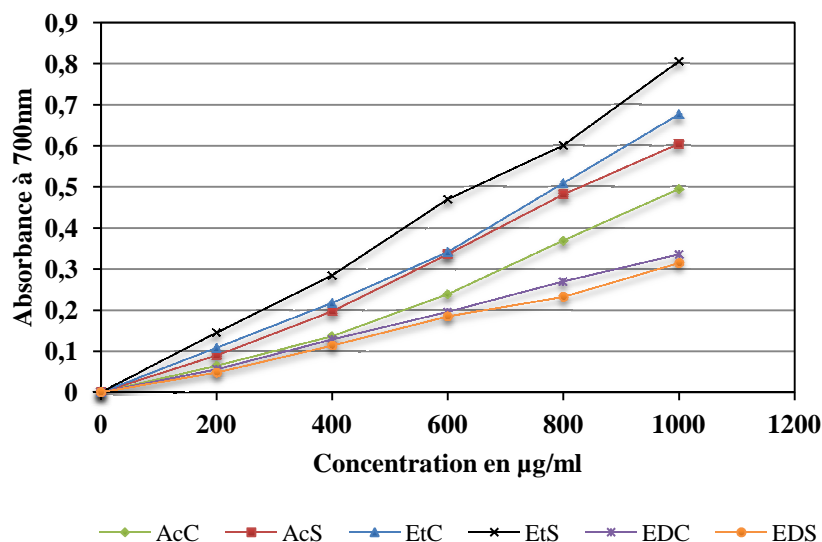


Figure 16: Pouvoir réducteur des extraits de *Ruta chalepensis* L. **Ac:** Extrait acétonique, **Et:** Extrait éthanolique, **ED:** Extrait aqueux. Les lettres **C** et **S** désignent la variété cultivée et sauvage respectivement.

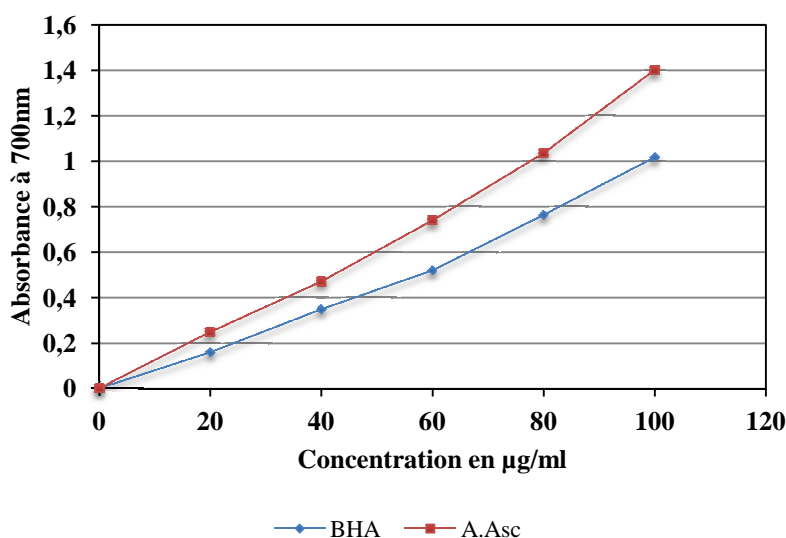


Figure 17: Pouvoir réducteur des standards : **BHA** : Butylhydroxyanisol, **A.Asc** : Acide ascorbique.

Le pouvoir réducteur exercé par les standards est plus important que celui des extraits à des concentrations dix fois plus faibles. L'acide ascorbique présente le pouvoir réducteur le plus puissant correspondant à une absorbance de $1,4 \pm 0,03$ à la concentration de $0,1 \text{ mg/ml}$. Le BHA est moins puissant que l'acide ascorbique et présente une absorbance de $1,015 \pm 0,04$ à la même concentration.

Les absorbances des extraits à la concentration 1mg/ml sont classés par ordre décroissant suivant : $0,805 \pm 0,12 > 0,67 \pm 0,009 > 0,604 \pm 0,018 > 0,494 \pm 0,001 > 0,335 \pm 0,03 \approx 0,314 \pm 0,001$ correspondant respectivement aux extrais EtS, EtC, AcS, AcC, EDC, EDS.

Les extraits éthanoliques montrent le pouvoir réducteur le plus important parmi les autres extraits. Ces derniers ont donné les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins condensés qui peuvent constituer des agents réducteurs. D'autre part, les extraits acétoniques exercent également un pouvoir réducteur important supérieur à celui des extraits aqueux. Ces derniers ont donné des teneurs en polyphénols totaux et en tannins condensés supérieures à celles des extraits acétoniques mais des teneurs en flavonoïdes plus faibles de ces derniers. On peut conclure de ces résultats que l'existence des autres composés dans les extraits acétoniques peut intervenir dans le don des électrons, et que les flavonoïdes pourraient être les composés phénoliques qui assurent la grande partie de leur pouvoir réducteur.

IV.3. Chélation du fer

La chélation de Fe^{2+} est importante en retardant l'oxydation, limitant la peroxydation des lipides, et protégeant contre les dommages oxydatifs causés par le radical OH° généré via la réaction de Fenton dont le Fe^{2+} joue un rôle de catalyseur (**Gülçin et al., 2010b**).

Le pouvoir chélateur des extraits et de l'EDTA est exprimé en % d'inhibition de la formation d'un complexe entre la ferrozine et le fer ferreux de chlorure de fer (FeCl_2). Les courbes d'inhibition sont représentées dans la figure 18.

Les résultats obtenus indiquent la présence dans les extraits de composés qui séquestrent le Fe^{2+} se traduisant par l'apparition d'une couleur rouge moins intense par rapport au contrôle sans échantillon. Cette diminution est proportionnelle à la concentration des échantillons.

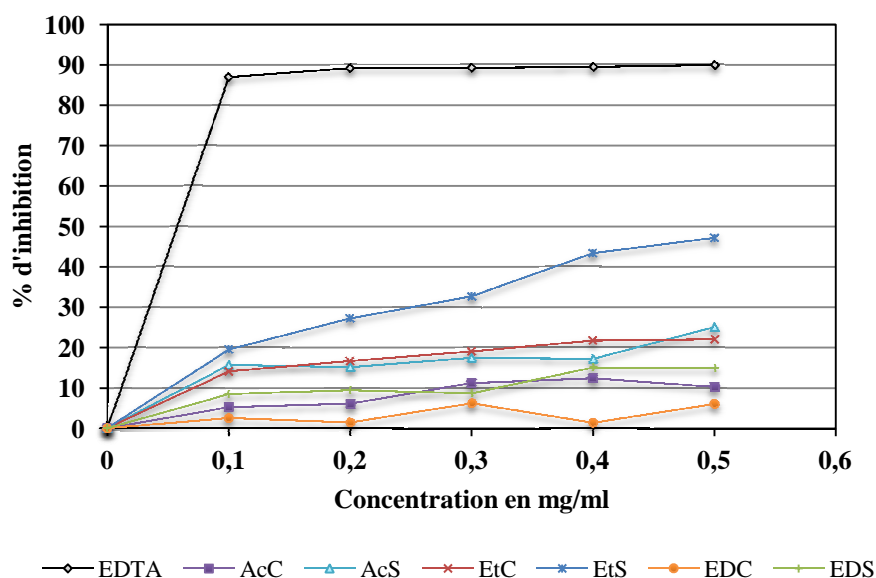


Figure 18: Pouvoir chélateur des extraits de *Ruta chalepensis* L. et l'EDTA. EDTA : Ethylènediaminetétraacétique, Ac : extrait acétonique, Et : Extrait éthanolique, ED: Extrait aqueux. Les lettres C et S désignent la variété cultivée et sauvage respectivement.

La figure 18 montre que les extraits ont des taux d'inhibition très faibles par rapport au standard EDTA qui présente un pourcentage d'inhibition de 89,88%. L'extrait éthanolique de la variété sauvage montre une inhibition très forte par rapport aux autres extraits, par contre l'extrait aqueux de la variété cultivée exerce le pouvoir chélateur le plus faible.

L'EDTA présente une IC₅₀ de 24, 83µg/ml, alors que tous les extraits montrent une inhibition inférieure à 50%. Les extraits peuvent être classés par ordre croissant selon leur pourcentage d'inhibition à la concentration de 0,5mg/ml comme suit : EDC≈AcS≈EDS<EtC≈AcC<EtS avec des pourcentages d'inhibition de 6,035±1,096%, 10,18±3,09, 14,93±0,077, 22,03±0,75%, 25±1,89%, 47,1±2,05% respectivement.

La présence des différents composés dans les extraits peut être à l'origine de ces résultats. On constate que les résultats sont très proches pour la plupart des extraits (absence d'une différence significative à $p \leq 0,05$). L'extrait éthanolique de la variété sauvage a donné des teneurs élevées en polyphénols totaux et est le plus riche en flavonols qui constituent de puissants agents chélateurs (Perron et Brumaghim, 2009). Les flavones comme la rutine présente dans les extraits acétonique et éthanolique sont également considérés comme des agents chélateurs (Cillard et Cillard, 2006).

V. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydants

Les polyphénols constituent la classe la plus importante d'antioxydants naturels présents dans les plantes et exercent une activité antioxydants selon plusieurs mécanismes, incluant l'activité scavenger des espèces réactives de l'oxygène, et la chélation des ions de transition (Kannat *et al.*, 2007 ; Gulçin *et al.*, 2010a).

Les extraits des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. contiennent non seulement des polyphénols, mais également des composés terpéniques et des alcaloïdes. L'établissement d'une corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydants permet de déduire si cette dernière est due seulement aux composés phénoliques ou à la présence des autres composés.

Les coefficients de corrélation de Pearson « r » entre les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante sont donnés dans le tableau XIV.

Tableau XIV: Coefficients de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydants

Composés phénoliques	Coefficient de corrélation de Pearson « r »			
	DPPH	ABTS	PR	PC
Polyphénols Totaux	0,65	0,25	0,4	0,66
Flavonoïdes	0,95	0,91	0,94	0,85
Flavonols	0,85	0,57	0,79	0,87
Tannins Condensés	0,5	0,17	0,26	0,51

PR : Pouvoir réducteur, PC: Pouvoir chélateur.

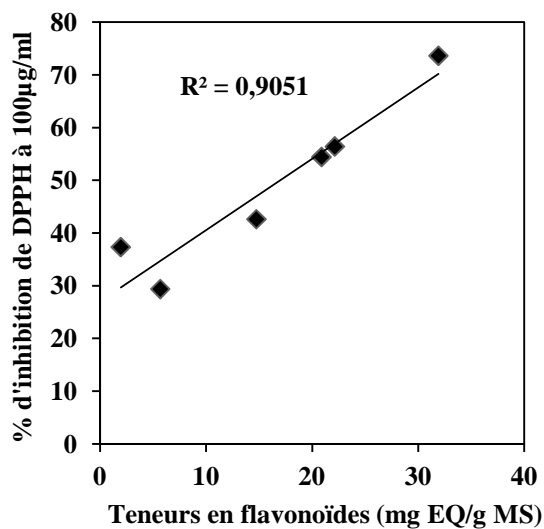
D'après le tableau XIV, les polyphénols contribuent plus ou moins dans l'activité antioxydants dépendant du mécanisme exercé.

Selon le tableau XIV la corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydants déterminée par le DPPH, l'ABTS, le pouvoir réducteur, et la chélation du fer est non significative ($p \leq 0,05$) ce qui indique la contribution d'autres constituants des extraits dans cette activité.

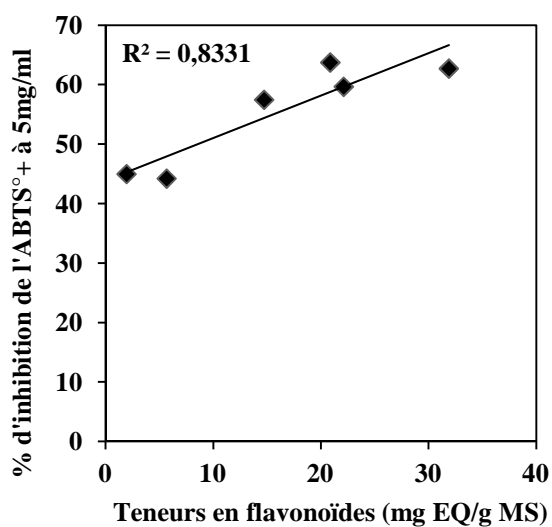
Tous les tests antioxydants présentent des coefficients de corrélation significatifs ($p \leq 0,05$) avec les teneurs en flavonoïdes. Ces derniers sont connus pour leur puissante activité anti-radicalaire contre un grand nombre des radicaux libres comme le peroxy-nitrite, l'anion superoxyde, et le radical hydroxyle. Ils sont en outre capables de séquestrer les ions de transition (Cos et al., 1998 ; Svobodová et al., 2003 ; Wong et al., 2006), et de réduire les radicaux de l' α -tocophérol (Heim et al., 2002). Les flavanols, les flavonols, les flavones, et les anthocyanines sont les flavonoïdes qui possèdent l'activité antioxydants la plus puissante (Matkowski, 2008). La figure 19 montre la corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité antioxydants réalisée par régression linéaire sur EXEL.

Une corrélation significative ($p \leq 0,05$) est obtenue entre les flavonols et le DPPH ($r=0,87$) et le pouvoir chélateur ($r=0,85$), et non significative ($p \leq 0,05$) entre les teneurs en flavonols et l'ABTS ($r=0,57$) et le pouvoir réducteur ($r=0,79$). L'analyse chromatographique (CCM) des extraits de *Ruta chalepensis* L. a mis en évidence la présence de la rutine (flavone) et probablement de la quercétine (flavonol) au niveau des extraits acétonique et éthanolique. La rutine est un puissant agent anti-radicalaire (Nijveldt et al., 2004) qui montre une activité scavenger puissante contre un certains nombre de radicaux libres (Mbaebie et al., 2012). La quercétine et la rutine sont également capables de former des complexes avec le Fe^{2+} mais avec des proportions différentes : la quercétine chélate le Fe^{2+} avec une proportion 1:2 et une formule $[Fe_2(Q)(H_2O)_8]Cl_2$ par contre la rutine chélate le fer avec une proportion 2 :3 et une formule $[Fe_3(Rut)_2(H_2O)_{12}]Cl_2$ (Perron et Brumaghim, 2009).

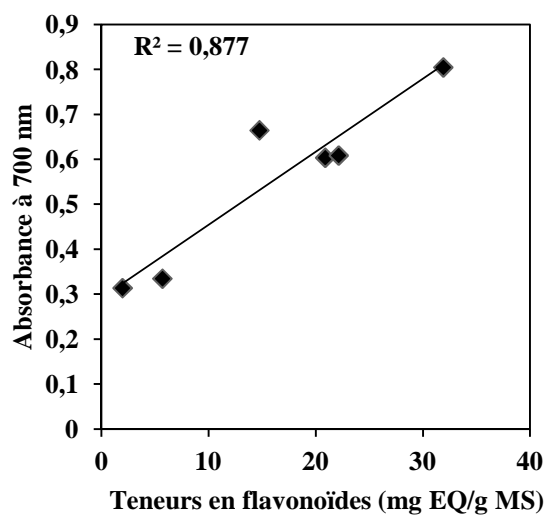
La corrélation entre l'activité antioxydants et les teneurs en tannins condensés n'est pas significative ($p \leq 0,05$) indiquant leur faible contribution à l'activité antioxydante. Les tannins hydrolysables (tannins galliques) sont également présents dans les extraits et contribuent ainsi à l'activité antioxydants. Il a été établi que l'acide tannique présente un fort pouvoir chélateur de Fe^{2+} avec un pourcentage d'inhibition de $66,8 \pm 6,2\%$ à une concentration de $15 \mu g/ml$ (Gulçin et al., 2010b).



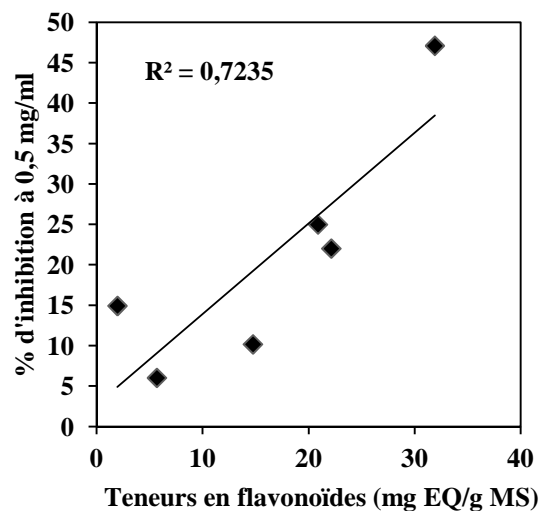
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 19: Corrélations entre les teneurs en flavonoïdes des extraits et l'activité antioxydants.

(a): Activité scavenger du DPPH, (b): Activité scavenger de l'ABTS, (c): Pouvoir réducteur, (d): Chélation du fer.

VI. Activité antimicrobienne

VI.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été testée avec les différents extraits des deux variétés de *Ruta chalepensis* L. Les résultats de l'activité antibactérienne obtenus avec les différents extraits et l'antibiotique de référence (Gentamicine) sont représentés dans le tableau XV.

Tableau XV: Activité antibactérienne des extraits de *Ruta chalepensis* L. et de la Gentamicine.

Souche	Concentration des extraits	Diamètre des zones d'inhibition en mm						
		Extraits						Antibiotique
		Variété cultivée			Variété sauvage			Gentamicine (1mg/ml)
		Acétone	Ethanol	ED	Acétone	Ethanol	ED	
<i>E.coli</i>	10mg/ml	00	7,00±1,41	00	00	7,00±00	00	27,00
	30mg/ml	10,00±00	8,50±0,7	00	8,00±0,00	11,00±00	00	
	50mg/ml	10,5±0,7	8,00±00	00	7,00±0,00	11,5±0,7	00	
<i>P.aeruginosa</i>	10mg/ml	14,00±00	00	00	9,50±0,7	9,00±00	00	33,00
	30mg/ml	11,50±0,7	8,00±1,41	00	13,00±1,41	9,00±00	00	
	50mg/ml	15,00±00	11,50±0,7	00	13,00±00	9,50±0,7	00	
<i>S.aureus</i>	10mg/ml	00	8,50±0,7	00	8,00±1,41	8,50±0,7	00	40,00
	30mg/ml	12,00±00	5,50±0,7	00	11,00±00	9,00±00	00	
	50mg/ml	15,00±1,41	9,00±00	00	10,5±0,7	9,00±00	00	

E.coli: *Escherichia coli*, *P.aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*, *S.aureus*: *Staphylococcus aureus*. **ED** : Extrait aqueux.

D'après les résultats représentés dans le tableau XV, toutes les souches bactériennes testées sont sensibles aux extraits éthanoliques et acétoniques tandis que les extraits aqueux sont inactifs. Dans la médecine traditionnelle, l'eau est généralement utilisée pour les infusions, mais les extraits obtenus en utilisant les solvants organiques montrent une activité antimicrobienne plus importante que les extraits aqueux (Parekh et al., 2005 ; Parekh et Chandra, 2007). De plus, parmi les solvants organiques les plus utilisés pour l'étude de l'activité antimicrobienne, l'acétone s'est montré le meilleur dans plusieurs études et cela est lié à la nature des composés extraits (Ncube et al., 2008).

L'extrait acétonique de la variété cultivée montre des zones d'inhibition supérieures à celles de l'extrait éthanolique contre *Escherichia coli* à des concentrations de 30mg/ml et 50mg/ml, par contre il est inactif à la concentration de 10mg/ml, alors que l'extrait éthanolique présente une zone d'inhibition de 7mm à cette concentration. A la concentration de 10mg/ml l'extrait acétonique de la variété sauvage est inactif contre *E.coli* et présente des zones d'inhibition de 8mm à 30mg/ml et de 7mm à 50mg/ml. L'extrait éthanolique présente des zones d'inhibition de 11mm à 30mg/ml et de 11,5mm à 50mg/ml et contrairement à l'extrait acétonique, ce dernier inhibe *E.coli* à 10mg/ml avec une zone d'inhibition de 7mm.

L'effet antibactérien des extraits sur *P.aeruginosa* diffère d'un solvant à un autre et d'une variété à l'autre. L'extrait acétonique de la forme cultivée montre une zone d'inhibition de 14mm à 10mg/ml et 15mm à 50mg/ml. Les extraits éthanoliques sont moins actifs que les extraits acétoniques et les extraits de la variété cultivée sont plus actifs que ceux de la variété sauvage. L'extrait éthanolique de la variété cultivée est inactif à 10mg/ml, par contre à la même concentration l'extrait éthanolique de la variété sauvage inhibe *P.aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 9mm. Ce dernier montre des zones d'inhibition de 9mm et 9,5mm à 30mg/ml et 50mg/ml respectivement. Des zones d'inhibition de 8mm, 13mm, et 13mm sont obtenues avec l'extrait acétonique de la variété sauvage.

L'inhibition de *Staphylococcus aureus* semble être similaire à celle de *P.aeruginosa*. Les extraits acétoniques sont plus actifs contre cette bactérie que les extraits éthanoliques. A 10mg/ml l'extrait acétonique de la variété cultivée est inactif. En augmentant la concentration, des zones d'inhibition de 12mm et $15 \pm 1,41$ mm à 30mg/ml et à 50mg/ml respectivement ont été enregistrées. L'extrait acétonique de la variété sauvage est moins actif que celui de la variété cultivée aux concentrations 30mg/ml et 50mg/ml, mais il présente une inhibition à 10mg/ml (8mm). Les extraits éthanoliques présentent une activité proche, la zone d'inhibition la plus grande étant de 9mm.

La Gentamicine montre des zones d'inhibition supérieures à celles des extraits à une concentration faible (1mg/ml). *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à cet antibiotique dont une zone d'inhibition de 40mm a été enregistrée.

Des zones d'inhibition de 12-17mm ont été rapportées avec l'extrait acétonique de *Ruta chalepensis* L. à 10mg/ml contre *Staphylococcus aureus*. Cet extrait s'est avéré inactif contre *Escherichia coli* à la même concentration (**Alzoreky et Nakahara, 2003**). Dans notre étude, les extraits acétoniques sont également inactifs contre *E.coli* à 10mg/ml, par contre c'est uniquement l'extrait acétonique de la variété sauvage qui montre une activité contre *S.aureus* avec une zone d'inhibition de 8mm.

La littérature montre que l'extrait des feuilles de *Ruta chalepensis* L. obtenu en utilisant le méthanol tamponné présente des zones d'inhibition de 12-17mm vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, par contre il est inactif contre *Escherichia coli* à une concentration de 10mg/ml (**Alzoreky et Nakahara, 2003**). Des zones d'inhibition de 11mm et 9mm sont obtenues avec l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Ruta chalepensis* L. contre *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus* respectivement à 2mg/ml. Par contre *Pseudomonas aeruginosa* s'est montrée résistante à la même concentration (**Sathiya Priya et al., 2009**).

L'activité antibactérienne de *Ruta chalepensis* L. varie également selon les espèces du même genre. L'extrait méthanolique des parties aériennes de *Ruta chalepensis* L. s'est avéré actif contre *Klebsiella oxytoca* avec une zone d'inhibition de 13mm, alors qu'il est inactif contre *Klebsiella pneumoniae* à la même concentration (**Sathiya Priya et al., 2009**). De même, l'extrait des feuilles de *Ruta chalepensis* L. obtenu en utilisant le méthanol tamponné présente des zones d'inhibition de 12-17mm vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, tandis qu'il est inactif contre *Staphylococcus infantis* à 10mg/ml (**Alzoreky et Nakahara, 2003**).

Selon **Bansemir et al. (2006)**, l'activité antibactérienne est considérée comme étant forte pour des zones d'inhibition de diamètre > 15mm, modérée pour des zones d'inhibition dont le diamètre est compris entre 8 et 15mm, et comme étant faible pour des zones d'inhibition de diamètre allant de 1 à 8mm. D'après nos résultats, le diamètre des zones d'inhibition obtenues avec différents extraits à différentes concentrations est compris entre 8 et 15mm (sauf pour l'extrait éthanolique de la variété cultivée à 10mg/ml et l'extrait éthanolique de la variété cultivée à 30mg/ml) ce qui nous permet de dire que *Ruta chalepensis* L. exerce une activité antibactérienne modérée.

L'absence d'une activité antibactérienne au niveau des extraits aqueux pourrait être due à l'absence des alcaloïdes, des stéroïls/tri-terpènes, de la rutine, et la faible présence des coumarines par rapport aux extraits acétonique et éthanolique. En effet, la plupart des composés antimicrobiens actifs identifiés sont apolaires et insolubles dans l'eau (Ncube et al., 2008). Dans *Ruta chalepensis* L., ce sont les coumarines, certains flavonoïdes, les tannins, les tri-terpènes, et les quinones qui constituent les composés antimicrobiens actifs (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999) et sont extraits par les solvants organiques (éthanol et acétone).

Les alcaloïdes de *Ruta chalepensis* L (en particulier les quinoléines et les acridones) sont également de puissants agents antimicrobiens (Giridhar et al., 2010 ; Musiol et al., 2011 ; Marques et al., 2012). Il a été rapporté que la ptéléine (furoquinoléine de *Ruta chalepensis* L) inhibe *S.aureus* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 50µg/ml, par contre la skimmianine et la dictamine montrent une activité faible (CMI= 100µg/ml) (El Sayed et al., 2000). L'effet antimicrobien des furoquinoléines est exercé par leur capacité à se lier à l'ADN (Musiol et al., 2011).

Les extraits éthanoliques ont donné les teneurs les plus importantes en composés phénoliques (Flavonoïdes, flavonols, et tannins condensés) qui peuvent contribuer à leur effet antibactérien.

L'effet antibactérien des tannins a été rapporté contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les tannins condensés montrent une activité antimicrobienne plus importante que celle des tannins galliques (Min et al., 2008). Les tannins exercent une action antimicrobienne par la privation en fer, et surtout par leur capacité à se lier aux protéines. Cette propriété conduit à l'inactivation de certaines protéines vitales comme les enzymes, et les protéines de transport (Karou et al., 2005 ; Akinpelu et al., 2008).

Les flavonoïdes sont également des agents antimicrobiens qui agissent en se liant à des protéines extracellulaires ou solubles, ou en se fixant sur la paroi cellulaire en la déstabilisant (Cowan, 1990). Les flavonones (Narigenine, et néopocricine), et les flavonoïdes glycosylés (rutine) sont les flavonoïdes actifs de *Ruta chalepensis* L. (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999). La rutine est présente au niveau des extraits éthanolique et acétonique, et contribue ainsi à leur activité antimicrobienne.

VI.2. Activité antifongique

Ruta chalepensis L. est également l'une des plantes utilisées dans le traitement de certaines mycoses causées par la prolifération de certains champignons sur la peau ou des muqueuses (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999 ; Pollio et al., 2008). Les résultats de l'activité antifongique des extraits de *Ruta chalepensis* L. et du Fluconazole sont représentés dans le tableau XVI.

Tableau XVI: Activité antifongique des extraits de *Ruta chalepensis* L. et du Fluconazole.

Souche	Concentration des extraits	Diamètre des zones d'inhibition en mm						Antifongique	
		Extraits						Fluconazole	
		Variété cultivée			Variété sauvage				
		Acétone	Ethanol	ED	Acétone	Ethanol	ED	Con	ZI
<i>C. albicans</i>	10mg/ml	7,00±00	9,00±1,41	00	6,00±00	5,00±1,41	00	1mg/ml	20,50±3,53
	30mg/ml	8,00±00	10,00±00	00	8,00±00	8,00±00	00	3mg/ml	31,00±1,41
	50mg/ml	8,50±0,7	10,00±00	00	9,00±00	8,50±0,7	00	5mg/ml	35,00±2,83
<i>A. flavus</i>	10mg/ml	00	00	00	00	00	00	1mg/ml	00
	30mg/ml	00	00	00	00	00	00	3mg/ml	00
	50mg/ml	00	00	00	00	00	00	5mg/ml	00
<i>A. niger</i>	10mg/ml	00	00	00	00	00	00	1mg/ml	00
	30mg/ml	00	00	00	00	00	00	3mg/ml	00
	50mg/ml	00	00	00	00	00	00	5mg/ml	00

C. albicans: *Candida albicans*, *A. flavus*: *Aspergillus flavus*, *A. niger*: *Aspergillus niger*. **ED**: Extrait aqueux, **Con**: Concentration, **ZI**: Zone d'inhibition.

D'après les résultats obtenus, les extraits de *Ruta chalepensis* L. sont uniquement actifs contre la levure *Candida albicans* et sont inactifs contre les souches filamenteuses *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. Ces dernières sont également résistantes à l'antifongique de référence utilisé (Fluconazole) qui est un agent employé pour le traitement des candidoses (mycoses) et certains d'autres affections à champignons.

Les extraits aqueux n'ont montré aucune activité antifongique contre les souches testées dans ce travail. Au contraire, dans l'étude menée avec l'extrait aqueux de la partie aérienne effectuée par Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib. (1999) testé sur certains dermatophytes a montré des pourcentages d'inhibition de 94,8±2,75%, 61,7±12,64%, 64,3±9,77% contre *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, et *Trichophyton violaceum* respectivement à une concentration de 25µg/ml. Cela pourrait être dû à la différence des souches testées et/ou à la méthode utilisée.

Les extraits actifs montrent des zones d'inhibition très proches. Les zones d'inhibition les plus larges sont enregistrées avec l'extrait éthanolique de la variété cultivée (10mm) à 30mg/ml et 50mg/ml, et la plus étroite est obtenue avec l'extrait éthanolique de la variété sauvage à une concentration de 10mg/ml (5mm).

L'extrait éthanolique de la variété cultivée montre des zones d'inhibition plus importantes que l'extrait acétonique de la même variété à toutes les concentrations. Alors que, l'extrait acétonique de la variété sauvage est plus actif que l'extrait éthanolique de la même variété de la plante à la concentration de 10mg/ml et 50mg/ml.

Dans le travail effectué par **Iauk et al. (2000)**, sur certaines dermatophytes, l'extrait éthanolique exerce une activité modérée contre *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, et *Paecilomyces lilacinus*, et une activité élevée contre *Microsporum canis* et une activité faible contre *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*.

Le Fluconazole s'est montré plus efficace que les extraits de *Ruta chalepensis* L. contre *C.albicans* qui présente des zones d'inhibition très larges à des concentrations 10 fois plus faibles.

La présence des différents métabolites secondaires dans les extraits éthanolique et acétonique peut être à l'origine de leur activité. Il a été montré que certains furoquinoléines isolées de *Ruta chalepensis* montre une activité antifongique contre *C.albicans* (CMI= 50-100µg/ml) (**El Sayed et al., 2000**). Les coumarines présentes en abondance dans l'extrait acétonique de la variété sauvage, et l'extrait éthanolique de la variété cultivée peuvent également être considérées comme des agents antifongiques contribuant à l'activité des extraits de *Ruta chalepensis* L. (**Iauk et al., 2000**). Des études menées sur l'activité antifongique d'une coumarine (daphnorétine) et d'une furoquinoléine isolées de la rue contre certains champignons pathogènes pour les plantes ont montré une forte inhibition (81,4-80,8% et 65,07-75,4% respectivement à 20µg/ml) (**Emam et al., 2010**). En effet, une élévation de la production des coumarines surtout des furocoumarines linéaires est constatée durant l'infection des plantes comme le céleri par la moisissure *Sclerotinia sclerotiorum* (**Seigler, 1998**).

Conclusion

Ruta chalepensis L. est une plante présentant une composition chimique intéressante caractérisée par la présence des alcaloïdes, des composés phénoliques incluant les coumarines, et des composés terpéniques qui peuvent être mis en évidence par leurs propriétés physicochimiques. De nombreuses études ont été menées sur les activités biologiques des extraits ou des composés isolés de la plante afin de justifier ses multiples utilisations ou dans le but de chercher une source de nouvelles substances bioactives d'origine naturelle.

L'étude du comportement fluorescent de la poudre a permis d'y mettre en évidence la présence de certains groupes phytochimiques. L'extraction a été effectuée en utilisant l'acétone, l'éthanol et l'eau distillée comme solvants. Ce dernier a donné les rendements les plus élevés (17,077-18,17%) proches de ceux obtenus par l'éthanol (16,7-17,057%), par contre l'acétone donne les rendements les plus faibles (9,311% et 9,49%).

L'analyse de la composition chimique des extraits par des tests phytochimiques et la CCM a montré la présence des composés phénoliques (flavonoïdes dont la rutine, tannins, et coumarines), des alcaloïdes, des composés terpéniques, qui peuvent jouer un rôle dans l'activité biologique de l'extrait. Le dosage des principaux groupes de polyphénols montrent la richesse de la plante en polyphénols. Les extraits éthanoliques constituent les extraits les plus riches en polyphénols totaux tandis que les extraits acétoniques en sont les plus pauvres. Cette dernière varie de $26,095 \pm 0,94$ à $72,085 \pm 1,944$ mg EAG/g MS correspondant respectivement à l'extrait acétonique et éthanolique de la variété sauvage. Les deux variétés ne montrent pas une différence significative tandis que le type de solvant influence significativement la teneur en polyphénols totaux. Les extraits ont montré des teneurs importantes en flavonoïdes qui varient selon le solvant utilisé et selon la variété. Des valeurs allant de $31,9 \pm 2,12$ mg EQ/ g MS et $22,535 \pm 0,57$ mg EQ/g MS ont été obtenues avec les extraits éthanoliques qui constituent les extraits les plus riches alors que les extraits aqueux contiennent les teneurs les plus faibles ($1,96 \pm 0,13$ mg EQ/ g MS et $6,245 \pm 0,79$ mg EQ/ g MS). L'extrait éthanolique de la variété sauvage donne la valeur la plus élevée du dosage des flavonols ($13,22 \pm 0,86$ mg EQ/g MS), tandis que les extraits aqueux et l'extrait acétonique de la variété sauvage ont donné les valeurs les plus faibles. Des teneurs faibles en tannins condensés ont été enregistrés au niveau des extraits acétoniques ($1,35 \pm 0,014$ et $2,74 \pm 0,04$ mg ECat/g MS), alors que les extraits éthanoliques constituent toujours les extraits les plus riches.

La mesure de l'activité antioxydants effectuée par le test du DPPH, l'ABTS, le pouvoir réducteur, et la chélation du fer a montré que l'extrait éthanolique de la variété sauvage est le plus efficace avec une IC50 de $51,18 \pm 1,14 \mu\text{g/ml}$ avec le DPPH, $3,13 \pm 0,002 \text{ mg/ml}$ avec l'ABTS, une absorbance de $0,805 \pm 0,12$ à $100 \mu\text{g/ml}$ dans le pouvoir réducteur, et un pourcentage d'inhibition de la formation d'un complexe entre le Fe^{2+} et la ferrozine de $47,1 \pm 2,05\%$. Les extraits acétoniques exercent également une activité antioxydants importante. L'étude de la corrélation révèle une contribution moyenne des polyphénols totaux, les flavonoïdes exercent la quasi-totalité de leur activité antioxydants. Les flavonols présentent une corrélation significative avec le DPPH, le pouvoir chélateur et non significative avec l'ABTS et le pouvoir réducteur.

Les extraits de *Ruta chalepensis* L. exercent une activité antimicrobienne modérée. Les extraits éthanolique et acétonique sont les seuls actifs contre les souches testées. Les extraits de *Ruta chalepensis* L. sont actifs contre toutes les souches bactériennes testées tandis que l'effet antifongique de la plante est uniquement observé contre *Candida albicans*. L'effet antibactérien le plus important a été obtenu avec l'extrait acétonique de la variété cultivée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (diamètre de la zone d'inhibition=15mm à 50mg/ml). Cet effet pourrait être attribué à la présence des stérols/triterpènes présents en abondance dans cet extrait.

D'après les résultats du présent travail, *Ruta chalepensis* L. exerce une activité antioxydants appréciable et antimicrobienne modérée ce qui explique son utilisation traditionnelle pour le traitement des maladies d'origine oxydative et les maladies infectieuses. Néanmoins, l'étude de ces activités est insuffisante pour authentifier son utilisation. De plus, à cause de sa composition chimique intéressante, la plante peut exercer d'autres activités. Il est donc nécessaire de:

- Effectuer d'autres tests d'activité antioxydants.
- Procéder à la séparation des différents composés afin de connaître les composés les plus actifs.
- Tester l'activité anticancéreuse des différents composés de la plante.
- Procéder à des tests d'évaluation de la toxicité de ces composés.
- La connaissance de tous ces paramètres est indispensable à la mise au point de molécules douées d'une activité thérapeutique et dépourvues de toxicité.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abdel-Hameed E-S.S. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*, **114**: 1271–1277.
- Acquaviva R., Iauk L., Sorrenti V., Lanteri R., Santangelo R., Licata A., Licata F., Vanella A., M. Malaguarnera M., Ragusa S. and Di Giacomo C. (2011).** Oxidative profile in patients with colon cancer: effects of *Ruta chalepensis* L. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **15**: 181-191.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. et Lomri A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, **74** :636–643.
- Ak T. and Gülçin İ. (2008).** Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, **174**: 27-37.
- Akinpelu D.A., Aiyegoro O.A. and Okoh A.I. (2008).** In vitro antimicrobial and phytochemical properties of crude extract of stem bark of *Azelia africana* (Smith). *African Journal of Biotechnology*, **7**(20): 3662-3667.
- Al Mofleh I.A. (2011).** Spices as Alternative Agents for Gastric Ulcer Prevention and Treatment, Peptic Ulcer Disease. Ed. *InTech*, P: 361.
- Al Qarawi A.A. (2005).** Stimulatory Effect of the Aqueous Extract of *Ruta chalepensis* on the Sex Organs and Hormones of Male Rats. *The Journal of Applied Research*, **1**(5): 206-211.
- Ali-Shtayeh M.S. and Ghdeib S.I. (1999).** Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, **42**:665–672.
- Al-Sagair O. (2004).** Experimentally Challenged Reactivity of the Pituitary-Adrenal-Hematological Axis After *Ruta chalepensis* Administration. *The Journal of Applied Research*, **4**(4): 606-609.
- Al-Said M.S., Tariq M., Al-Yahya M.A., Rafatullah S., Ginnawi O.T. and Ageel A.M. (1990).** Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **28**: 305-12.
- Alzoreky N.S. and Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology* **80**: 223– 230.
- Aniszewski T. (2007).** Alkaloids-Secrets of Life. Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. 1^{ère} Edition. *Elsevier*, P: 1-12.

Ashour M.N., Habib D.F., Hanna R.A. and El-Dabaa A.T.M. (2011). Beneficial Effects of Curcumin and *Ruta Chalepensis* on the Antioxidant System and Inflammation in Hypercholesteromic Rat. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **5**(12): 2562-2567.

B

Ba K., Tine E., Destain J., Cissé N. et Thonart P. (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnology Agronomy, Society and Environment*, **14**(1): 131-139.

Bansemir A., Blume M., Schröder S., Lindequist U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, **252**: 79–84.

Baumert A., Kusovkina I.N., Krauss G., Hieke N. and Gröger D. (1982). Biosynthesis of Rutacridone in Tissue cultures of *Ruta graveolens* L. *Plant Cell Reports* **1**: 168-171.

Bayer E., Buttler K.P., Zeller Y.F.K. and Grau J. (1990). Guide de la flore méditerranéenne: caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces. Ed. *Delachaux et Niestlé*. Paris, P: 90.

Beaudeux J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. et Peynet J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, **21**: 144–150

Békéro Y-A., Békéro J.A.M., Boua B.B., Tra Bi F.H. et Éhilé E.E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, **2**(4): 217 – 225.

Belkassam A., Zellagui A., Gherraf N., Lahouel M. and Rhouati S. (2011). Essential Oil Composition of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L. and its Antibacterial Effects on Microorganisms Responsible for Respiratory Infections. *Advances in Natural and Applied Sciences*, **5**(3): 264-268.

Ben Bnina E., Hammami S., Daamii-remadi M., Ben Jannet H. and Mighri Z. (2010). Chemical composition and antimicrobial effects of Tunisian *Ruta chalepensis* L. essential oils. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, **12**: 1-9.

Bhoga U., Mali R.S. and Adapa S.R. (2004). New synthesis of linear furoquinoline alkaloids. *Tetrahedron Letters*, **45**: 9483–9485.

Borchardt J.R., Wyse D.L., Sheaffer C.C., Kauppi K.L., Fulcher R.G., Ehlke N.J., Biesboer D.D. and Bey R.F. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal of Medicinal Plants Research*, **2**(4): 081-093.

Boudjelal A., Henchiri C., Sari M., Sarri D., Hendel N., Benkhaled A. and Ruberto G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, **148**(2): 395-402.

- Bounias M. (1983).** Analyse biochimique quantitative par chromatographie en couche mince. Ed. *Masson*, Paris. P: 196-198.
- Bourgaud F., Nguyen C. and Gluckert A. (1995).** Psoralea Species In vitro Culture and Production of Furocoumarine and Other Secondary Metabolites. In: **Bajaj Y.P.S.** Biotechnologie in agriculture and Forestry, Medicinal and aromatic plants. Ed. *Springer-Verlong*. Berlin, P : 389-390.
- Bouزيد W. (2009).** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire de magister en biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhder. Batna, 88p.
- Bruneton J. (1987).** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. *TEC & DOC*. Paris, P: 345-355.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition. *TEC & DOC*. Paris, P: 261-321.
- Bursal E., Köksal E., Gülçin I., Bilsel G. and Gören A.C. (2013).** Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS. *Food Research International*, **5**: 66-74.

C

- Cai Y., Luo Q., Sun M. and Corke H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, **74**: 2157–2184.
- Cardoso-Lopes E.M., Maier J.A., Silva M.R., Regasini L.C., Simote S.Y., Lopes N.P., Pirani J.R., Silva Bolzani V. and Marx Young M.C. (2010).** Alkaloids from Stems of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) as Potential Treatment for Alzheimer Disease. *Molecules*, **15** : 9205-9213.
- Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M-C., Pénicaud L., et Casteilla L. (2006).** Les espèces actives de l'oxygène : le *yin* et le *yang* de la mitochondrie. *Médecine sciences*, **1**(22): 47-53.
- Cartas Heredia L., Mascher D., Juarez Oropeza M.A., Farias J. and Cristina Paredes Carbajal C. (2011).** Effects of the chronic ingestion of an infusion of *Ruta chalepensis* on the vasomotor responses of rat aortic rings. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **10** (5): 414 – 422.
- Cartier O. and Roux D. (2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3^{ème} Edition. *Wolters Kluwer*, P: 69-74.
- Cassels B.K., Asenciot M., Congets P., Speisky H., Videlas L.A. and Lissi A.E. (1995).** Structure-antioxydative activity relationships in benzolisoquinoline alkaloids. *Pharmacological Research*, **2**(31): 103-107.
- Cillard J. et Cillard P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **1**(13): 24-29.

Cordell G.A. (2012). Fifty years of alkaloid biosynthesis in Phytochemistry. *Phytochemistry*, (in press).

Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J. and Vanden Berghe D. (1998). Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *Journal of Natural Products*, **61**: 71-76.

Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, **12**(4): 564-570.

D

D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. and Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, **4**(43): 348-361.

Daaf F. and Lattanzid V. (2008). Recent Advances in Poly phenol Research. Ed. *WILEY-BLACKWELL*. Paris, P: 1- 24.

Daniel D. (2006). Medicinal plants, Chemistry and properties. Ed. *Science Publishers*. USA, P: 9-11.

De Feo V., De Simone F. and Senatore F. (2002). Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry* **61**:573–578.

Deng Y., Zhang M. and Luo H. (2012). Identification and antimicrobial activity of two alkaloids from traditional Chinese medicinal plant *Tinospora capillipes*. *Industrial Crops and Products*, **37**: 298– 302.

Deysson G. (1976). Organisation et classification des plantes vasculaires. Ed. *CDU et SEDES*. Paris, P: 326-331.

Desta B. (1994). Ethiopian traditional herbal drugs. Part III: Anti-fertility activity of 70 medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **44**: 199-209.

Dinis T.C.P., Madeira V.M.C., Almeida L.M. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, **315**:161–169.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654–660.

Djeridane A., Yousfi Y., Brunel J.M. and Stocker P. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, **48**: 2599–2606.

Dupont F. et Guignard J-L. (2007). Botanique, Systématique moléculaire. 14^{ème} Edition. Elsevier Masson, P: 188.

E

El Sayed K., Al-Said M.S., El-Feraly F.S. and Ross S.A. (2000). New quinoline alkaloids from *Ruta chalepensis*. *Journal of Natural Products*, **63**: 995-7.

El-Beih F.K., El-Tawil B.A.H. and Baghlaif A.O. (1981). Coumarin and Chalepensis, a further constituents of *Ruta chalepensis*. *Journal of Chinese Chemical Society*, **28**: 237-238.

EL-Kamali H.H. and EL-amir M.Y. (2010). Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Ethanolic Extracts Obtained from Selected Sudanese Medicinal Plants. *Current Research Journal of Biological Sciences*, **2**(2): 143-146.

Elmastaş M., Gülçin İ., Işildak Ö., Küfrevioğlu Ö.İ., İbaoglu K. and Aboul-Enein H.Y. (2006). Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **3**: 258-266.

Emam A., Eweis M., Elbadry M. (2010). A new furoquinoline alkaloid with antifungal activity from the leaves of *Ruta chalepensis* L. *Drug Discoveries & Therapeutics*. **4**(6):399-404.

Erkan N., Ayranci G. and Ayranci E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, **110**: 76–82.

Estrada-Reyes R., Martínez-Vázquez M., Gallegos-Solís A., Heinze G. and Moreno J. (2010). Depressant effects of *Clinopodium mexicanum* Benth. Govaerts (Lamiaceae) on the central nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, **130**: 1–8.

E

Fakhfakh N., Zouari S., Zouari M, Loussayef CH. and Zouari N. (2012). Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis* L. (Rutacea). *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(4): 593-600.

Farediah A., Hazar B.M.I. and Mawardi R. (1996). Arborine, a Larval Growth Inhibitor from *Glycoslnis pentaphylla*. *Pertanika Journal of Sciences & Technology*, **4**(1): 11-15.

Farnsworth N.R., Akerele O, Bingel A.S. Soejarto D.D. and Guo Z. (1986). Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **64** (2): 159-175.

Fernandes G. and Banu J. (2012). Medicinal properties of plants from the genus *Cissus*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(16): 3080-3086.

Fournet A., Barrios A.A., Munoz V., Hocquemiller R., Cave A. et Bruneton J. (1993). Les chimanines, nouvelles quinoléines substituées en 2 isolées d'une plante Bolivienne antiparasitaire : *Galipea longiflora*. *Journal of Natural Products*, **9**(56): 1847-1952.

Fournet A., Vagneur B., Richomme P. et Bruneton J. (1989). Aryl-2 et alkyl-2 quinoléines nouvelles isolées d'une Rutacée bolivienne: *Galipea longijlora*. *Canadian Journal of Chemistry*, **67**: 2116-2118.

G

Gamain B., Arnaud J., Favier A., Camus D., Dive D. and C. Slomianny C. (1996). Increase in Glutathione peroxidase activity in Malaria parasite after selenium supplementation. *Free Radical Biology & Medicine*, **4** (21): 559-565.

Gausson H., Leroy J-F. and Ozenda P. (1982). Précis de botanique. Végétaux supérieurs. 2^{ème} Edition. *Masson*. Paris, P: 374-367.

Giridhar A., Chawla A., Jain S., Jain N. and Giridhar S. (2010). Acridone alkaloids-A brief review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, **1**(12): 1-16.

Gonzales L., Benavides V. and José Pino R.R. (2007). Embryotoxic and teratogenic effect of *Ruta chalepensis* L. «rue», in mouse (*Mus musculus*). *Rev. peru. Biol, Número especial*, **13** (3): 223 – 225.

Gonzalez-Trujano M.E., Carrera D., Ventura-Martinez R., Cedillo-Portugal E. and Navarrete A. (2006). Neuropharmacological profile of an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **106**: 129–135.

Goudable J. et Favier A. (1997). Radicaux libres oxygènes et antioxydants. *Nutrition Clinique et Metabolisme*, **11**:115-20.

Gray A.I. and P.G. Waterman. (1978). Coumarins in the Rutaceae. *Phytochemistry*, **17**: 845-864.

Grundon M.F. and Okely M. (1979). A new quinoline alkaloid from *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, **18** : 1768-1769.

Guignard J-L. (1979). Biochimie végétale. 2^{ème} Edition. *Masson*. Paris, P : 199-211.

Guignard J-L. (1989). Botanique. 7^{ème} Edition. *Masson*. Paris, P: 161.

Guignard J-L. (2000). Biochimie végétale. 2^{ème} Edition. *Dunod*. Paris, P: 177-186.

Gülçin I., Bursal E., Sehitoglu M.H., Bilsel M. and Gören A.C. (2010a). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **48**: 2227–2238.

Gülçin I., Huyut Z., Elmastas M. and Aboul-Enein H.Y. (2010b). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, **3**: 43–53.

Gülçin İ., Küfrevioğlu Ö.İ., Oktay M. and Büyükkokuroğlu M.E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, **90**: 205-215.

Günaydin K. and Savci S. (2005). Phytochemical studies on *Ruta chalepensis* (Lam) Lamarck. *Natural Product Research*, **3**(19): 203–210.

Gursoy N., Sarikurkcu C., Cengiz M. and Solak H.M. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 2381–2388.

H

Haddouchi F., Chaouche T.M., Zaouali Y., Ksouri R., Attou A. and Benmansour A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity 1 of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*, **1**(141): 1-28.

Halliwell B. (1991). Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. *The American Journal of Medicine*, **3**(91): 14-22.

Halliwell B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (**in press**).

Halliwell B. (2011). Free radicals and antioxidants – quo vadis?. *Trends in Pharmacological Sciences*, **3** (32): 125-130.

Handique J.G. and Baruah J.B. (2002). Polyphenolic compounds: an overview. *Reactive & Functional Polymers* **52**: 163–188.

Harborne J.B. (1991). Flavonoid pigments. In: Herbivores: her interactions with secondary plant metabolites. 2^{ème} Edition. *Academic Press*. P: 389-429.

Harborne J.B. (1992). Phenolic compounds. Part B. *Journal of chromatography Library*, **51**: B363-B392.

Hayouni E-A, Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, **105**: 1126–1134.

Heim K.E., Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572–584.

Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **1**: 3-6.

Hopkins W.G. (2003). Physiologie végétale. 1^{ère} Edition. *De Boeck et Larcier*. Bruxelles, P: 267-281.

I

Iauk L., Flores M., Ragusa S., Rapisarda A., Greco A.M., Minardi R. and Oliveri S. (2000). Antimycotic activity of *Ruta chalepensis*. *Etudes chimiques et pharmacologiques*, 436-439.

Iauk L., Mangano K., Rapisarda A., Ragusa S., Maiolino L., Musumeci R., Costanzo R., Serra A. and Spezi A. (2004). Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta Chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*, **90**: 267–272.

J

Jang H-D., Chang K-S., Huang Y-S, Hsu C-L., Lee S-H., and Su M-S. (2007). Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chemistry*, **103**: 749–756.

Jayaprakasha G.K., Girenavar B. and Patil B.S. (2008). Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *LWT*, **41**: 376–384.

Junghanns K.T., Kneusel R.E., Groger D. and Matern U. (1998). Differential regulation and distribution of acridone synthase in *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, **2**(49): 403–411.

K

Kamdem Waffo A.F., Coombes P.H., Neil R. Crouch N.R., Mulholland D.A., Sawsan M.M. El Amin S.M.M. and Smith P.J. (2007). Acridone and furoquinoline alkaloids from *Teclea gerrardii* (Rutaceae: Toddalioideae) of southern Africa. *Phytochemistry*, **68**: 663–667.

Kanatt S., Chander R. and Sharma A. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) irradiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, **100**: 451–458.

Karou D., Dicko M., Simpore J. and Traore A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, **4**(8):823-828.

Katalinic V., Milos M., Kulisic T. and Jukic M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, **94**: 550–557.

Kelen M. and Tepe B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, **99**: 4096–4104.

Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S. and Araujo M.E.M. (2008). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry*, **109**: 630–637.

Khan F.A., Hussain I., Farooq S., Ahmad M., Arif M. and Ur Rehman I. (2011). Phytochemical Screening of Some Pakistanian Medicinal Plants. *Middle-East Journal of Scientific Research*, **8** (3): 575-578.

- Khelifi D., Sghaier R.M., Amouri S., Laouini D., Hamdi M. and Bouajila J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology*, (in press).
- Koolen H.H.F., da Silva F.M.A., Gozzo F.C., de Souza Q.L.A. and de Souza A.D.L. (2013).** Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, **51**: 467–473.
- Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Bakrouf A., Magné C. and Abdelly C. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 2083–2091.
- Kumari R. and Kumar M. (2011).** Chemistry of Acridone and its analogues: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **3**(1): 217-230.
- Kumar V., Bhat Z., Kumar V., Shah M, Chashoo I. and Khan N. (2011).** Physicochemical and Preliminary Phytochemical Studies on Petals of *Crocus sativus* ‘Cashmerianus’. *Pharmacognosy Journal*, **3**: 46-49.

L

- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. et Carde J-P. (1994).** Biogenèse des mono-terpènes. II. La chaîne isoprénique. *Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux*, **133**: 79-99.
- Leto C., Tuttolomondo T., La Bella S. and Licata M. (2013).** Ethnobotanical study in the Madonie Regional Park (Central Sicily, Italy)—Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *Journal of Ethnopharmacology*, **146**: 90–112.
- Li H-B., Wong C-C., Cheng K-W. and Chen F. (2008).** Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT*, **41**: 385–390.
- Lièvre K. (2004).** Modification de la composition en molécules pharmaceutiques (furocoumarines) de la Rue officinale (*Ruta graveolens*) par transformation génétique. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques. Institut National Polytechnique de Lorraine (INPL). Nancy, 197p.
- Liu F. and Ng T.B. (1999).** Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sciences*, **8**(66) 725-735.
- Liu X., Zhao M., Wang J., Yang B. and Jiang Y. (2008).** Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**: 219–228.

M

- Maier W., Schumann B. and Groger D. (1990).** Biosynthesis of acridone alkaloids Formation of rutacridone by cell-free extracts of *Ruta graveolens* cell suspension cultures. *Federation of European Biochemical Societies*, **2** (263): 289-29.

- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **79**:727– 47.
- Mancebo F., Hilje L., Mora G.A., Castro V.H., and Salazar R. (2001).** Biological activity of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) and *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Revista de Biología Tropical*, **49**(2): 501-508.
- Mantle D., Anderton J.G., Falkous G., Barnes M., Jones P. and Perry E.K. (1998).** Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* **121**: 385–391.
- Marques E.F., Bueno M.A., Duarte P.D., Silva L.R.S.P., Martinelli A.M., dos Santos C.Y., Severino R.P., Brömme D., Vieira P.C. and Corrêa A.G. (2012).** Evaluation of synthetic acridones and 4-quinolinones as potent inhibitors of cathepsins L and V. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **54**:10-21.
- Marshall K.A., Reiter R.J., Poeggeller B., Aruoma O.I. and Halliwell B. (1996).** Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vitro. *Free Radical Biology & Medicine*, **3**(21): 307-315.
- Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**: 304–315.
- Matkowski A. (2008).** Plant *in vitro* culture for the production of antioxidants. *Poland Biotechnology Advances*, **26**:548-560.
- Mbaebie B., Edeoga H. and Afolayan A. (2012).** Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 118-124.
- Megally N.Y., Swelam E.S. and Emam A.M. (2009).** Furocoumarin and Quinolone Alkaloid with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Ruta chalepensis* Leaves. *Journal of Natural Products*, **2**: 10-22.
- Mejri J., Abderrabba M. and Mejri M. (2010).** Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*, **32**: 671–673.
- Meot-Duros L. and Magné C. (2009).** Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, **47**: 37–41.
- Merghache S., Hamza M. et Tabti B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique science*, **5**(1): 67 – 81.
- Mesfin F., Demissew S. and Teklehaymanot T. (2009).** An ethnobotanical study of medicinal plants in Wonago Woreda, SNNPR, Ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **5**:28.

- Miliauskas G., Venskutonis P.R. and van Beek T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85: 231–237.
- Min B. R., Pinchak W. E., Merkel R., Walker S., Tomita., G. and Anderson R. C.(2008).** Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*, 3(2): 066-073.
- Moazedi A.A., Dabir N., Gharib Naseri M.K. and Zadkarami M.R. (2010).** The Role of NO and cGMP in Antispasmodic Activity of *Ruta chalepensis* Leaf Extract on Rat Ileum. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(2): 83-87.
- Mohr N., Budzikiewicz H., El-Tawil B.A.H. and El-Beih F.K.A. (1982).** Further Furoquinolone Alkaloids from *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, 7(21): 1838-1839.
- Molyneux P. (2004).** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26 (2): 211-219.
- Musiol R., Magdziarz T., A. and Kurczyk. (2011).** Quinoline scaffold as a privileged substructure in antimicrobial drugs. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 72-83.
- Mwangi E.S.K., Keriko J.M., Machocho A.K., Wanyonyi A.W., Malebo H.M., Chhabra S.C. and Tarus P.K. (2010).** Antiprotozoal activity and cytotoxicity of metabolites from leaves of *Teclea trichocarpa*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(9): 726-731.

N

- Ncube N. S., Afolayan A. J. and Okoh A. I. (2008).** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology* 7(12): 1797-1806.
- Nijveldt R.J., Nood E.V., Hoorn D.E.C., Boelens P.G., Norren K. and Leeuwen P.A.M. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418–25.

O

- O'Brien P., Carrasco-Pozo C. and Speisky H. (2006).** Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. *Chemico-Biological Interactions*, 159: 1–17.
- Oktay M., Gülçin İ. and Kufrevioglu O.İ. (2003).** Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 36:263-271.
- Olorunsogo O., Uwaifo A. and Malomo S. (1990).** Comparative effects of three naturally occurring fuanocoumarins on mitochondrial bioenergetics. *Chemico-Biological Interactions*, 4: 263-274.

Opara E.C. (2002). Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *The Journal of The Royal Society for the Promotion of Health*, **122** (1): 28-34.

P

Page C.P., Curtis M.J., Sutter M.C., Walker M.J. and Hoffman B.B. (1999). Pharmacologie intégrée. 1^{ère} Edition. *De Boeck*. Paris, P : 173.

Parekh J. and Chanda S. (2007). Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research*, **10**: 175 – 181.

Parekh J., Jadeja D. and Chanda S. (2005). Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Turkish Journal of Biology*, **29**: 203-210.

Paris M. et Hurabielle M. (1980). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Généralités-monographies. Ed. *Masson*. Paris, P: 256-266.

Pericin D., Krimer V., Trivic S. and Radulovic L. (2009). The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*, **113**: 450–456.

Perron N.R. and Brumaghim J.L. (2009). A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, **53**:75–100.

Pfaller M.A., Messer S.A., Karlsson Å., and Bolmstrom A. (1998). Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, **36**(9): 2586–2589.

Pollio A., De Natale A., Appetiti E., Aliotta G. and Touwaide A. (2008). Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *Journal of Ethnopharmacology*, **3**(116): 469–482.

Pourmorad F., Hosseinimehr S.J. and Shahabimajd N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, **5**(11): 1142-1145.

Prasannabalaji N., Muralitharan G., Sivanandan R.N., Kumaran S. and Pugazhvendan SR. (2012). Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S291-S295.

R

Rackova L., Majekova M., Kostalova D. and Stefek M. (2004). Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**: 4709–4715.

Raven P.H., Evert R.F. and Eichorn S.E. (2000). Biologie végétale. 1^{ère} Edition. *De Boeck Diffusion*. Paris, P: 32-37.

- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**(9/10): 1231–1237.
- Reed J.D. (2002).** Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *Journal of Animal science*, **73**:1516-1528.
- Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. *Dunod*. Paris, P: 173-201.
- Ritcher G. (1988).** Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Ed. *Presses polytechniques et universitaires Romandes*, P: 436
- Roberts M. F. and Wink M. (1998).** Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications. Ed. *Plenum Press*. New York, P: 1- 6.

S

- Sahu V.K., Raghveer I., Alok S. and Himanshu G. (2010).** Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the whole plant extract of *Dendrophthoe falcate* (L.F.) Ettingsh. *International Journal of pharmaceutical sciences and research*, **1**(1): 39-45.
- Sarikurkcü C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. and Harmandar M. (2008).** Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *Globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresource Technology*, **99**:4239–4246.
- Sathiya Priya P., Sasikumar J.M. and Gowsigan G. (2009).** Antibacterial activity of methanol extract of *Ruta chalepensis* (L), *Quercus infectoria* (Oliver), and *Canthium parviflorum* (Lam). *Ancient Science of life*, **2**(29): 28-31.
- Seigler D.S. (1998).** Plant Secondary metabolism. Ed. *Kluwer Academic Publishers*. USA, P: 137.
- Serteyn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulke S., Lamy M., Deby C. et Deby-Dupont G. (2002).** La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **146**: 137-153.
- Shah AH., Qureshi S. and Ageel A.M. (1991).** Toxicity studies in mice of ethanol extracts of *Foeniculum vulgare* fruit and *Ruta chalepensis* aerial parts. *Journal of Ethnopharmacology*, **34**: 167-72.
- Shehadeh M.B., Afifi F.U. and Abu-Hamdah S.M. (2007).** Platelet Aggregation Inhibitors from Aerial Parts of *Ruta Chalepensis* Grown in Jordan. *Integrative Medicine Insights*, **2**:35–39.
- Shon M-Y., Kim T-H. and Sung N-J. (2003).** Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*, **82**: 593–597.

Singh R., Singh B., Singh S., Kumar N., Kumar S. and Arora S. (2010). Umbelliferone – An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Wild. Ex. Del. *Food Chemistry*, **120**: 825–830.

Sparg S.G., Light M.E., and van Staden J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**: 219–243.

Stashenko E.E., Acosta R. and Martinez J.R. (2000). High-resolution gas-chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical-fluid extraction from Colombian rue (*Ruta graveolens* L.). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **43**: 379–390.

Su M-S., Shyu Y-T. and Chien P-J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chemistry*, **111**: 892–896.

Svobodová A., Psotová J. and Walterová D. (2003). Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomedical Papers*, **147**(2), 137–145.

T

Tounsi M.S., Wannes W.A., Ouerghemmi I., Msaada K., Smaoui A. and Marzouk B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial Crops and Products*, **33**: 617–623.

Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, **2**: 1231-1246.

Turkmen N., Sari F. and Velioglu Y.S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, (**in press**).

Turkoglu A., Kivrak I., Mercan N., Duru M.E., Gezer K. and Turkoglu H. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers. *African Journal of Biotechnology*, **5** (11):1146-1150.

U

Ulubelen A. and Tan N. (1990). A Moskachan From Roots of *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, **12**(29): 399-3992.

Ulubelen A. and Terem B. (1988). Alkaloids and Coumarins from roots of *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, **2**(27): 650 651.

Ulubelen A., Terem B., Tuzlacis E., Cheng K.F. and Kong Y.C. (1986). Alkaloids and coumarins from *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, **11**(25): 2692-2693.

V

Vaquette J., Hifnawy M.S., Pousset J.L., Fournet A., Bouquet A. et Cavé A. (1976). Alcaloïdes d'*Araliopsis soyauxii*. Isolement d'un nouvel alcaloïde, l'Araliopsine. *Phytochemistry*, 15: 743-145.

Vázquez-Cruz B., Natalia S-L., Ariel R-B., David S-C. and Amato D. (2010). Antihypertensive activity of *Ruta chalepensis* L. Leaves. *Pharmacologyonline*, 3: 354-363.

W

Wang H., Zhao M., Yang B., Jiang Y. and Rao G. (2008). Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 107: 1399–1406.

Wansi J.D, Hussain H, Tcho AT, Kouam SF, Specht S, Sarite SR, Hoerauf A. and Krohn K. (2010). Antiplasmodial activities of furoquinoline alkaloids from *Teclea afzelii*. *Phytotherapy Research*, 24:775-777.

Wansi J.D., Wandji J., Kamdem Waffo A.F., Ngeufa H.E., Ndom J.C., Fotso S., Maskey R.P., Njamen D., Tanee Zacharias Fomum T.Z. and Laatsch H. (2006). Alkaloids from *Oriciopsis glaberrima* Engl. (Rutaceae). *Phytochemistry*, 67: 475–480.

Waterman P.G. (1975). Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and Systematic Significance, Biochemical Systematics and Ecology. *Biochemical Systematics and ecology*, 3: 149 to 180.

Williamson G. and Scalbert A. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *American Society for Nutritional Sciences*, 2073S- 2085S.

Wong S.P., Leong L.P. and Koh J.H.W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99: 775–783.

Y

Yan D., Jin C., Xiao X-H., and Dong X-P. (2008). Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70: 845–849.

Z

Zeichen de Sa R., Rey A., Arganaraz E. and Bindstein E. (2000). Perinatal toxicology of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 69: 93–98.

Zhang L-L. and LIN Y-M. (2008). Tannins from *Canarium album* with potent antioxidant activity. *Journal of Zhejiang University science B*, 9(5):407-415.

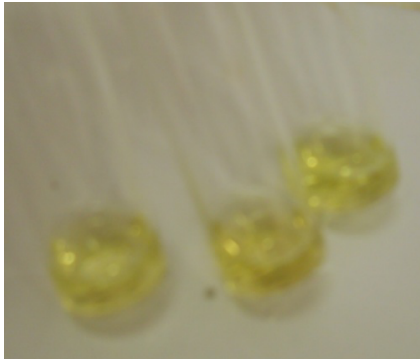
Annexes

Annexe I : Composition de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. (Tounsi et al., 2011)

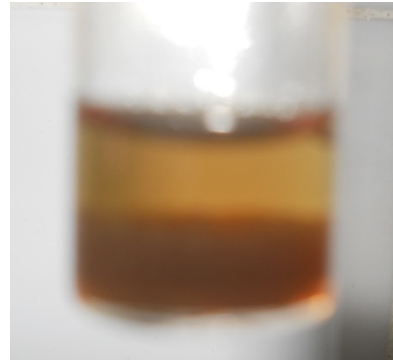
Essential oil composition (%) in different organs from cultivated and growing wild *R. chalepensis*.

Compound*	RI ^a	RI ^b	Cultivated <i>R. chalepensis</i>			Growing wild <i>R. chalepensis</i>				
			Leaves	Stems	Flowers	Fruits	Leaves	Stems	Flowers	Fruits
α -Pinene	941	1032	0.09 \pm 0.01 ^{1A}	0.06 \pm 0.01 ^{1A}	0.05 \pm 0.02 ^{1A}	0.23 \pm 0.03 ^{3A}	0.06 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	0.07 \pm 0.01 ^{1B}
β -Pinene	950	1118	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.23 \pm 0.02 ^{3A}	-	0.07 \pm 0.01 ^{1A}	0.09 \pm 0.03 ^{3A}
Myrcene	994	1161	0.12 \pm 0.02 ^{2A}	0.11 \pm 0.03 ^{4A}	0.07 \pm 0.01 ^{1B}	0.03 \pm 0.01 ^{1B}	0.11 \pm 0.02 ^{1A}	-	0.11 \pm 0.01 ^{1A}	0.14 \pm 0.01 ^{1A}
Limonene	1030	1203	4.16 \pm 0.3 ^{2A}	2.92 \pm 0.25 ^{2A}	2.08 \pm 0.15 ^{2A}	1.22 \pm 0.2 ^{1B}	2.92 \pm 0.04 ^{2B}	0.70 \pm 0.01 ^{1B}	2.67 \pm 0.06 ^{2A}	2.40 \pm 0.05 ^{2A}
1,8-Cineol	1033	1213	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	-	-	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0	-	-	0.03 \pm 0.01 ^{1A}
γ -Terpinene	1062	1266	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0.03 \pm 0.01 ^{1B}	-	-	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	-	-	0.07 \pm 0.02 ^{2A}
2-Octanone	1303	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07 ^{2A} \pm
Octanal	1005	1287	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	-	-	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	-	0.05 \pm 0.01 ^{2A}	0.03 \pm 0.01 ^{1B}
p-Cymene	1026	1280	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	0.03 \pm 0.01 ^{1B}	0.09 \pm 0.02 ^{2A}	-	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	4.90 \pm 0.01 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1B}	-
Terpinolene	1088	1290	0.31 \pm 0.02 ^{2A}	0.09 \pm 0.01 ^{1A}	-	-	0.09 \pm 0.02 ^{1B}	0	0.13 \pm 0.03 ^{2A}	0.05 \pm 0.01 ^{1A}
2-Nonanone	-	1392	1.69 \pm 0.03 ^{2A}	1.02 \pm 0.02 ^{1B}	0.72 \pm 0.01 ^{1B}	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	1.02 \pm 0.03 ^{1B}	2.39 \pm 0.06 ^{2A}	1.58 \pm 0.03 ^{2A}	-
Hexanol	867	1360	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.85 \pm 0.03 ^{2A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	-	-	0.07 \pm 0.01 ^{1B}
Octanal	1001	1287	0.40 \pm 0.02 ^{2A}	0.40 \pm 0.03 ^{4A}	0.21 \pm 0.03 ^{1A}	0	0.40 \pm 0.01 ^{1A}	0.06 \pm 0.01 ^{1B}	0.16 \pm 0.02 ^{2A}	0.42 \pm 0.04 ^{2A}
2-Nonanol	-	1499	45.11 \pm 2.3 ^{2A}	28.05 \pm 1.2 ^{1B}	21.45 \pm 1.15 ^{1B}	11.59 \pm 0.78 ^{2A}	28.05 \pm 2.3 ^{1B}	40.47 \pm 3.3 ^{2A}	36.40 \pm 1.75 ^{2A}	0.86 \pm 0.02 ^{1B}
Nonanal	1102	1400	0.12 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.04 \pm 0.01 ^{1B}	-	-	-	0.06 \pm 0.02 ^{2A}	0.07 \pm 0.01 ^{1A}
Citronellal	1153	1465	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1B}	-	-	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	0.17 \pm 0.02 ^{2A}	0	-
cis-Linalool oxide	1078	1462	0.08 \pm 0.02 ^{2A}	0.07 \pm 0.02 ^{1B}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.07 \pm 0.01 ^{1A}	1.87 \pm 0.05 ^{2A}	0.05 \pm 0.01 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}
Trans-Linalool oxide	1093	1462	3.6 \pm 0.2 ^{1B}	1.58 \pm 0.1 ^{1A}	3.58 \pm 0.13 ^{1B}	-	21.56 \pm 1.5 ^{1A}	1.10 \pm 0.2 ^{1A}	6.40 \pm 0.7 ^{1A}	36.80 \pm 2.3 ^{1A}
2-Decanone	1191	1502	2.04 \pm 0.1 ^{1A}	21.56 \pm 1.6 ^{2A}	3.11 \pm 0.2 ^{1A}	-	1.58 \pm 0.3 ^{2A}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	1.60 \pm 0.13 ^{2B}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}
Camphor	1144	1532	0.32 \pm 0.01 ^{1B}	1.72 \pm 0.02 ^{2A}	0.32 \pm 0.01 ^{1B}	-	1.72 \pm 0.3 ^{2A}	0.21 \pm 0.01 ^{1B}	0.61 \pm 0.03 ^{3A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}
cis-Linalool oxide	1139	1654	0.11 \pm 0.01 ^{1A}	0.13 \pm 0.02 ^{1B}	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0.57 \pm 0.03 ^{3A}	0.13 \pm 0.01 ^{1A}	0.69 \pm 0.04 ^{2A}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	-
Citronellal	1095	1548	0.8 \pm 0.02 ^{2A}	0.82 \pm 0.03 ^{4A}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0	0.82 \pm 0.03 ^{2A}	-	0.55 \pm 0.02 ^{2A}	0.19 \pm 0.01 ^{1A}
Linalool	1262	1554	0.10 \pm 0.02 ^{1B}	0.20 \pm 0.03 ^{4A}	0.25 \pm 0.02 ^{2A}	0.09 \pm 0.01 ^{1B}	0.20 \pm 0.04 ^{1A}	-	0.07 \pm 0.01 ^{1B}	2.72 \pm 0.15 ^{2A}
Linalyl acetate	1296	1543	0.13 \pm 0.02 ^{1A}	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0.11 \pm 0.02 ^{1A}	1.93 \pm 0.3 ²	0.03 \pm 0.01 ^{1B}	-	0.03 \pm 0.01 ^{1B}	1.65 \pm 0.2 ^{2A}
2-Undecanone	-	1681	36.58 \pm 1.2 ^{1A}	33.54 \pm 1.35 ^{1A}	60.46 \pm 4.6 ^{2A}	80.02 \pm 2.55 ^{1A}	33.54 \pm 2.75 ^{1B}	26.68 \pm 3.22 ^{1B}	44.14 \pm 1.44 ^{1B}	41.06 \pm 3.6 ^{2A}
α -Terpinenyl acetate	1344	1706	0.13 \pm 0.02 ^{1A}	0.20 \pm 0.01 ^{1B}	2.80 \pm 0.03 ^{1A}	0.17 \pm 0.02 ^{1B}	0.20 \pm 0.01 ^{1A}	13.62 \pm 1.75 ^{2A}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	5.79 \pm 0.5 ^{1B}
α -Terpineol	1189	1709	1.47 \pm 0.3 ^{1B}	3.88 \pm 0.2 ^{2A}	0.06 \pm 0.01 ^{1B}	0.59 \pm 0.05 ^{2A}	3.88 \pm 0.06 ^{2A}	0.23 \pm 0.01 ^{1B}	2.40 \pm 0.03 ^{3A}	0.38 \pm 0.02 ^{1A}
Borneol	1165	1719	0.12 \pm 0.01 ^{1B}	0.21 \pm 0.02 ^{1A}	0.15 \pm 0.01 ^{1A}	0.60 \pm 0.02 ^{2A}	0.21 \pm 0.01 ^{1A}	0	0.06 \pm 0.01 ^{1B}	0.85 \pm 0.05 ^{2A}
Tridecanone	-	1793	0.84 \pm 0.03 ^{2A}	0.27 \pm 0.01 ^{1B}	-	0.21 \pm 0.01 ^{1A}	0.27 \pm 0.02 ^{1B}	1.34 \pm 0.03 ^{2A}	0.33 \pm 0.01 ^{1A}	0.24 \pm 0.02 ^{1A}
Merol	1228	1797	0.18 \pm 0.02 ^{1B}	1.97 \pm 0.03 ^{1A}	1.09 \pm 0.02 ^{2A}	0.04 \pm 0.01 ^{1B}	1.97 \pm 0.02 ^{1A}	-	0.70 \pm 0.01 ^{1B}	1.51 \pm 0.03 ^{2A}
Methyl eugenol	1401	2030	0.83 \pm 0.03 ^{2A}	0.37 \pm 0.02 ^{1A}	0.52 \pm 0.05 ^{1A}	0.66 \pm 0.02 ^{1A}	0.37 \pm 0.03 ^{1B}	-	0.49 \pm 0.05 ^{2A}	0.56 \pm 0.02 ^{2A}
Anethol	1193	1654	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.09 \pm 0.01 ^{1A}	0.05 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.42 \pm 0.02 ^{2A}	-	-
Thymol	1290	2166	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	1.25 \pm 0.02 ^{2A}	0.19 \pm 0.03 ^{3A}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}
Eugenol	1356	2191	0.20 \pm 0.02 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	0.05 \pm 0.02 ^{1B}	0.06 \pm 0.01 ^{1A}	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.15 \pm 0.02 ^{2A}	0.02 \pm 0.01 ^{1B}
Carvacrol	1292	2239	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	0.04 \pm 0.01 ^{1A}	0.07 \pm 0.02 ^{2A}	0.03 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.02 \pm 0.01 ^{1B}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}
E-farnesol	1722	2350	0.02 \pm 0.01 ^{1A}	-	0.28 \pm 0.02 ^{2A}	0.18 \pm 0.03 ^{3A}	-	-	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0.02 \pm 0.01 ^{1B}
			0.15 \pm 0.03 ^{2A}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0.19 \pm 0.04 ^{2A}	0.20 \pm 0.03 ^{3A}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}	0.30 \pm 0.02 ^{2A}	0.02 \pm 0.01 ^{1B}	0.05 \pm 0.01 ^{1B}

Annexe II : Résultats des tests phytochimiques



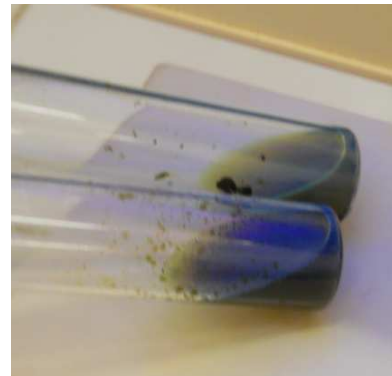
Flavonoïdes



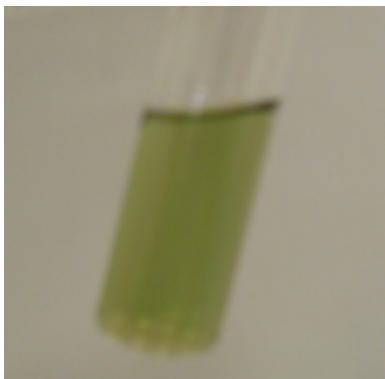
Tannins catéchiqes



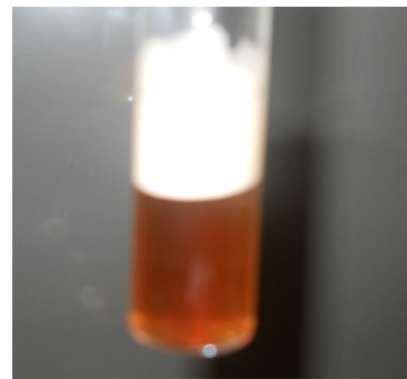
Tannins galliques



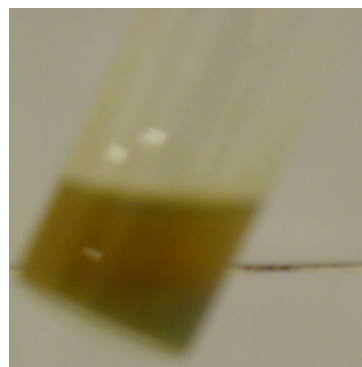
Coumarines



Stérols

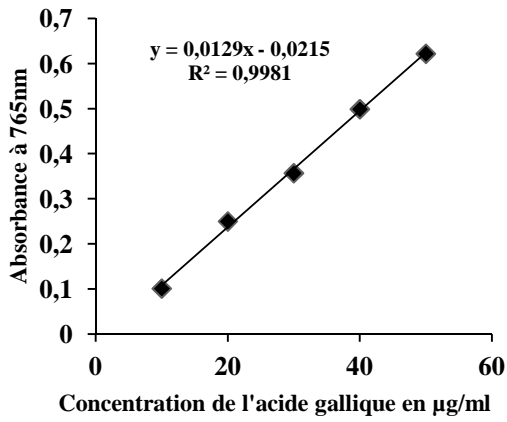


Sapnosides

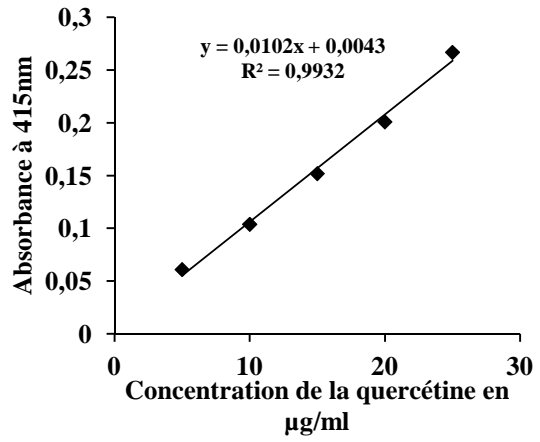


Alcaloïdes

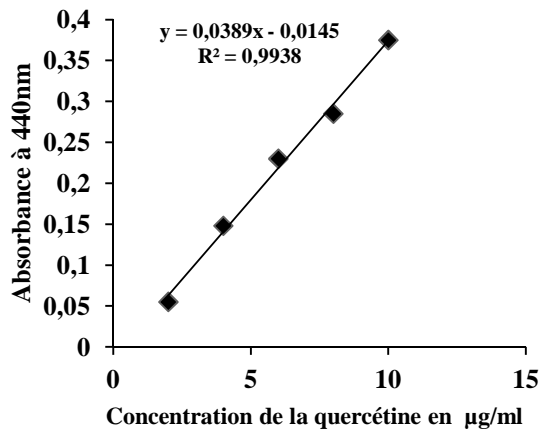
Annexe III : Courbes d'étalonnage



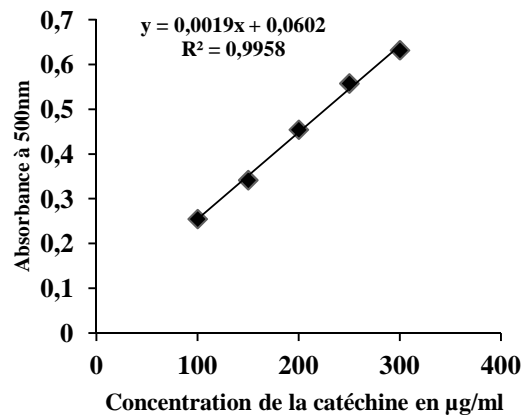
Polyphénols totaux



Flavonoïdes



Flavonols



Tannins condensés

Glossaires

Glossaire botanique

Alterne : Se dit des feuilles situées de chaque côté d'une tige mais pas l'une en face de l'autre.

Androcée : Etamines d'une fleur.

Bouture : Fragment prélevée d'une plante qui placée en terre, prend racine.

Cyme : Mode d'inflorescence constitué par un axe principal à l'extrémité duquel se trouve une fleur et qui porte également un ou plusieurs axes latéraux se ramifiant de la même manière.

Gynécée : Ensemble des carpelles d'une fleur qui constitue le pistil.

Horticulture : Science et art de la culture des fruits, des légumes, des fleurs, et des arbres fruitiers ou ornementaux.

Lancéolé : Qui a la forme d'un fer de lance.

Paniculé : Qui a des fleurs disposées en forme de panicule (grappe de forme conique).

Penné : Se dit des feuilles dont les nervures sont disposées comme les barbes d'une plume.

Pétale : Chacune des parties dont est composée la corolle d'une fleur.

Schizolysigène : Type particulier de poche à essence qui donne son aspect irrégulier à la peau d'orange.

Sépale : Chacune des pièces, des folioles du calice d'une fleur.

Vivace : Plante dont les racines vivent plus de deux ans et la tige se renouvelle chaque année.

Glossaire médicale

Abortif : Substance provoquant l'avortement.

Alopécie : Chute des cheveux.

Alzheimer : Maladie chronique du cerveau altérant les facultés cognitives de façon irréversible.

Analgésique : Qui rend insensible à la douleur.

Anticholinestérasique : Substance qui inhibe l'acétylcholinestérase, enzyme dégradant l'acétylcholine, un neurotransmetteur du système nerveux parasymphatique.

Anthelminthique (ou vermifuge) : Remède qui a la propriété d'expulser les vers intestinaux.

Anti-hypertensif : Substance capable de diminuer la tension artérielle.

Anti-inflammatoire : Produit permettant de lutter contre l'inflammation.

Antipyrétique (fébrifuge) : Substance qui combat la température du corps en cas de fièvre.

Antiseptique : Agent capable de détruire les microbes et prévient l'infection.

Antispasmodique : Qui sert contre les spasmes (contraction involontaire des muscles).

Antivenimeux : Qui sert à combattre contre les effets du venin.

Anxiolytique : Remède destinée à calmer l'anxiété et l'émotivité.

Aphrodisiaque : Substance qui excite le désir sexuel.

Arthrite : Inflammation douloureuse des articulations.

Ascite : Accumulation d'eau dans le péritoine (membrane tapissant la cavité abdominale).

Athérogenèse : Formation de la plaque de l'athérome.

Cancer : Prolifération incontrôlée et anarchique des cellules anormales qui ont la capacité d'envahir des tissus sains et peuvent se disséminer dans l'organisme.

Cataplasme : Compresse aux propriétés calmantes, utilisée en application sur la peau.

Cataracte : Opacité du cristallin entraînant une baisse progressive de la vue qui peut évoluer vers la cécité.

Cholérétique : Substance qui stimule la sécrétion de la bile.

Convulsions : Contraction involontaire et saccadée des muscles.

Cytotoxique : Qui a un pouvoir destructeur envers les cellules.

Diurétique : Substance qui augmente la sécrition de l'urine.

Eczéma : Maladie inflammatoire de la peau chronique et non contagieuse, causée par des allergies et par une hypersensibilité.

Emménagogue : Substance qui favorise l'écoulement des menstrues.

Epilepsie : Maladie cérébrale caractérisée par des convulsions.

Hémorroïde : Varice des veines de l'anus.

Herpès : Eruption cutanée douloureuse provoquée par le virus *Herpes simplex*.

Hystérie : Maladie nerveuse caractérisée par l'exagération de l'expression affective et intellectuelle qui peut se manifester sous forme organique ou psychique.

Immunostimulant : Produit qui stimule les réactions immunitaires.

Insomnie : Trouble caractérisée par la difficulté de trouver le sommeil.

Larvicide : Caractéristique d'un produit capable de détruire les larves des insectes.

Laxatif : Substance qui facilite le transit intestinal.

Liniment : Médicament onctueux pour faire des frictions.

Lymphome T : Tumeur cancéreuse des lymphocytes T.

Mutagène : Agent chimique, physique, ou biologique susceptible de provoquer une mutation.

Mycosis fongoïde : Maladie chronique de la peau caractérisée par un prurit intense, des éruptions, des plaques rouges, puis la formation des tumeurs.

Néphrite : Inflammation du rein.

Nervosité : Etat d'énervement.

Névralgie : Douleur vive sur le trajet des nerfs.

Otite : Inflammation de l'oreille.

Parkinson : Maladie du système nerveux caractérisé par un tremblement des mains et une rigidité musculaire qui donne une attitude figée.

Photosensibilisation : Hypersensibilité de la peau aux rayonnements solaires qui entraînent une réaction allergique.

Psoriasis : Dermatose caractérisée par l'apparition de plaques rouges ; luisantes, recouvertes de squames sèches, brillantes et blanches.

Puvathérapie : Méthode thérapeutique utilisant les rayonnements UVA et les psoralènes.

Rhumatisme : Maladie aiguë ou chronique caractérisée par des douleurs au niveau des articulations et des muscles.

Rubéfiant : Substance dont l'application sur la peau provoque une rougeur passagère.

Rubéole : Maladie virale contagieuse de courte durée, caractérisée par une éruption de boutons rosés, quelquefois accompagnés par un peu de fièvre, un mal de gorge et une inflammation des ganglions lymphatiques derrière les oreilles.

Scarlatine : Maladie contagieuse caractérisée par des plaques rouges sur la peau. Elle est provoquée par la diffusion dans l'organisme des toxines secrétées par les streptocoques de groupe A.

Sialogogue : Substance qui augmente la production de la salive.

Ulcère : Plaie caractérisée par une perte des substances du tissu recouvrant la surface du ou les muqueuses de l'organisme.

Varice : Dilatation anormale des veines.

Veinotonique : Molécule qui augmente la tonicité des parois veineuses.

Vertiges : Etat dans lequel tout semble tourne autour de soi.

Vitiligo : Trouble de la pigmentation de la peau qui présente des plaques décolorés.

Résumé: Le but du présent travail est d'évaluer la composition chimique des extraits de *Ruta chalepensis* L. cultivée et sauvage obtenus par trois solvants de polarités différentes (acétone, éthanol, et eau distillée) et d'étudier leurs activités antioxydants et antimicrobienne. Les extraits éthanoliques et acétoniques montrent la présence des flavonoïdes, des tannins, des coumarines, des saponines, des alcaloïdes, et des stéroïls/tri-terpènes. Ces derniers sont absents dans les extraits aqueux qui contiennent les saponines en abondance. Les extraits éthanoliques contiennent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($65,34 \pm 2,73$ et $72,085 \pm 1,94$ mg EAG/g MS) et en tannins condensés ($6,81 \pm 0,44$ et $3,155 \pm 0,2$ mg ECat/g MS). La teneur en flavonoïdes la plus élevée est enregistrée avec l'extrait éthanolique de la variété sauvage ($31,9 \pm 2,12$ mg EQ/g MS) qui constitue également l'extrait le plus riche en flavonols ($13,22 \pm 0,86$ mg EQ/g MS). Les extraits montrent une activité antioxydants remarquable, les extraits éthanoliques et acétoniques en sont les plus puissants. Une corrélation non significative est obtenue entre l'activité antioxydants et les teneurs en polyphénols totaux ainsi que les teneurs en tannins condensés. Les flavonoïdes exercent la quasi-totalité de l'activité antioxydants des polyphénols qui présentent une corrélation significative avec tous les tests antioxydants. Les extraits éthanolique et acétonique sont les extraits actifs contre les souches bactériennes testées, l'extrait acétonique de la variété cultivée est le plus actif. *A.niger* et *A.flavus* se sont montrées résistantes et uniquement *C.albicans* s'est montrée sensible aux extraits.

Mots clés: *Ruta chalepensis* L., Métabolites secondaires, Analyse phytochimique, Activité antioxydants, Activité antimicrobienne.

Abstract: The aim of the present work is to set a phytochemical screening of the cultivated and wild growing *Ruta chalepensis* L. extracts obtained by three solvents of different polarities (acetone, ethanol, and distilled water), and to study their antioxidant and antimicrobial activities. Ethanol and acetone extracts showed the presence of flavonoids, tannins, coumarins, saponins, alkaloids and sterols/triterpenes. The last compounds were absent in the aqueous extracts which contain more saponins. The ethanol extracts had the highest total phenolic content ($65,34 \pm 2,73$ and $72,085 \pm 1,94$ mg GAE/g DW) and condensed tannins ($6,81 \pm 0,44$ and $3,155 \pm 0,2$ mg CE/g DW). The highest flavonoids content was recorded with the ethanol extract of the wild growing one ($31,9 \pm 2,12$ mg QE/g DW) which is also the richest one in flavonols ($13,22 \pm 0,86$ mg QE/g DW). The extracts showed a moderate antioxidant activity. Ethanol and acetone extracts were the most strong that showed the highest antioxidant capacity. The phenolic and condensed tannins content do not correlate significantly with antioxidant activity. However, the last correlate significantly with flavonoids content which assured the biggest part of phenolic compounds antioxidant activity. Ethanol and acetone extracts were the most active against all bacterial strains tested in this work of which, acetone extract of the cultivated *Ruta chalepensis* L. were the most active. *A.niger* and *A.flavus* were resistant to the extracts and only *C.albicans* was sensitive.

Keywords: *Ruta chalepensis* L., Secondary metabolites, Phytochemical screening, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

الملخص

كان الغرض من هذه الدراسة تقييم التركيب الكيميائي لمستخلصات نبتة السذاب (*Ruta chalepensis* L) المزروعة والبرية التي تم الحصول عليها باستعمال ثلاث مذيبات ذات قطبية مختلفة (الأسيتون، الإيثانول والماء المقطر) ودراسة أنشطتها المضادة للأكسدة والمضادة للجراثيم. أظهرت مستخلصات الإيثانول والأسيتون وجود مركبات الفلافونويد، التانين، الكومارين، الصابونين، القلويدات، والستيروول / الترتريبينات. هذه الأخيرة غائبة في المستخلصات المائية التي تحتوي على الصابونين بوفرة. مستخلصات الإيثانول تحتوي على أعلى مستويات من متعدد الفينول (65.34 ± 2.73 و 72.085 ± 1.94 مغ / غ من المسحوق) و من التانين (6.81 ± 0.44 و 3.155 ± 0.2 مغ / غ من المسحوق). مستخلص الإيثانول للنوع البري أعطى أعلى محتوى الفلافونويد (31.9 ± 2.12 مغ / غ من المسحوق) الذي هو أيضا الأغنى في الفلافونول (13.22 ± 0.86 مغ / غ من المسحوق). أظهرت مستخلصات الأسيتون والإيثانول نشاطا مضادا للأكسدة هاما. لا يوجد ارتباط كبير بين النشاط المضاد للأكسدة ومحتويات متعدد الفينول والتانين. الفلافونويد تمارس تقريبا كل النشاط المضاد للأكسدة لمتعدد الفينول التي لها ارتباط كبير مع جميع الاختبارات. مستخلصات الإيثانول والأسيتون فعالة ضد السلالات البكتيرية المختبرة. مستخلص الأسيتون للنوع المزروع هو الأكثر نشاطا وقد أثبتت *A.flavus* و *A.niger* مقاومة وكانت فقط *C. albicans* حساسة للمستخلصات.

كلمات المفاتيح: *Ruta chalepensis* L ، المركبات الثانوية ، التحليل الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات .