



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

Mémoire de Master

Discipline : Sciences de la Nature et de la vie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

*Activités antioxydants des polyphénols et de l'huile
essentielle de *Ruta chalepensis**

Présenté par :

M^{elle} BOUREBABA Lynda

M^{elle} BOULEMREDJ Zina

Membre de Jury :

Présidente : M^{me} Abderrahim S.

Promotrice : M^{me} Bedjou F.

Examineurs : - M^f Harfi T.

- M^{me} Bennai Y.

Grade et lieu

M.A.A (UAMB)

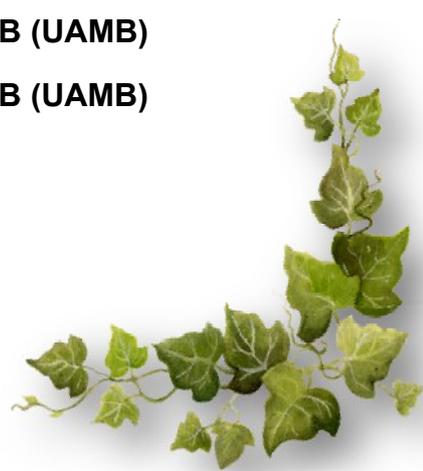
M.C.A (UAMB)

M.A.B (UAMB)

M.A.B (UAMB)



Année universitaire : 2011/2012





Remerciements

*Louange à ALLAH, le miséricordieux, qui nous a donné patience et courage,
afin d'achever ce travail.*

*Nous remercions tous particulièrement notre promotrice, Dr Bedjou F. pour
l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'elle nous
a apporté, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener
à bien ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Co-promotrice, M^{me} Bennai Y.
pour nous avoir guidé de la meilleure façon qui soit.*

Merci à M^{me} Ouqil N. pour nous avoir accueillie au sein de son laboratoire.

*Nous remercions également M^{me} Abderrahim S., et M^r Harfi T. qui nous ont fait
l'honneur de juger ce travail.*

*Merci également à : M^{me} Ait Habib N., M^{elle} Adrar S., M^{elle} Belhadi S., M^{elle}
Bensalem S., M^{me} Galloul S. et M^r Chikhoun A.*

*A toute personne ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous
ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragements durant la réalisation
de ce travail.*

Lynda B. et Zina B.





Dédicaces



Avec ma gratitude et tous mon amour, je dédie ce travail à :

Mes très chers parents, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect, j'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

Mes très chères sœurs : Naima, Yasmina et Nabila, pour leurs conseils et leurs encouragements.

Mes amies.

A toute la promotion Pharmacologie moléculaire « 2012 ».

Lynda B.





Dédicaces



*Louange à ALLAH, le miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bien faits,
Je lui rends grâce.*

Je dédie ce modeste travail à :

*Ma mère, pour son affection, son soutien, ses efforts et sacrifices qu'elle a
entrepris afin de me voir réussir.*

A la mémoire de mon regretté père, que j'aurai tant espéré me voir réussir un jour.

Mes frères : Ismail, Abdessalem, et Nouredine.

Mes sœurs : Sabiha et Dounia pour leurs conseils et leurs encouragements.

Mes belles sœurs : Malika et Noura

*Mes nièces et neveux : Salsabil, Farah, Alaaeddin, Anfal, Ichram et
Abderrahiman*

A tout le reste de ma famille.

Mes copines de chambre et mes amies.

A toute la promotion Pharmacologie moléculaire « 2012 ».

*A toute les personnes que j'aime et qui m'aime, et tous ceux qui m'ont aidé de
prés ou de loin.*

Zina B.



Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

DL50 : Dose létale 50

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EethOH : Extrait éthanolique

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

GPx : Glutathion peroxydase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

HE : Huile essentielle

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

KCl : Chlorure de potassium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

O₂ : Oxygène

O₂^{•-} : Ion superoxyde

PhOH : polyphénol

PTZ: Pentylentetrazole

R[•] : Radical

RL : Radical libre

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloroacétique

Liste des figures

Figure n° 1 : Photographies de différentes espèces de Rutacées.....	
.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure n° 2 : Photographies de <i>Ruta chalepensis</i> , (A et B : Parties aériennes; C : Fleurs; D : Feuilles).....	4
Figure n° 3 : Représentation géographique de la distribution de <i>Ruta chalepensis</i>	7
Figure n° 4 : Structures chimiques de la Graveoline (A) et de la Graveolinéine (B).....	8
Figure n° 5 : Structures chimiques du Psoralen (A), du Bergapten (B) et de l'Isopimpinellin (C).....	8
Figure n° 6 : Structure chimique de la Rutine.....	9
Figure n° 7 : Structures chimique du P 2-undécanone (A), du 2-décanol (B) et du 2-nonanone (C).....	10
Figure n° 8 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène.....	15
Figure n° 9 : Principales cibles des ERO.....	16
Figure n° 10 : Sites d'action des nutriments antioxydants et des enzymes.....	17
Figure n° 11 : Réaction entre l'acide ascorbique et un radical (R [•]).....	18
Figure n° 12 : Réaction entre un composé phénolique et un radical (R [•]).....	19
Figure n° 13 : Photographies de la partie aérienne de <i>Ruta chalepensis</i>	20
Figure n° 14 : Localisation géographique du lieu de récolte de <i>Ruta chalepensis</i> ...	20
Figure n° 15 : Protocole d'extraction des huiles essentielles.....	22
Figure n° 16 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	23
Figure n° 17 : Protocole de dosage des composés phénoliques.....	24
Figure n° 18 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de <i>Ruta chalepensis</i> par la méthode du DPPH.....	26
Figure n° 19 : Protocole de l'évaluation du pouvoir réducteur de <i>Ruta chalepensis</i> .	27

Figure n° 20 : Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de <i>Ruta chalepensis</i>	29
Figure n° 21 : Huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i>	30
Figure n° 22 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	32
Figure n° 23 : Représentation graphique du taux de composés phénoliques de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i>	33
Figure n° 24 : Formes oxydée et réduite du radical stable DPPH.....	34
Figure n° 25 : Activité scavenging du DPPH des antioxydants de synthèse.....	35
Figure n° 26 : Activité scavenging du DPPH de l'extrait éthanolique de <i>Ruta chalepensis</i>	35
Figure n° 27 : Activité scavenging du DPPH de l'huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i>	38
Figure n° 28 : Activité scavenging du DPPH de l'huile essentielle et des polyphénols de <i>Ruta chalepensis</i>	39
Figure n° 29 : Pouvoir réducteur des polyphénols et de l'huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i>	40
Figure n° 30 : Pouvoir réducteur de l'antioxydant de synthèse Tocophérol.....	40
Figure n° 31 : Pouvoir réducteur des antioxydants de synthèse (Quercétine et Acide gallique).....	41

Liste des tableaux

Tableau I : Classification taxonomique de <i>Ruta chalepensis</i>	5
Tableau II : Principaux noms vernaculaires de <i>Ruta chalepensis</i>	5
Tableau III : Principales caractéristiques des différentes parties de <i>Ruta chalepensis</i>	6
Tableau IV : Valeurs des IC ₅₀ des antioxydants standards et des polyphénols de <i>Ruta chalepensis</i>	37

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

*Chapitre I : Généralités sur *Ruta chalepensis**

I. Etude botanique de <i>Ruta chalepensis</i>	3
I.1. Présentation de la famille des rutacées	3
I.2. Présentation de l'espèce <i>Ruta chalepensis</i>	4
I.2.1. Description générale	4
I.2.2. Systématique de <i>Ruta chalepensis</i>	5
I.2.3. Noms vernaculaires de l'espèce.....	5
I.2.4. Caractéristiques des différentes parties de la plante.....	5
I.2.5. Distribution générale de <i>Ruta chalepensis</i>	7
II. Phytochimie de <i>Ruta chalepensis</i>	7
- Des alcaloïdes	8
- Des coumarines	8
- Des flavonoïdes	9
- Des huiles essentielles.....	9
- Autres composés	10
III. Intérêt thérapeutique et toxicité de <i>Ruta chalepensis</i>	10
III.1. Intérêt thérapeutique.....	10
- Dans la médecine traditionnelle	10
- Dans la médecine moderne (études scientifiques).....	11
- Effet anti-inflammatoire	11
- Effet analgésique	11
- Effet antipyrétique	12
- Effet anticonvulsivant	12
- Etudes hématologiques	12
- Effet antispasmodique	12

III.2. Toxicité de <i>Ruta chalepensis</i>	13
--	----

Chapitre II : Radicaux libres et Antioxydants

I. Les radicaux libres (RL).....	14
I.1. Définition.....	14
I.2. Production des radicaux libres.....	14
I.3. Le stress oxydant.....	15
I.4. Conséquences du stress oxydant.....	16
II. Les Antioxydants.....	16
II.1. Antioxydants endogènes.....	17
II.2. Antioxydants exogènes.....	18
- Les polyphénols	18
- La vitamine C (acide ascorbique).....	18
- Les huiles essentielles	19

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Préparation du matériel végétal.....	20
I.1. Récolte et identification de la plante.....	20
I.2. Séchage et broyage	20
II. Méthodes.....	21
II.1. Test d'humidité.....	21
- Principe.....	21
- Mode opératoire	21
II.2. Extraction des substances bioactives.....	22
II.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	22
- Mode opératoire	22
- Calcul du rendement	22
II.2.2. Extraction des composés phénoliques totaux.....	23
- Mode opératoire.....	23
- Calcul du rendement.....	23

II.3. Dosage des composés phénoliques totaux.....	24
- Principe.....	24
- Mode opératoire.....	24
- Expression des résultats.....	25
II.4. Evaluation de l'activité antioxydant.....	25
II.4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH.....	25
- Principe.....	25
- Mode opératoire.....	25
- Expression des résultats... ..	26
II.4.2. Détermination du pouvoir réducteur.....	26
- Principe.....	26
- Mode opératoire.....	27
- Expression des résultats.....	28

Résultats et discussion

I. Détermination du taux d'humidité.....	29
II. Rendement d'extraction en huile essentielle.....	29
III. Taux d'extraction des composés phénoliques totaux	31
IV. Dosage des composés phénoliques	31
IV.1. Dans l'extrait éthanolique.....	32
IV.2. Dans l'huile essentielle.....	33
V. Activités antioxydants.....	34
V.1. Activité scavenging du DPPH.....	34
V.1.1. L'extrait éthanolique.....	35
- Détermination de l'IC ₅₀ (Concentration inhibitrice à 50%)	36
V.1.2. L'huile essentielle.....	38
- Comparaison entre les polyphénols et l'huile essentielle de Ruta chalepensis... ..	39
V.2. Le pouvoir réducteur... ..	40
Conclusion et perspectives	43
Références bibliographiques	

Synthèse
Bibliographique

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux (**Gurif, 2006**).

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances bioactives (**Bouزيد., et al., 2011**).

Bien qu'une grande partie du XX^{ème} siècle fut consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a permis de découvrir un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies (**Gurif, 2006**).

Le stress oxydatif est défini comme étant une oxydation excessive due à un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes ou formes réactives de l'oxygène (FRO) et celle des systèmes antioxydants. Les FRO sont responsables de dénaturation et de dégradation de molécules biologiques et sont produites au cours de divers processus biologiques par un grand nombre de cellules (**Pasquier, 1995**).

Il semble donc important de tester l'effet thérapeutique des molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse, qui peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives, des cancers et du vieillissement, à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles, et à doses modérées car la production basale de radicaux libres est indispensable à de nombreuses fonctions et ne doit pas être supprimée (**Favier, 2006**).

Ruta chalepensis est une herbe aromatique persistante appartenant à la famille des Rutacées, caractérisée par la présence de glandes à huile principalement présentes dans les feuilles, ayant une forte odeur et qui est largement répandue dans les régions méditerranéennes.

Cette espèce est l'une des plantes, les plus souvent utilisées dans la médecine populaire de nombreux pays pour ses effets emménagogue, antihelminthique, anti-inflammatoires et spasmolytiques (**Fakhfakh et al., 2012**).

La présente étude a été consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant de différents extraits de *Ruta chalepensis* d'Algérie.

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Extraction de l'huile essentielle et des polyphénols de la plante.
- Dosage des composés phénoliques totaux à partir des deux extraits.
- Evaluation de l'effet anti-radicalaire de ces extraits en utilisant un radical synthétique (DPPH).
- Evaluation de l'effet réducteur de ces mêmes extraits en utilisant le système FRAP.

Chapitre I
Généralités sur Ruta chalepensis

I. Etude botanique de *Ruta chalepensis*

I.1. Présentation de la famille des rutacées :

La famille des rutacées se compose d'environ 150 genres et plus de 1500 espèces. Ces plantes se distribuent dans les régions tropicales et tempérées, et particulièrement en Australie et en Afrique du Sud. Pratiquement 25 genres et plus de 80 espèces de cette famille ont été jusqu'ici rapportés d'Inde (**Sharma, 1993**).

Cette famille comprend essentiellement tous les *Citrus* (Oranger, Citronnier...); le genre *Ruta* (Figure n° 1) et *Zanthoxylum*. Ces genres partagent tous un caractère ligneux (même si la rue (*Ruta*) ne se lignifie qu'après une phase de croissance à l'état herbacé), une morphologie florale similaire, et la présence d'un type bien particulier de poches à essences (**Gravot, 2002**) sous forme de pointillés très translucides dans les feuilles (**Sharma, 1993**) appelés poches schisolysigènes, dont la formation résulte à la fois de la division et de la lyse de cellules parenchymateuses, et qui donnent son aspect irrégulier à la peau d'orange (**Gravot, 2002**). Ils sont donc riches en huiles essentielles, renferment un pourcentage élevé en vitamine C, et contiennent entre autres plusieurs alcaloïdes (**Sharma, 1993**).



Citrus sinensis (**Lambert, 2011**)



Citrus medica (**Tasset, 2007**)



Ruta graveolens (**Richerdeforges, 2011**)

Figure n° 1 : Photographies de différentes espèces de Rutacées.

I.2. Présentation de l'espèce *Ruta chalepensis*

I.2.1. Description générale

Ruta chalepensis (Figure n° 2) est un petit arbuste indigène d'environ 30 à 80 cm de haut (Bock, 2011), largement répandu dans les régions méditerranéennes ainsi que dans les pays tempérés et tropicaux (Gunaydin *et al.*, 2005 ; Tounsi *et al.*, 2011).

Cette plante qui se trouve habituellement sur les pentes rocheuses (Iauk *et al.*, 2004) est caractérisée par des feuilles de couleur verte-bleuâtre, émettant une forte odeur désagréable et qui ont un goût amer (Brener, 1985 ; Tounsi *et al.*, 2011). Ces feuilles portent également des glandes à huile responsables de cette odeur (Gunaydin *et al.*, 2005).

Les tiges de l'arbuste sont glabres et portent des fleurs jaunes organisées en cymes avec des pétales dentés (Brener, 1985 ; Gunaydin *et al.*, 2005).



A (Bock, 2001)



B (Tasset, 2004)



C (Tasset, 2004)



D (Bock, 2004)

Figure n° 2 : Photographies de *Ruta chalepensis*, (A et B : Parties aériennes; C : Fleurs; D : Feuilles).

I.2.2. Systématique de *Ruta chalepensis*

Tableau I : Classification taxonomique de *Ruta chalepensis* (Bock, 2011)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Rosidaeae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta chalepensis</i>

I.2.3. Noms vernaculaires de l'espèce

Tableau II : Principaux noms vernaculaires de *Ruta chalepensis*

Langue	Nom	Référence
Français	Rue de chalep	(Bock, 2011)
Berbère	Aourmi	(Lamnauer et Batanouny, 2005)
Arabe	Fijel	
Anglais	Fringed Rue	(Bock, 2011)
Espagnole	Ruda	
Italien	<i>Ruta d'Aleppo</i>	

I.2.4. Caractéristiques des différentes parties de la plante

Les principaux caractères, qui distinguent cette espèce des autres, résident dans les lobes de la capsule rapprochés et non séparés ainsi que dans les pétales dentées et ciliées à leurs bord (Lamarck, 1804).

Le tableau n° III résume les caractéristiques propres à chaque organe de la plante :

Tableau III : Principales caractéristiques des différentes parties de *Ruta chalepensis*

Organe	Caractéristiques	Référence
Tiges 	Tiges droites, rameuses, cylindriques, dures, glabres, hautes de trois à quatre pieds, d'un verre glauque. Egalement non glanduleuses.	(Lamarck, 1804). (Bock, 2011).
Feuilles 	Feuilles amples de six (06) millimètres de larges, à folioles ovales-oblongues, Cunéiformes, glauques et parfois presque linéaires. Les folioles inférieures en forme de stipules sont pétiolulées. De couleur verte-bleuâtre, de goût amère et d'odeur forte relativement désagréable Portent des glandes à huiles de type schisolysigènes.	(Bock, 2011). (Lamarck, 1804). (Bock, 2011). (Tounsi et al., 2011). (Gravot, 2002).
Fleurs 	Il s'agit de fleurs jaunes, grandes, bractées, ovales ou lancéolées, souvent en cœur à la base et beaucoup plus larges que le rameau ou le pédoncule qui les porte. Leur taille avoisine les uns (01) centimètre de diamètre. Disposés en corymbes à l'extrémité des tiges et des rameaux; leur calice est court, glabre, ovale et à cinq divisions; la corole est jaune à cinq pétales concaves, ondulées, denticulées, et ciliées à leurs bords. Elles portent huit à dix (8 à 10) étamines ainsi qu'un ovaire supérieur.	(Bock, 2011) (Brener, 1985). (Lamarck, 1804). (Gunaydin et al., 2005).
Fruits 	Les fruits sont des follicules à graines noires. Ils se présentent sous forme de capsule globuleuse d'environ six (6) à neuf (9) millimètres de diamètre.	(Lièvre, 2004) (Lamnauer et Batanouny, 2005)

I.2.5. Distribution générale de *Ruta chalepensis*

Ruta chalepensis est une plante spontanée, largement répandue en Afrique du nord et plus particulièrement en Algérie (Figure n° 3). On la rencontre fréquemment dans les rocailles, les pelouses et les coteaux secs. En Algérie, cette plante est aussi cultivée dans les jardins (**Merghache et al., 2009**).

On la retrouve également en Europe du sud et dans les pays subtropicaux de manière générale. Cette plante est adaptée aux secteurs qui sont situées à environ 1000m au-dessus du niveau de la mer avec précipitations et lumière du soleil modérées (**Joy et al., 2001**).

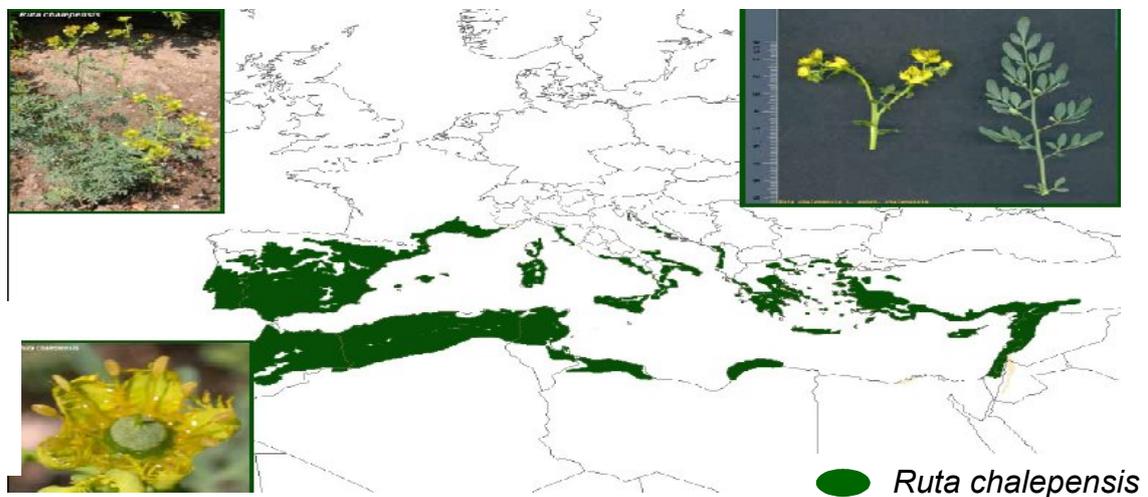


Figure n° 3 : Répartition géographique de la distribution de *Ruta chalepensis*
(**Mansion et al., 2005**)

II. Phytochimie de *Ruta chalepensis*

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires (**Daayf et Lattansio, 2008**), ainsi l'action de la phytothérapie sur l'organisme dépendra de la composition chimique de ces plantes et de leurs teneur en ces métabolites (**Zeghad, 2009**).

Ruta chalepensis est une source riche en métabolites secondaires importants tels que des furanocoumarines, des alcaloïdes et bien d'autres substances (Annexe I). Plusieurs études réalisées sur la plante ont clairement indiqué que son utilisation en thérapeutique était justifiée en raison de sa composition (**Gunaydin et al., 2005**).

Le screening phytochimique des différentes parties de *Ruta chalepensis* a révélé la présence essentiellement :

↳ Des alcaloïdes : de manière générale les alcaloïdes sont des substances d'origine naturelle retrouvées dans environ 20% des espèces végétales, azotées et basiques (Facchini, 2001 ; Vercauteren, 2012).

Ruta chalepensis est une source riche en plusieurs alcaloïdes (El Sayed et al., 2000), elle renferme environ une teneur moyenne de 0,4 à 1,4% d'alcaloïdes ; avec principalement :

- Les quinoline alcaloïdes: Graveoline (rutamine) et graveolineine (Anton et al., 2009).
- Les Furoquinoline alcaloïdes: Skimmianine, gamma-fagarine, dictamine, kokusaginine, pteleine (Figure n° 4).
- Quinazoline alcaloïdes : comme l'arborine (Tounsi et al., 2011).



Figure n° 4 : Structures chimiques de la Graveoline (A) et de la Graveolinéine (B) (An et al., 2010)

↳ Des coumarines : les Coumarines sont un groupe de composés dérivant du 1,2-benzopyrone et qui sont largement distribués dans le règne végétal comme la cannelle, la lavande et la menthe poivrée (Mladenka et al., 2010).

L'étude des coumarines de *Ruta chalepensis* a permis d'identifier :

- Des furanocoumarines : la xanthotoxine, la bergaptène, la chalepentin, l'isopimpinelline, et le psoralen (Figure n° 5).
- Des coumarines glucosidiques : la rutarensine, et la daphnorétine (Lamnaouer, 2002).

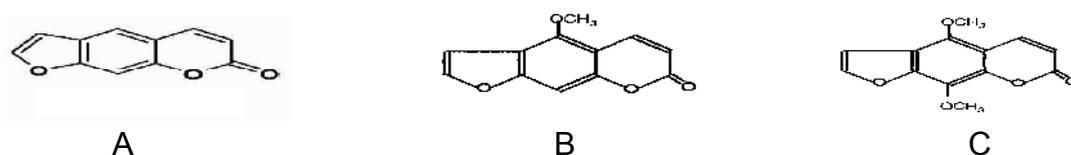


Figure n° 5 : Structures chimiques du Psoralen (A), du Bergapten (B) et de l'Isopimpinelline (C) (Milesi et al., 2001).

↳ Des flavonoïdes : Les flavonoïdes sont un groupe de composés polyphénoliques produits naturellement par les plantes et que l'on retrouve dans une vaste gamme de denrées alimentaires d'origine végétale (fruits et légumes) (**Ren et al., 2003**).

Ruta chalepensis produit majoritairement un flavonoïde qui est la rutine (**2-5%**): Toutes les parties de la plante renferment ce glucoside (Figure n° 6) qui est aussi appelé « vitamine P » isomère de la Quercétine (**Attou, 2011**).

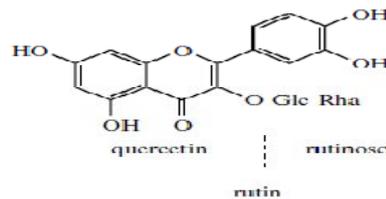


Figure n° 6 : Structure chimique de la Rutine (**Attou, 2011**)

↳ Des huiles essentielles : Ce sont des substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des plantes. Elles sont très concentrées, volatiles, généralement huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (**Turgeon, 2001**).

Ces substances n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs comme les Myrtacées, les Lauracées, les Composées et les Rutacées. Elles peuvent être stockées dans tous les organes de ces plantes (fleurs, feuilles,...) et leur synthèse et localisation sont souvent associées à la présence de structures histologiques spécialisées (poches schisolytiques des Rutacées par exemple) (**Bruneton, 1999**).

- *Ruta chalepensis*, est une plante aromatique largement exploitée pour ces huiles essentielles destinées à la parfumerie et à l'industrie agroalimentaire.

La composition chimique ainsi que le rendement des huiles essentielles de cette espèce varie avec le lieu et la période de récolte, mais de manière générale *Ruta chalepensis* renferme environ **0.1% à 1.13%** d'huile essentielle. La composition chimique des huiles essentielles varie avec le lieu de récolte ; Il a été rapporté que le 2-undécane est le constituant majoritaire de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* de provenance d'Argentine (38.1%), de Turquie (66.5%), d'Iran (52.5%) et d'Inde (4.3 - 67.8%) (**Merghache et al., 2009**).

Quant à l'huile essentielle provenant d'Arabie Saoudite, le pourcentage en 2-undécanone est inférieur ou égal à 4.5%.

Cependant l'huile essentielle provenant d'Italie contient deux constituants majoritaires : le 2-nonanone (49.9 %) et le 2-undécanone (30.0 %).

Les analyses des constituants volatils des différentes parties de la plante originaire d'Algérie (Annexe II) montrent que les fleurs possèdent un seul constituant majoritaire : le 2-undécanone (68.95%) et que les feuilles et les tiges sont riches en 2-undécanone (40.61% et 38.38% respectivement), 2-nonanone (12.45% et 18.16% respectivement) et le 1-décanol (26.32% et 8.40% respectivement) (Figure n° 7) (Merghache *et al.*, 2009).

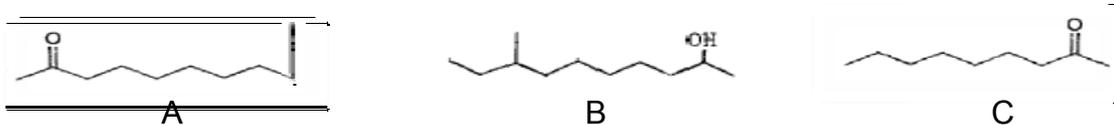


Figure n° 7 : Structures chimiques du 2-undécanone (A), du 2-décanol (B) et du 2-nonanone (C) (Abrams *et Shaw* 1987).

↳ Autres composés : Les feuilles et les jeunes tiges de *Ruta chalepensis* contiennent également une certaine proportion d'acides aminés, de saponines (Zeichen de Sa *et al.*, 2000), de glycosides, de stérols et de triterpènes (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2006).

III. Intérêt thérapeutique et toxicité de *Ruta chalepensis*

III.1. Intérêt thérapeutique

Une plante médicinale, répond elle aussi à la définition du médicament. Elle est à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de préparation galéniques ou de substances actives (Lamnaouer, 2002).

Ruta chalepensis est l'une des plantes médicinales les plus fréquemment utilisées à des fins thérapeutiques (Ben Bnina *et al.*, 2010).

↳ Dans la médecine traditionnelle :

Ruta chalepensis est employée dans la médecine traditionnelle de beaucoup de pays pour le traitement d'une série de maladies (Mansour *et al.*, 1990).

- La rue est très utilisée en Algérie à des fins diverses: Fébrifuge ; anti venin local ; dans le traitement des nausées, des vomissements, des constipations et du paludisme ; pour soigner les anémies, les douleurs oculaires, auditives, l'asthme ainsi que les névroses (**Attou, 2011**).
- En Arabie Saoudite, la décoction de la partie aérienne de la plante est employée comme analgésique, antipyrétique et pour le traitement des rhumatismes et des troubles mentaux.
- Elle est prescrite dans la médecine indienne pour le traitement des névralgies, des désordres menstruels et autres saignement.
- En Chine, une décoction de la racine de Ruta est employée comme anti-venin. Les feuilles de cette plante infusées avec du vinaigre, sont données aux enfants pour le traitement des convulsions et autres désordres nerveux.
- Une décoction aqueuse des feuilles est employée pour le traitement des fièvres en Afrique (**Mansour et al., 1990**).

↳ Dans la médecine moderne (études expérimentales):

Ruta chalepensis et plus précisément son extrait éthanolique a été étudié pour son effet anti-inflammatoire, antipyrétique, analgésique, anticonvulsivant, antispasmodique ainsi que pour d'éventuelles effets hématologiques (**Mansour et al., 1990**).

- Effet anti-inflammatoire : L'effet anti-inflammatoire de *Ruta chalepensis* a été évalué par **Mansour et al., (1990)**, selon deux modèles inflammatoires, induits par l'injection de sel de sodium de carraghénane et l'administration sous-cutanée de granules stérilisés de coton chez des rats albinos ; les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* produit une inhibition significative des œdèmes de pattes des rats carraghénane-induits, ainsi qu'une inhibition des granulomes induits par les granules de coton chez les rats testés à une dose de 500mg/kg .

- Effet analgésique : La méthode de l'induction de la douleur par la chaleur a été employée ; et le temps de réaction à la douleur à été enregistré.

Les résultats des études de l'activité analgésique des extraits de *Ruta chalepensis* semblent indiquer que la plante est exempte de toute activité analgésique ce qui ne

justifie donc pas son utilisation contre la douleur dans la médecine traditionnelle (**Mansour et al., 1990**).

- Effet antipyrétique : D'après **Mansour et al., (1990)**, *Ruta chalepensis* possède également une excellente activité antipyrétique ; en effet son extrait éthanolique a permis une diminution significative de l'hyperthermie levure-induite chez des souris avec un passage d'une température de 36,5°C à une température de 32°C au bout de 60 minutes, après administration d'une dose de 500mg/kg. Ces résultats confirment donc l'activité antipyrétique de cette plante reconnue dans la médecine traditionnelle.

- Effet anticonvulsivant : le Pentylentetrazole (PTZ) a été employé par **Gonzalez-Trujano et al., (2006)**, pour induire des convulsions chez des souris et ainsi étudier l'effet anticonvulsivant de la rue.

L'étude a révélé que l'extrait éthanolique de *Ruta*, à des doses allant de 300 à 1000 mg/kg a retardé de manière significative le début de la première convulsion induit par PTZ. Ces résultats viennent donc renforcer le fait que les feuilles de cette plante infusées avec du vinaigre soient données aux enfants pour le traitement des convulsions dans la médecine traditionnelle.

- Etudes hématologiques : L'extrait de *Ruta chalepensis* a été étudié par **Mansour et al., (1990)**, pour ses effets sur les paramètres sanguins (temps de prothrombine et fibrinogène) à une dose de 500 mg/kg pour justifier l'utilisation de la plante dans le traitement des désordres hématologiques. Les résultats obtenus suite au protocole expérimental, ont indiqué que *Ruta chalepensis* n'induit aucun changement de ces paramètres de coagulation.

- Effet antispasmodique : **Moazedi et al., (2009)**, ont évalué l'activité spasmolytique de la plante sur l'intestin de rats sains, dont les contractions ont été provoquées par une solution de KCl, et des concentrations cumulatives d'extrait de *Ruta* ont été additionnées au milieu expérimental.

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits des feuilles de *Ruta chalepensis* ont exercé un effet antispasmodique dose-dépendant sur l'iléum des rats, avec une dose efficace de 0,04mg/ml d'extrait.

III.2. Toxicité de *Ruta chalepensis*

✓ L'effet toxique le plus connue de *Ruta chalepensis* et des autres espèces du même genre est la **phototoxicité**, qui est due à sa richesse en Furanocoumarines (psoralènes). En effet celles ci induisent, par contact des feuilles contuses suivi d'une exposition au soleil, une dermatite aiguë qui ressemble à une brûlure du premier ou du deuxième degré. Secondairement la peau gardera une hyperpigmentation qui peut persistée assez longtemps (**July, 2007**).

✓ Plus grave, après absorption digestive, ces coumarines sont toxiques pour le rein et le foie, voire cancérigènes, car elles altèrent les acides nucléiques (ADN en particulier) par formation de réticulations et d'adduits avec ces derniers et peuvent ainsi provoquer des lésions du génome (**Gunaydin et al., 2005 ; July, 2007**).

✓ L'huile essentielle provoque des contractions du muscle de l'utérus ainsi que des hémorragies utérines.

✓ Les signes d'intoxication par la rue commencent par des troubles digestifs (douleurs, vomissements, hypersalivation), qui s'accompagnent rapidement de signes de choc (hypotension, troubles cardiaques), voire de convulsions. Parallèlement on peut observer des saignements génitaux. Plus tard, et selon la gravité de l'intoxication, il peut se développer une insuffisance rénale et hépatique pouvant conduire au décès.

✓ L'empoisonnement par la rue est en général volontaire suite à l'utilisation de cette plante pour provoquer un avortement. Les femmes enceintes doivent éviter de consommer des extraits de rue même en petite quantité car des études sur l'animal ont montré que ces extraits pouvaient provoquer des malformations fœtales (**July, 2007**). En effet l'administration d'une infusion aqueuse des parties aériennes de *Ruta chalepensis* au cours de la période d'organogénèse, chez des souris gestantes, a provoqué des modifications morphologiques significatives, un retard du développement des organes (thymus) et des réflexes, un gain de poids et a produit également des changements histologiques du placenta et des fœtus (**Zeichen de Sa et al., 2000**).

Chapitre II

Radicaux libres et Antioxydants

I. Les radicaux libres (RL)

I.1. Définition

D'après **Goudable et Favier (1997)**, un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité et 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.

La réactivité chimique des radicaux libres de l'oxygène est variable selon la molécule considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxyde et hydroxyle, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène. C'est pourquoi le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est préféré à celui de radicaux libres puisque le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre.

I.2. Production des radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés.

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories :

- les sources endogènes : où les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme,
- les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à

l'origine de la production de radicaux libres, une fois dans l'organisme (**Pastre, 2005**).

La figure n° 8 résume les principales étapes de la production des espèces réactives de l'oxygène.

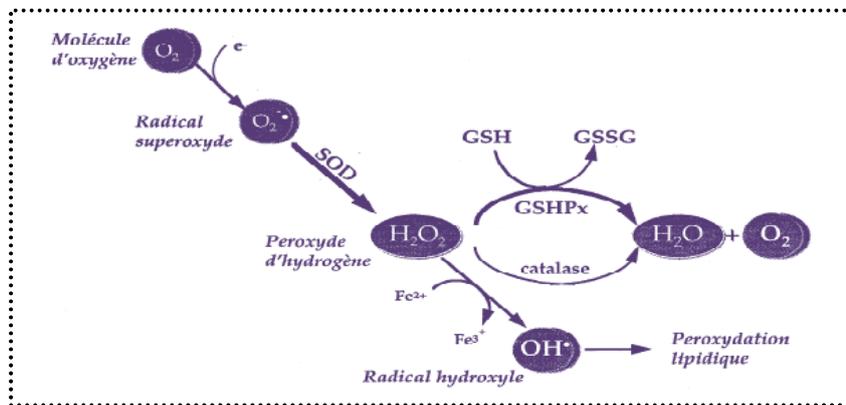


Figure n° 8 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène
(**Goudable et al., 1997**)

I.3. Le stress oxydant

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydants. Il faut souligner que les ERO peuvent d'ailleurs jouer un rôle physiologique important comme dans la phagocytose des bactéries par les cellules immunitaires.

Un stress oxydant se définira lorsqu'il y aura un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie-reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, monoamine oxydase...), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, ...). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail et al., 2008**).

I.4. Conséquences du stress oxydant

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (Figure n° 9) (Valko *et al.*, 2007).

Selon Favier, (2003), la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aigue, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

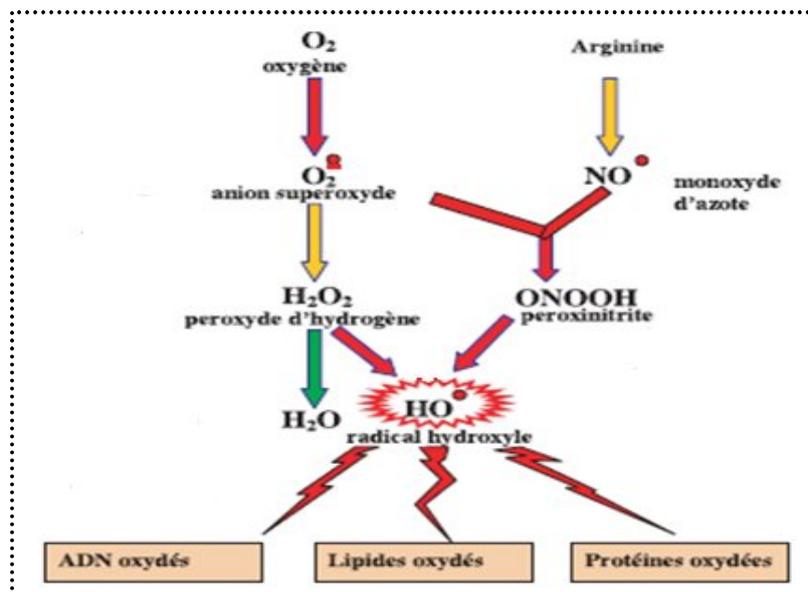


Figure n° 9 : Principales cibles des ERO (Favier, 2003)

II. Les Antioxydants

Les antioxydants sont définis par kumar *et al.*, (2012), comme étant des composés pouvant être de nature exogène ou endogène et possédant, l'un comme l'autre la capacité d'empêcher la génération des oxydants toxiques, d'arrêter ceux qui

sont déjà produits et de les inactiver, et de bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants .

Selon **Valko et al., (2006)**, un bon antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres;
- Chélater les métaux de transition;
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer;
- Etre aisément absorbé;
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles;

La figure n° 10, représente les principaux antioxydants et leurs sites d'action au niveau de l'organisme.

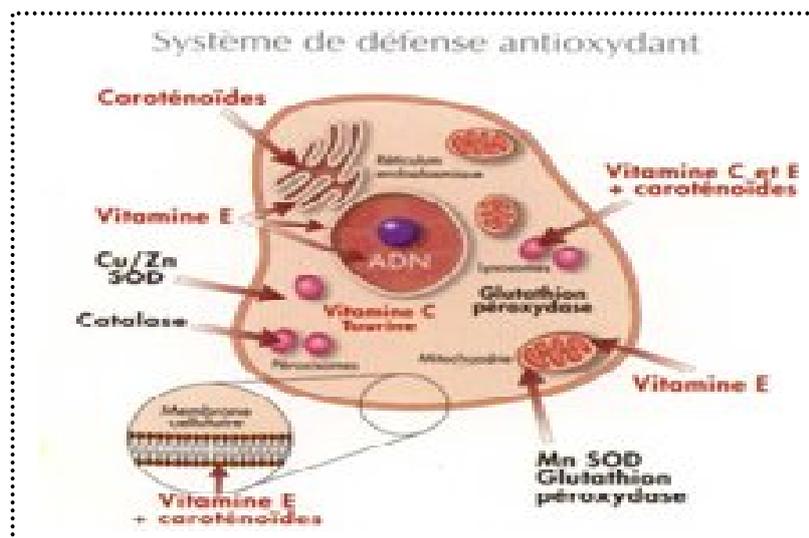


Figure n° 10 : Sites d'action des nutriments et des enzymes antioxydants (**Pastre, 2005**)

II.1. Antioxydants endogènes

Pour lutter contre l'excès de production de radicaux libres (RL), l'organisme dispose d'enzymes antioxydantes ubiquitaires tel que les superoxydes dismutases (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (**Afonso et al., 2007**), des lipases, des protéases, des endonucléases qui éliminent les molécules oxydées, mais également de systèmes non enzymatiques comme les thiols, le glutathion, la bilirubine (**Berger et Chioléro, 2001**), l'albumine et la ferritine qui complexent les ions divalents (**Pastre, 2005**).

↳ A titre d'exemple, l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces est la superoxyde dismutase, il s'agit d'une enzyme antioxydante qui catalyse la dismutation de l'ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en oxygène (O_2) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui sera transformé à son tour en $H_2O + \frac{1}{2} O_2$ par la catalase (Valko et al., 2006).

II.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants alimentaires sont essentiellement représentés par l'acide ascorbique (vitamine C), l' α - tocophérol (vitamine E), les caroténoïdes, les polyphénols ainsi que d'autres antioxydants (Valko et al., 2007).

Cette classe d'antioxydants est particulièrement intéressante puisqu'il est possible de renforcer les défenses de l'organisme en augmentant les apports exogènes de ces différentes molécules (Pastre, 2005).

↳ La vitamine C (acide ascorbique) est un antioxydant très puissant qui se concentre au niveau de l'organisme dans les milieux aqueux, ses associés antioxydants primaires sont la vitamine E et les caroténoïdes. L'acide ascorbique possède deux groupes hydroxyle ionisables. Son mécanisme d'action est représenté dans la figure n° 11 (Valko et al., 2006).

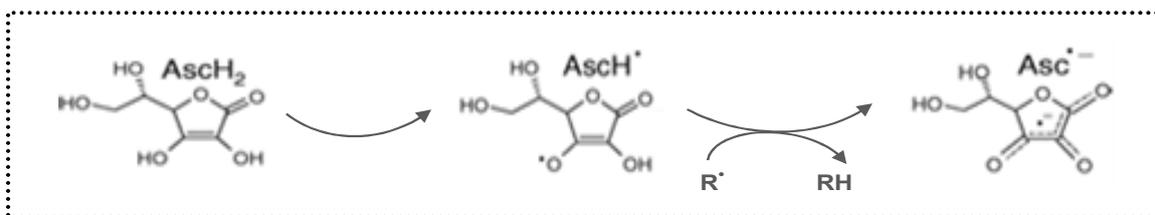


Figure n° 11 : Réaction entre l'acide ascorbique et un radical (R^{\cdot}) (Valko et al., 2006)

↳ Les polyphénols : Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et al., 2002) ; Ces composés attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, Les antioxydants phénoliques ($PhOH$) interfèrent dans l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux (Figure n° 12).

Les radicaux phénoxy intermédiaires sont relativement stables et ne pourront donc pas promouvoir d'autres réactions d'oxydation en chaîne (**Valko et al., 2006**).

Les polyphénols sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Pastre, 2005**).

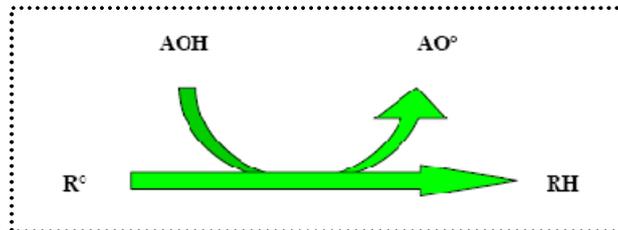


Figure n° 12 : Réaction entre un composé phénolique et un radical (R°) (**Pastre, 2005**)

↳ Les huiles essentielles : L'activité antioxydant des huiles essentielles est une propriété biologique de grand intérêt, puisque ces composés peuvent aider à la conservation des aliments des altérations provoquées par les oxydants. Ces huiles peuvent également piéger les radicaux libres dans l'organisme, et de ce fait jouer un rôle important dans la prévention de certaines maladies (**Miguel, 2010**).

De nombreux travaux sur les activités antioxydants des huiles essentielles d'une grande variété de plantes aromatiques montrent que ces propriétés sont en relation avec la structure chimique, et que ces activités sont dues essentiellement à la présence de composés qui comportent le groupement hydroxyle (**Bouzouita et al., 2008**).

Partie
Expérimentale

***Matériel
&
Méthodes***

I. Préparation du matériel végétal

I.1. Récolte et identification de la plante

La partie aérienne de *Ruta chalepensis* (Figure n°13) a été récoltée au mois de mars 2012 dans la région de THITWIKIN de la commune de Kherrata, située à 66 km de la wilaya de Bejaïa, loin de tout impact de pollution (Figure n° 14).

L'identification botanique de la plante a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie de l'université de Bejaïa.



Figure n° 13 : Photographies de la partie aérienne de *Ruta chalepensis*



Figure n° 14 : Localisation géographique du lieu de récolte de *Ruta chalepensis*

I.2. Séchage et broyage

La plante fraîchement récoltée, a été lavée à l'eau courante afin de la débarrasser des poussières et autres particules et conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré.

Une partie de la plante fut utilisée ainsi pour l'extraction de l'huile essentielle, et l'autre partie fut séchée dans une étuve à 40°C pendant une semaine avant l'extraction des composés phénoliques.

Après le séchage, le matériel végétal destiné à l'extraction des composés phénoliques a été broyé, à l'aide d'un broyeur électrique, en une poudre fine pour permettre une meilleure extraction, Cette dernière a été ensuite conservée dans des bocaux en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

II. Méthodes

II.1. Test d'humidité

a) Principe

La teneur en humidité de la plante a été déterminée selon la méthode utilisée par **Amarti et al., (2010)**. Elle consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve à 60 °C.

- Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$T_{\text{aux d'humidité \%}} = (M_f - M_s / M_f) * 100$$

Où :

M_f : poids de la matière fraîche exprimé en grammes.

M_s : poids de la matière sèche exprimé en grammes.

b) Mode opératoire

Le protocole du test d'humidité effectué consiste à placer trois échantillons de matière végétale fraîche de 30g chacun, dans une étuve à une température de 60°C jusqu'à stabilisation du poids (**Amarti et al., 2010**).

II.2. Extraction des substances bioactives

II.2.1. Extraction de l'huile essentielle

a) Mode opératoire

L'huile essentielle de *Ruta chalepensis* a été extraite selon le procédé décrit par **Amarti et al., (2010)**. Les différentes étapes du protocole d'extraction sont représentées dans la figure n° 15.

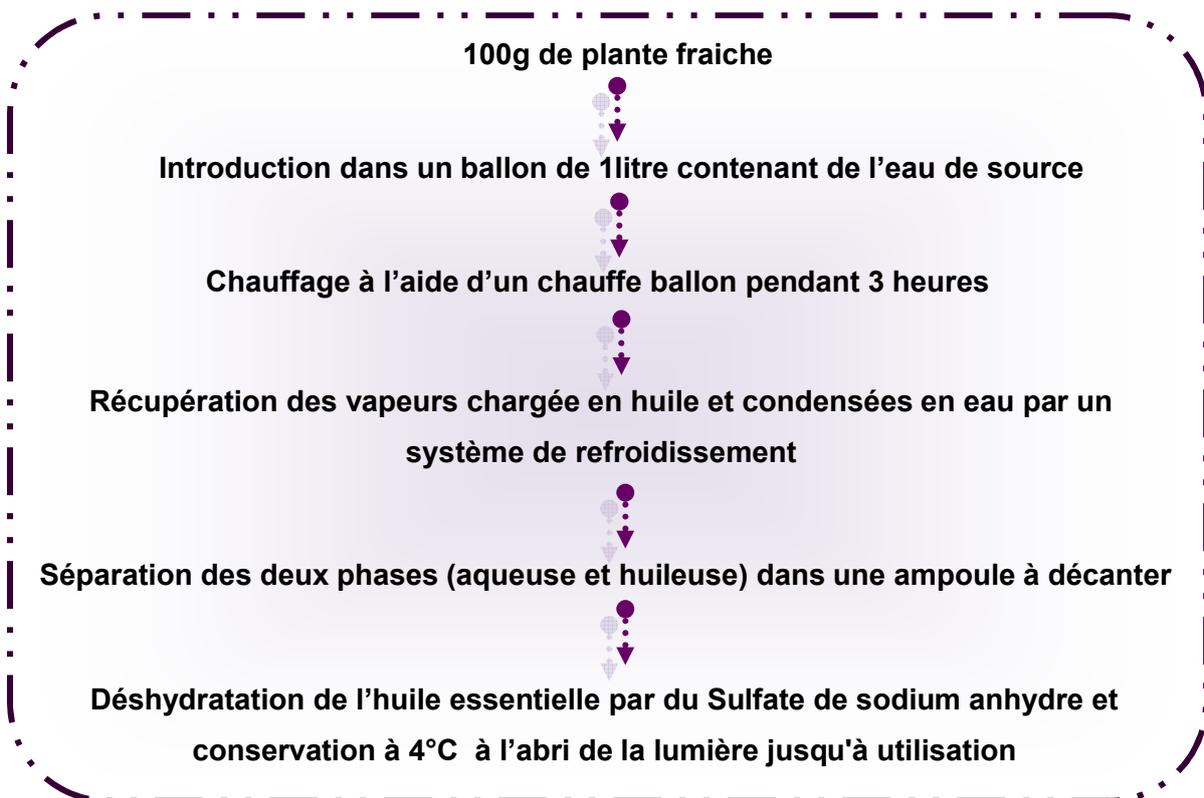


Figure n° 15 : Protocole d'extraction de l'huile essentielle (Amarti et al., 2010)

b) Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimé en pourcentage.

- Le rendement est calculé selon la formule suivante :

Où :

$$R (\%) = M_1 / M_0 * 100$$

R (%) : Rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

M₁ : masse d'extrait récupéré exprimée en grammes.

M₀ : masse du végétal utilisé pour l'extraction exprimée en grammes.

II.2.2. Extraction des composés phénoliques totaux

a) Mode opératoire

Le procédé d'extraction des polyphénols utilisé est décrit par **Vundać et al., (2007)**, selon le protocole schématisé dans la figure n°16 .

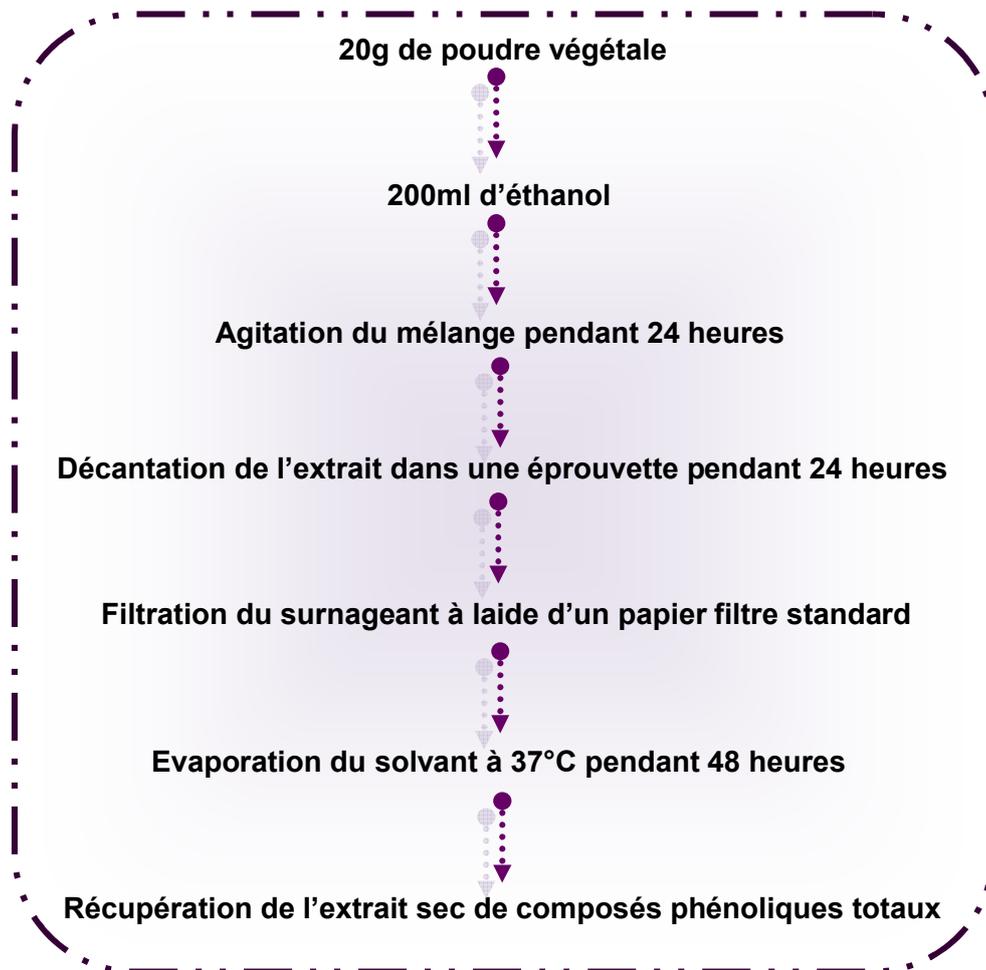


Figure n° 16 : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique
(Vundać et al., 2007)

b) Calcul du rendement

La détermination du taux d'extraction (%) est réalisée selon la formule suivante :

Où :

$$(\%) = [(P_0 - P_1) / P_E] * 100$$

$P_0 - P_1$: Poids de l'extrait sec exprimé en milligrammes.

P_E : poids de l'échantillon (poudre végétale) exprimé en milligrammes.

II.3. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé sur l'extrait éthanolique ainsi que sur l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* dans les mêmes conditions.

a) Principe

La quantification colorimétrique des composés phénoliques totaux a été déterminée selon la méthode décrite par **Djeridane et al., (2006)**, utilisant le réactif de Folin ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ces derniers, lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 760 nanomètres est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

a) Mode opératoire

Le protocole utilisé par **Djeridane et al., 2006** pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure n°17.

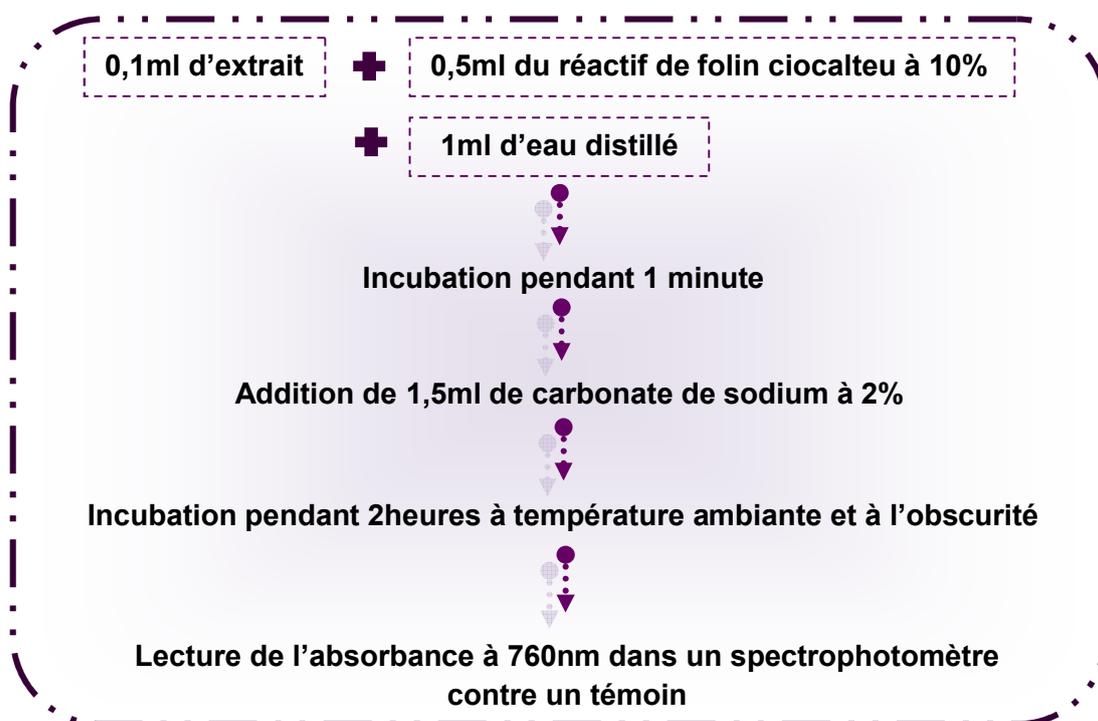


Figure n° 17 : Protocole de dosage des composés phénoliques (Djeridane et al., 2006)

b) Expression des résultats

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent en acide gallique par 100 grammes de poids sec (mg EAG/100 g PS) (**Koffi et al., 2010**).

- **Limites de la méthode :** Si le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols ; il réagit avec les acides aminés tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (**Boizot et Charpentier, 2006**).

II.4. Evaluation de l'activité antioxydant

Pour toutes les activités, l'extrait sec de composés phénoliques et l'huile essentielle sont reconstitués dans du méthanol et préparés à différentes concentrations.

La Quercétine, l'acide gallique et le tocophérol ont été utilisés comme antioxydants de référence, pour apporter un point de comparaison avec les différents extraits.

II.4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

a) Principe

Le DPPH est un radical libre organique stable, généralement utilisé pour évaluer les propriétés anti-radicalaires de toute substance *in-vitro* (**Loganathan et al., 2011**).

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphenyl-1- picryl hydrazyl) de couleur violette (forme oxydé) se réduit en 2,2 Diphenyl-1- picryl hydrazine de couleur jaune (**Athamena et al., 2010**).

L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 517 nanomètres, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (**Kouamé et al., 2009**).

b) Mode opératoire

La méthode suivie par **Shirwaikar et al., (2006)** a été utilisée pour évaluer l'activité anti-radicalaire des extraits de *Ruta chalepensis*. Toutes les étapes de l'essai sont décrites dans la figure n°18.

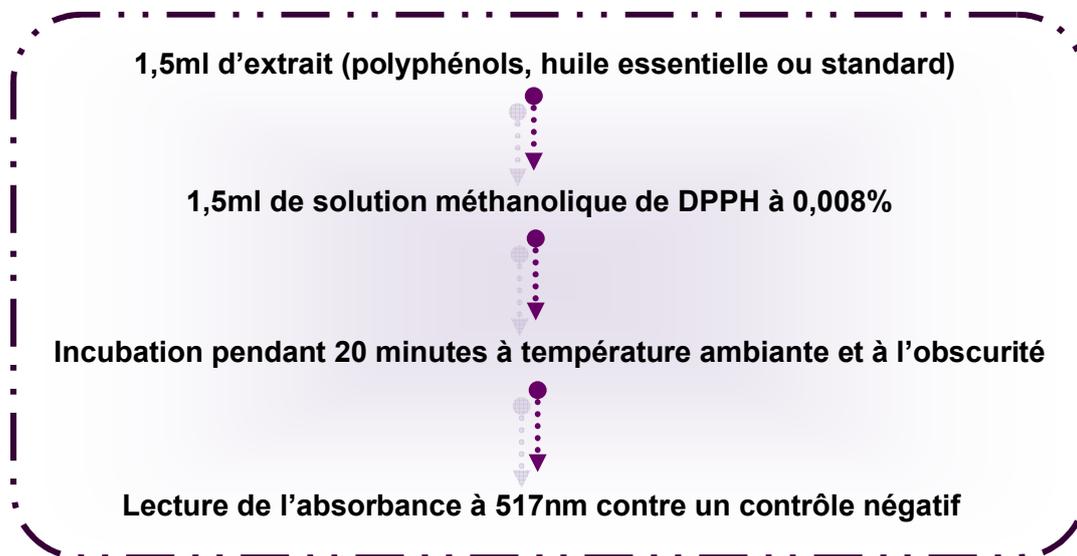


Figure n° 18 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Ruta chalepensis* par la méthode du DPPH (**Shirwaikar et al., 2006**)

c) Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (%) a été calculé selon la formule donnée par **Özkan et Erdoğan, (2011)**, comme suit :

Où

$$I\% = (A_C - A_T / A_C) \times 100$$

A_C : Absorbance de la réaction négative (contrôle), contenant tous les réactifs excepté le composé testé.

A_T : Absorbance de la réaction positive contenant le composé testé.

II.4.2. Détermination du pouvoir réducteur

a) Principe

L'analyse du pouvoir réducteur, d'un antioxydant, est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe³⁺), en fer ferreux (Fe²⁺), en présence des antioxydants réducteurs. Elle se manifeste par l'apparition d'une couleur « bleu prussien »,

mesurable par spectrophotométrie à 700 nanomètres, et dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (Bijoy *et al.*, 2008).

b) Mode opératoire

La méthode d'Oyaizu, (1986) in Ferreira *et al.*, (2007) modifiée a été choisie afin de déterminer le pouvoir réducteur des différents extraits de *Ruta chalepensis*. Les différentes étapes sont schématisées dans la figure n° 19.

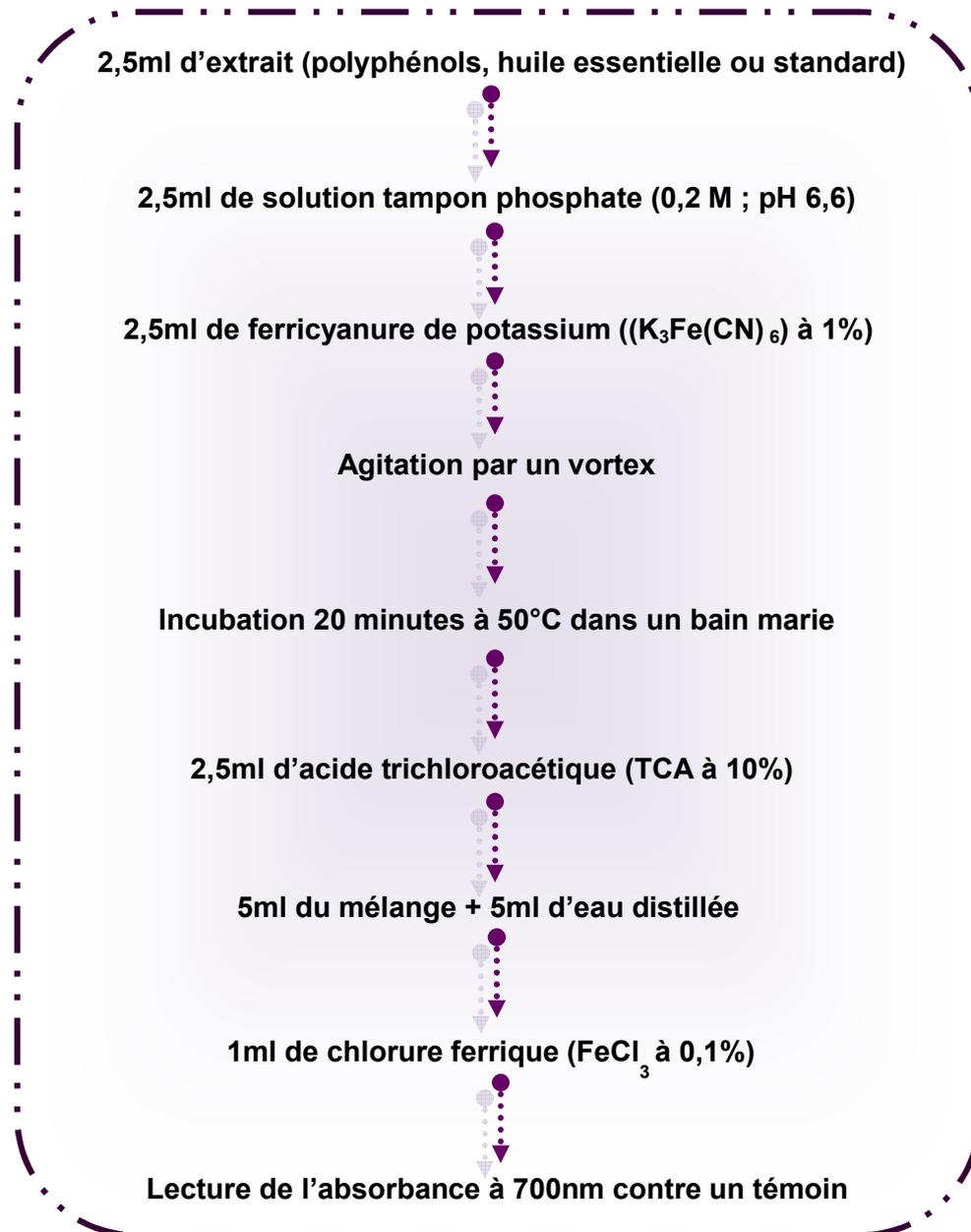


Figure n° 19 : Protocole de l'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Ruta chalepensis*

c) Expression des résultats

Pour chaque concentration, une absorbance est mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

***Résultats
&
Discussion***

I. Détermination du taux d'humidité

Le test d'humidité a été réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau de la partie aérienne de *Ruta chalepensis*, Cela permettra de calculer le rendement d'extraction en huile essentielle.

L'analyse des trois échantillons de la plante utilisée pour le test a révélé un taux d'humidité important égale à **75.07% ± 0.66%** représenté dans la figure n° 20. Ce résultat indique que plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée d'eau.

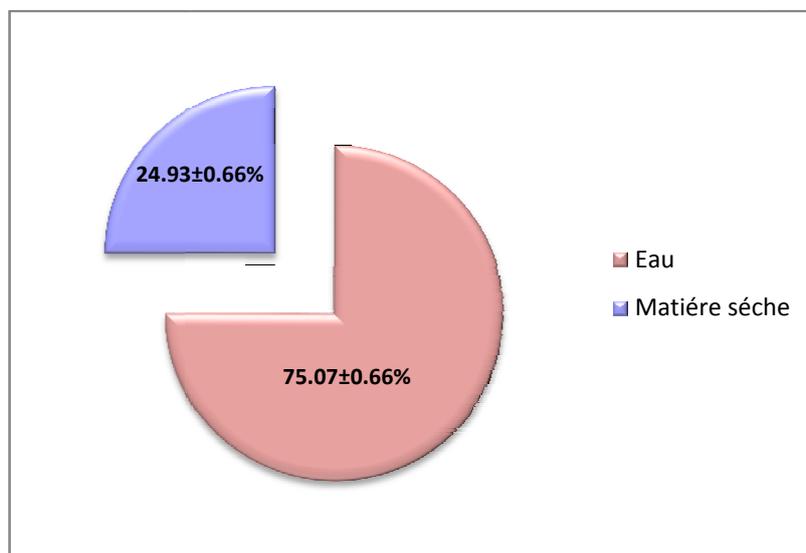


Figure n° 20: Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de *Ruta chalepensis*

II. Rendement d'extraction en huile essentielle :

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Les quantités d'huile essentielle proviennent du cumul d'au moins cinq distillations.

L'hydrodistillation de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* a fourni une huile essentielle de couleur jaunâtre (Figure n° 21) caractérisée par une odeur intense, avec un rendement de **0.61%**.

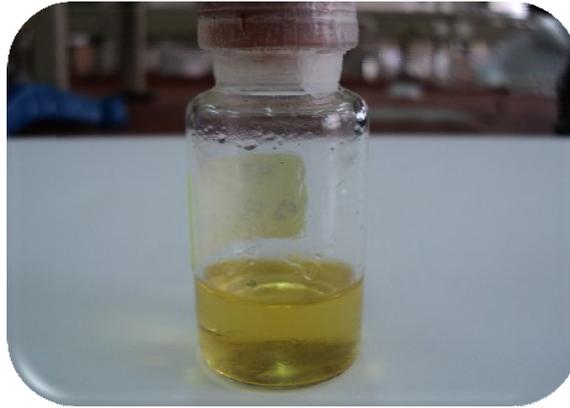


Figure n° 21 : Huile essentielle de *Ruta chalepensis*

Belkassam et al., (2011), ont montré que *Ruta montana* de la région de Mila (Algérie) renferme **4.5%** d'huile essentielle, ce qui est largement supérieur au rendement obtenu avec notre plante, en revanche, **De Feo et al., (2002)**, ont trouvé que *Ruta graveolens* récoltée au mois de septembre dans la région de Salerne (Italie) avait donné un rendement de **0.74%** d'huile essentielle, ce qui est comparable au rendement obtenu dans notre étude avec *Ruta chalepensis* .

On peut constater, d'après les résultats obtenus et ceux cités par la littérature, qu'il existe une variation de la teneur en huile essentielle entre les espèces du même genre, qu'elles soient issue de la même région ou pas.

Les travaux réalisés par **Mejri et al., (2010)**, sur la partie aérienne de *Ruta chalepensis* récoltée en Tunisie durant le mois de mai, ont révélé un rendement de **5.51%** d'huile essentielle, De même pour **Tounsi et al., (2011)**, qui sont également parvenu à extraire **2.46%** d'huile essentielle à partir de la même espèce tunisienne récoltée au mois de mai .

De ce fait, il est bien évident que le rendement en huile essentielle obtenu à partir de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* récoltée dans la région de Kherrata (Algérie) est nettement plus inférieur que celui obtenu par d'autres auteurs à partir de la même espèce provenant d'un autre pays (Tunisie), cette différence de rendement peut être expliquée essentiellement par deux principaux facteurs :

- D'une part, la période de récolte de la plante, en effet, dans cette étude, *Ruta chalepensis* a été récoltée au mois de mars au stade végétatif, contrairement à **Mejri et al., (2010)** et **Tounsi et al., (2011)** , qui ont utilisé la plante récoltée au mois de

mai au stade de floraison, là où le rendement en huile essentielle est le plus important.

- D'autre part, la région de récolte de la plante en question, semble être également un facteur influençant le taux d'extraction des huiles essentielles.

De manière générale, les fluctuations et variations constatées dans le rendement en huile essentielle peuvent être attribuées à plusieurs facteurs dont essentiellement : l'origine de l'espèce, la période de récolte, le taux d'humidité et le stade de développement de la plante (**Brada et al., 2007; Mansouri et al., 2011**).

III. Taux d'extraction des composés phénoliques totaux

L'extraction des polyphénols à partir des plantes est influencée par la méthode d'extraction utilisée, le diamètre des particules de l'échantillon, la durée et les conditions de stockage ainsi que la présence de substances interférentes (**Telli et al., 2010**).

L'éthanol a été utilisé pour l'extraction des composés phénoliques de *Ruta chalepensis*, ce dernier étant considéré comme un solvant hautement sélectif pour les polyphénols, et permet d'avoir un bon taux d'extraction (**Spigon et al., 2007**).

Le taux d'extraction, des composés phénoliques, de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* obtenu, est de l'ordre de **11.5%**. Ce résultat est largement supérieur à celui observé par **Gonzalez et al., (2006)**, qui ont obtenu une teneur de **2%** avec *Ruta chalepensis* après extraction avec de l'hexane et de l'éthanol. En revanche, **Iauk et al., (2004)** ont pu extraire **26%** de composés phénoliques à partir de la même espèce.

IV. Dosage des composés phénoliques :

L'extraction est une étape importante pour l'isolement et plus tard pour l'identification et la quantification des composés phénoliques. Ces composés issus de différentes plantes présentent une variabilité dans leurs structures. Il est donc très difficile de développer une méthode d'extraction standardisée, qui extrait simultanément tous les composés phénoliques inhérents (**Bucić-Kojić et al., 2011**).

La figure n° 22, représente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, dans une gamme de concentrations allant de 0,05 à 0,4mg/ml.

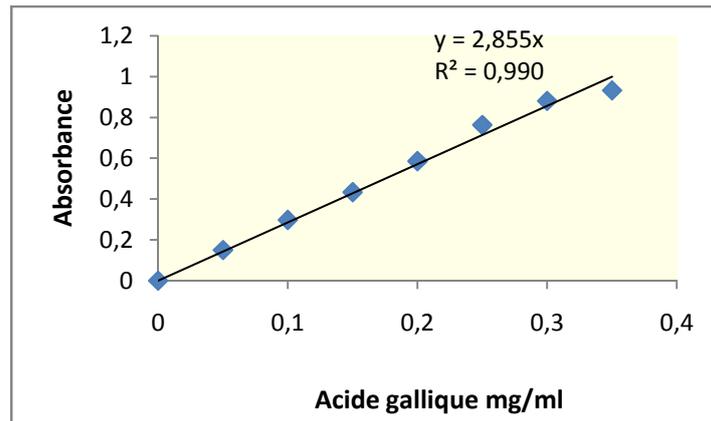


Figure n° 22 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

IV.1. Dans l'extrait éthanolique :

La valeur moyenne de la concentration en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis*, calculée à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde de 760 nm, est représentée dans la figure n° 23, elle représente **124.87±0,007 mg EAG /100 g MS**, soit **0,010± 0,008 mg EAG /ml d'extrait**. Ce résultat est largement inférieur à celui obtenu par **Fakhfakh et al., (2012)**, pour la même espèce, avec une concentration de l'ordre de **0,054±0,001 mg EAG /ml d'extrait**.

Les résultats de L'étude réalisée par **Djeridane et al., (2005)**, ont révélé que *Ruta montana* est plus riche en composés phénoliques avec une concentration de **313±0.3 mg EAG /100g MS**, par contre, pour l'espèce *Ruta graveolens*, **Pandey et al., (2011)**, ont trouvé une teneur en composés phénoliques de **0,013 mg EAG /ml d'extrait**, ce qui est assez proche du résultat retrouvé dans la présente étude.

Des teneurs variables en polyphénols sont également observées avec des espèces appartenant à la famille des Rutacées. En effet, **Cai et al., (2005)**, sont parvenus à doser **5070mg EAG / 100g MS** de composés phénoliques à partir de *Citrus aurantium L.* et **Jayaprakasha et al., (2007)**, ont observé un taux de **0,008mg ECA / ml d'extrait** pour l'espèce *Citrus sinensis*.

D'après **Levizou et al., (2004)**, les variations observées dans les taux en composés phénoliques, pourraient être attribuées essentiellement aux conditions d'extraction ainsi qu'aux conditions environnementales, à la saison de récolte et aux facteurs morphogénétiques.

IV.2. Dans l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants à des concentrations très différentes. Elles sont caractérisées par deux ou trois composants majoritaires à des concentrations assez élevées (20 - 70%), et d'autres composés minoritaires voire sous forme de traces (**Bakkali et al, 2008**).

La valeur moyenne de la concentration en polyphénols totaux de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* (Figure n° 23), calculée à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde de 760 nm, est de l'ordre de **4.40 ± 0.33 mg EAG /100 g MS**, soit une valeur de **0.007 ± 0.0005 mg EAG / mg d'HE**.

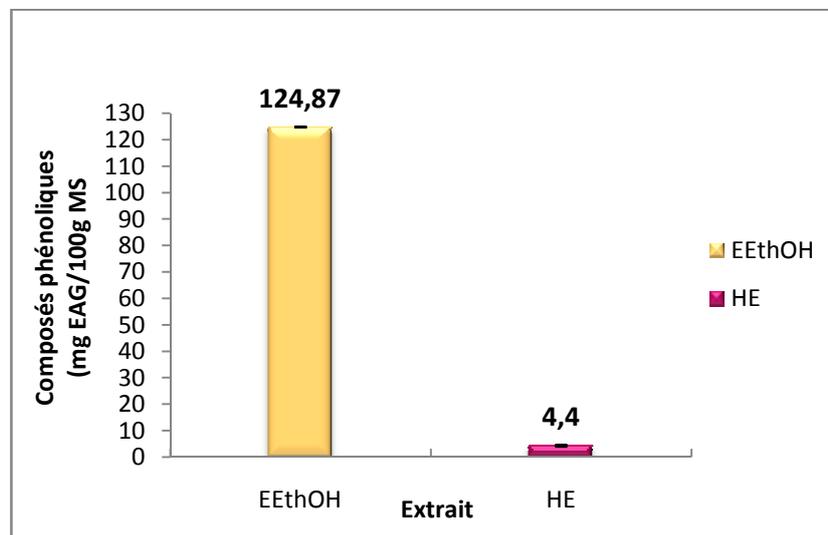


Figure n° 23 : Représentation graphique du taux de composés phénoliques de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*

Chia-wen et al., (2009), ont également réalisé un dosage des composés phénoliques dans les huiles essentielles de quelques espèces du genre *Citrus* (Rutacées). Leur étude a révélé un taux de **0,001±0,0001mg EAG / mg d'HE** pour *Citrus paradisi*; **0,0015±0,0006 mg EAG / mg d'HE** pour *Citrus aurantifolia* et **0,0016±0,00005mg EAG / mg d'HE** pour l'espèce *Citrus aurantium*. Ces résultats sont assez similaires à ceux que nous avons obtenus pour l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*.

Selon **Merghache et al., (2009)**, la caractéristique principale de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* est sa grande richesse en **cétones**, qui représentent

environ **28.53 à 90.62 %** de sa composition, ce qui peut expliquer cette faible teneur en composés phénoliques retrouvée dans notre cas. **Belkassam et al., (2011)**, ont également souligné la prédominance des cétones dans l'huile essentielle de *Ruta montana* avec un taux de **81,06%**. De même, **De Feo et al., (2002)**, ont retrouvé un taux de **70,3%** de cétones dans l'huile essentielle de *Ruta graveolens*.

▪ D'après la figure n° 23, on peut constater que la teneur en composés phénoliques de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* est nettement supérieure à celle retrouvée dans l'huile essentielle extraite de la même partie. Ainsi, les résultats du dosage montre que l'huile essentielle avec une teneur de **4.40 ± 0.33 mg EAG /100 g MS**, est environ trente fois moins concentrée en composés phénoliques que l'extrait éthanolique présentant un taux de **124.87±0,007 mg EAG /100 g MS**.

V. Activités antioxydants

L'activité antioxydant des extraits de *Ruta chalepensis* a été évaluée par deux méthodes : le test du DPPH et la mesure du pouvoir réducteur.

V.1. Activité scavenging du DPPH

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant par la méthode du DPPH se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH• (Figure n° 24), mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**).

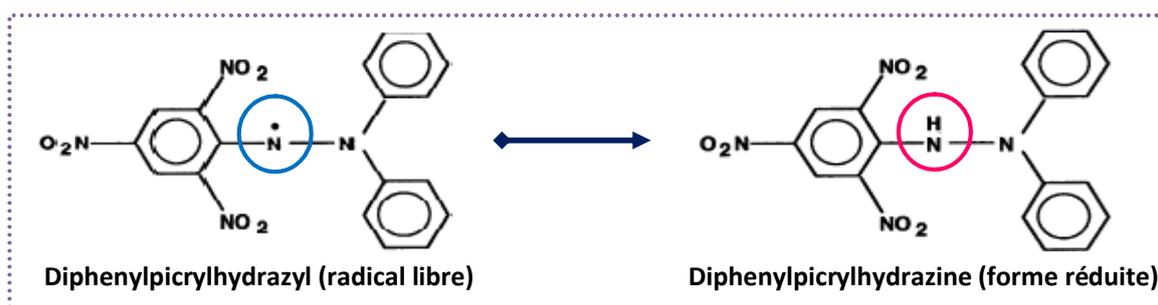


Figure n° 24 : Formes oxydé et réduite du radical stable DPPH (**Molyneux, 2004**)

V.1.1. L'extrait éthanolique

Les composés phénoliques généralement retrouvés dans une multitude de végétaux, sont responsables de multiples effets biologiques, y compris de propriétés antioxydants (Navnath *et al.*, 2010).

Les figures n° 25 et n° 26 illustrent le pourcentage « scavenging » du radical DPPH des antioxydants standards et de l'extrait éthanolique contenant les polyphénols de *Ruta chalepensis* respectivement.

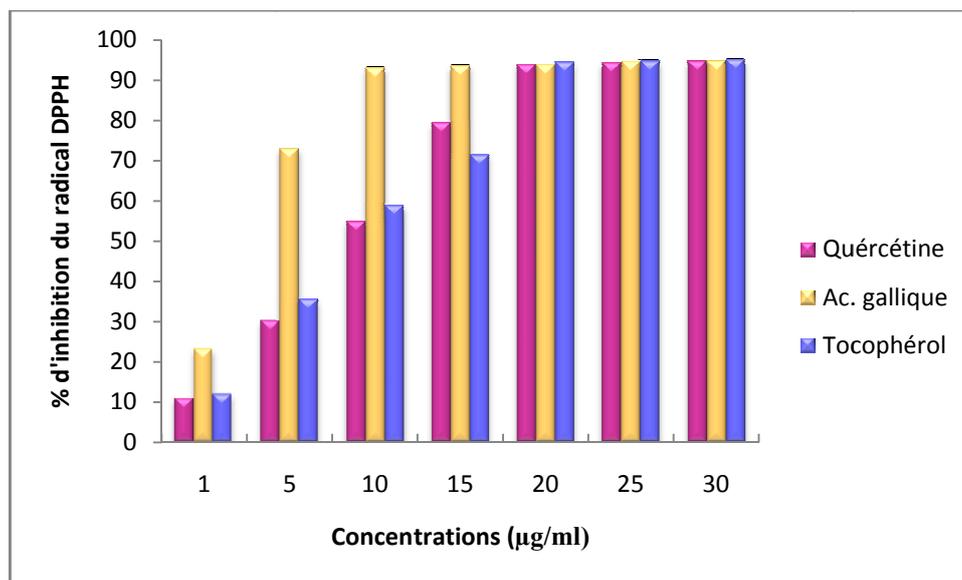


Figure n° 25 : Activité scavenging du DPPH des antioxydants de référence

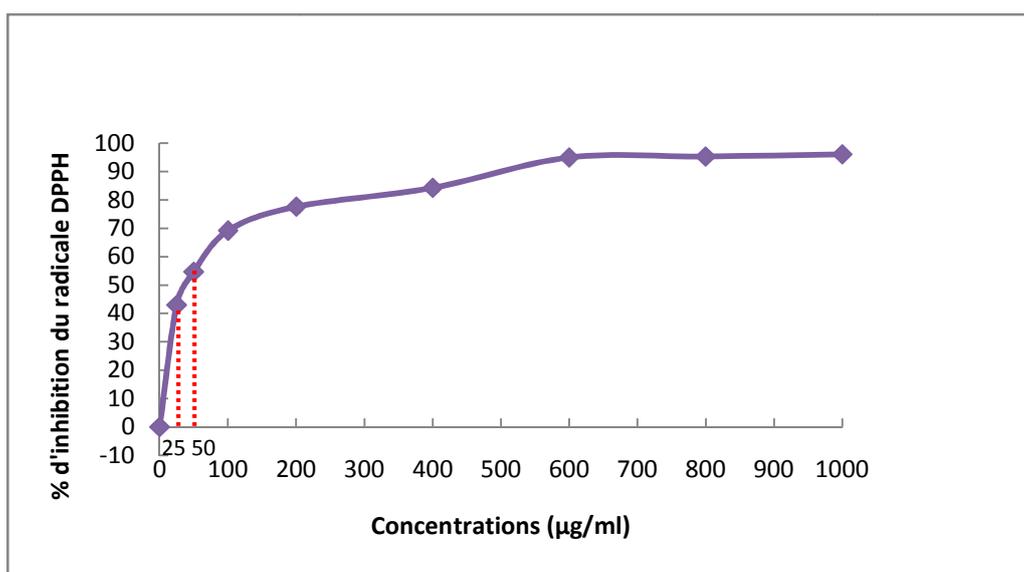


Figure n° 26 : Activité scavenging du DPPH de l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis*

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'activité anti-radicalaire augmente en fonction de la concentration.

Les standards utilisés possèdent l'activité anti-radicalaire la plus élevée, avec des pourcentages d'inhibition du radical DPPH allant de **10,87%** pour la quercétine à **95,73%** pour le tocophérol.

Pour l'extrait éthanolique, l'effet scavenging du DPPH varie de **42,98%** à **96,1%** dans une gamme de concentrations allant de 25µg à 1000µg d'extrait /ml de méthanol.

On peut constater d'après ces résultats, que l'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* est moins efficace que les antioxydants de synthèse (Quercétine, acide gallique et tocophérol). Par exemple, à une concentration de 25µg/ml l'extrait éthanolique est environ deux fois moins puissant que les standards.

On peut remarquer en revanche, que les antioxydants synthétiques ont un effet scavenger maximal à la concentration de 30µg/ml pour une activité de **94** à **95%**, ce qui n'est pas le cas pour l'extrait de *Ruta chalepensis* dont l'activité croît jusqu'à **96,1%** pour 1000µg/ml.

Fakhfakh et al., (2012), ont également obtenu de bons résultats avec la même espèce localisée en Tunisie, soit une inhibition du radical de **82%** pour une concentrations de 400 µg/ml et environ **45%** d'inhibition pour une concentration de 200 µg/ml, ce qui est nettement inférieur aux résultats que nous avons obtenue (**77,63%** d'inhibition pour 200 µg/ml).

Harsha et Latha (2012), ont testé l'effet scavenger de l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens* et ont obtenu **52%** d'inhibition du radical DPPH pour une concentration de 500µg/ml. Ce résultat montre que les composés phénoliques de l'espèce *Ruta graveolens* possèdent une activité anti-radicalaire moindre que ceux de *Ruta chalepensis*, qui pour la même concentration a montré **88%** d'activité.

▪ Détermination de l'IC₅₀ (Concentration inhibitrice à 50%)

Dans la majorité des études, la réactivité vis-à-vis du radical DPPH est estimée par la concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) ou concentration effective EC₅₀ de l'antioxydant (**Popovici et al., 2009**).

Cette valeur est inversement liée à la capacité antioxydant d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration du radical de 50%. Plus l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydant du composé testé est importante (Villaño *et al.*, 2007).

Le tableau n° IV regroupe les valeurs des IC₅₀ des standards et des polyphénols de *Ruta chalepensis*.

Tableau n° IV : Valeurs des IC₅₀ des antioxydants standards et des polyphénols de *Ruta chalepensis*

Substance	IC ₅₀ (µg/ml)
Extrait éthanolique	59,58
Quercétine	8,59
Tocophérol	7,89
Acide gallique	2,63

Les valeurs des IC₅₀ obtenues sont comparables aux pourcentages scavenging du radical DPPH.

L'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* présente l'IC₅₀ la plus élevée, ce qui lui confère l'activité anti-radicalaire la plus faible par rapport aux standards. Par exemple, l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique (59,58µg/ml) est environ vingt fois supérieure à celle de l'acide gallique (2,63µg/ml).

L'IC₅₀ obtenue par Fakhfakh *et al.*, (2012), pour *Ruta chalepensis* récoltée en Tunisie, est nettement supérieure à celle obtenue dans notre étude, elle est de l'ordre de **220µg/ml** soit environ quatre fois plus importante. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de *Ruta graveolens* par Pandey *et al.*, (2011), n'a pas pu aboutir à la détermination d'une IC₅₀ dans la même gamme de concentrations utilisée dans la présente étude, ceci implique que *Ruta chalepensis* possède une meilleure activité que *Ruta graveolens*.

D'autres espèces du genre *Citrus*, étudiés par Ghasemi *et al.*, (2009), ont également donné des IC₅₀ supérieures à celles de *Ruta chalepensis*, avec **600µg/ml** pour *Citrus reticulata* et **3900µg/ml** pour *Citrus aurantium*.

V.1.2. L'huile essentielle

Généralement, l'efficacité antioxydant d'une huile essentielle dépend de sa teneur en composés phénoliques (**Cavar et al., 2012**).

Bajpai et al., (2009), ont souligné le fait que l'utilisation des extraits organiques pouvait être plus bénéfique et plus intéressante par rapport aux constituants isolés, puisque d'autres composés présents dans ces extraits peuvent modifier les propriétés chimiques ou biologique des composants bioactifs.

La Figure n° 27 illustre le pourcentage « scavenging » du radical DPPH de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*.

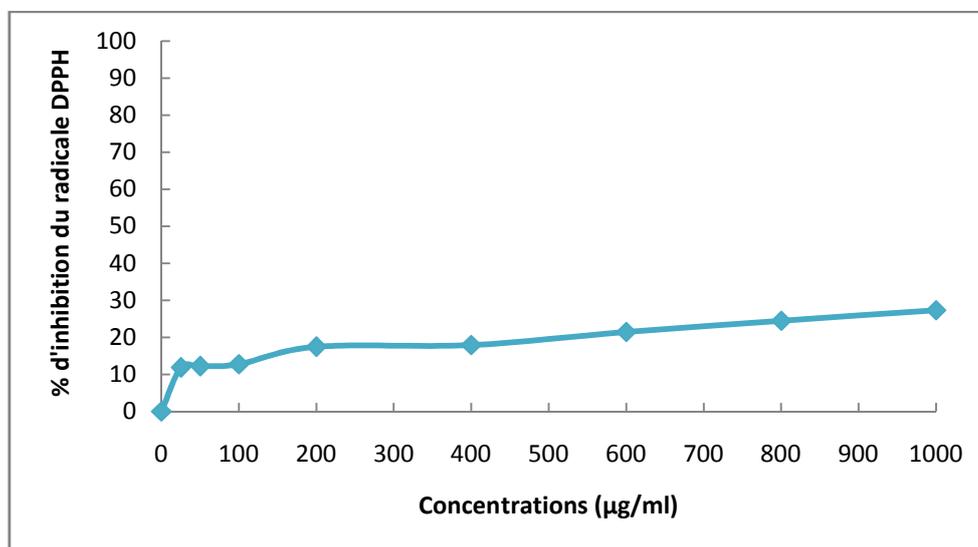


Figure n° 27 : Activité scavenging du radical DPPH de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*

Les standards employés (figure n° 25), présentent des pourcentages scavenging nettement supérieurs à ceux obtenues avec l'huile essentielle.

Par exemple, le Tocophérol, antioxydant proche de la nature d'une huile essentielle (nature lipidique), a donné un pourcentage d'inhibition de **11,86%** à une concentration de 1µg/ml, comparé à l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* qui a montré un effet scavenger de **11,82%** mais à une concentration de 25µg/ml.

Fakhfakh et al., (2012), ont également fait de telles constatations au sujet de cette huile, en effet ils n'ont pas pu obtenir d'inhibition du radical libre DPPH dans une gamme de concentrations allant de 100 à 400 µg/ml, contrairement à notre

échantillon qui a tout de même manifesté une faible activité anti-radicalaire dans la même gamme de concentration.

Cette faible activité anti-radicalaire est également constatée avec d'autres genres de la famille des Rutacées. **Chia-wen et al., (2009)**, ont testé différentes espèces du genre *Citrus*, et ont obtenu : **6.3%** d'inhibition pour *Citrus paradisi*, **15.22%** d'inhibition pour *Citrus aurantifolia* et **14.75%** d'inhibition pour *Citrus aurantium*.

Selon **Fakhfakh et al., (2012)**, ce faible pouvoir anti-radicalaire serait principalement due à l'absence de composés phénoliques et à la prédominance des cétones dans la composition chimique de cette huile essentielle, ce qui a été confirmé par le dosage que nous avons réalisé. En effet, **Merghache et al., (2009)**, ont montré que les constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* était : le 2-undécanone (68.95%), le 2-nonanone (22.89%) et le 1-décanol (10.96%).

Ainsi, les travaux effectués par **Ruberto et al., (2000)**, sur différents composants d'huiles essentielles, ont démontré que le 2-undécanone, composant majoritaire de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* ne possédait pas d'activité antioxydant.

- Comparaison entre les polyphénols et l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*

La figure n° 28 illustre le pourcentage « scavenging » du radical DPPH des polyphénols et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*.

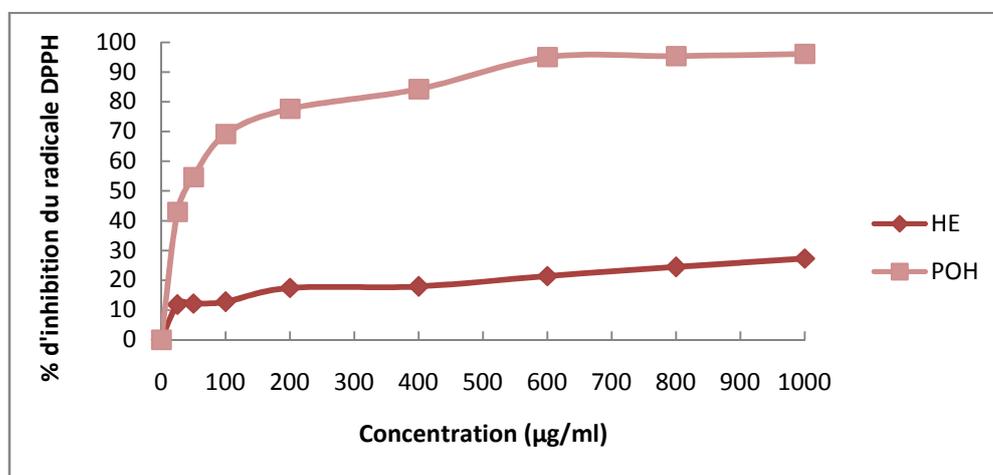


Figure n° 28 : Activité scavenging du DPPH de l'huile essentielle et des polyphénols de *Ruta chalepensis*

D'après le graphique, on peut constater que l'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique est largement supérieure à celle de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*.

Pour les mêmes concentrations, l'activité de l'extrait éthanolique est environ quatre fois supérieure à celle de l'huile essentielle. Cette différence est attribuée à la différence de la composition entre ces deux extraits, en effet, lors du dosage des composés phénoliques totaux, les résultats obtenus ont clairement indiqué que l'huile essentielle est peu concentrée en polyphénols, et que l'extrait éthanolique présente une teneur plus élevée en ces composés. Ainsi, Il a été rapporté par **Dawidowicz et al., (2006)**, que les propriétés antioxydants des extraits de plantes était principalement due à la présence de composés phénoliques.

V.2. Le pouvoir réducteur

La mesure du pouvoir réducteur est un essai souvent employé pour évaluer la capacité d'un éventuel antioxydant de donner des électrons (**Zouari et al., 2012**), cette aptitude de réduction peut servir d'indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle. Dans cet essai, la couleur jaune de la solution testée vire à la couleur verte-bleuâtre, et ce suivant l'importance du pouvoir réducteur de l'échantillon (**Moreira et al., 2008**).

Les figures n° 29, 30 et 31 illustrent le pouvoir réducteur des standards, de l'huile essentielle et des polyphénols de *Ruta chalepensis* respectivement.

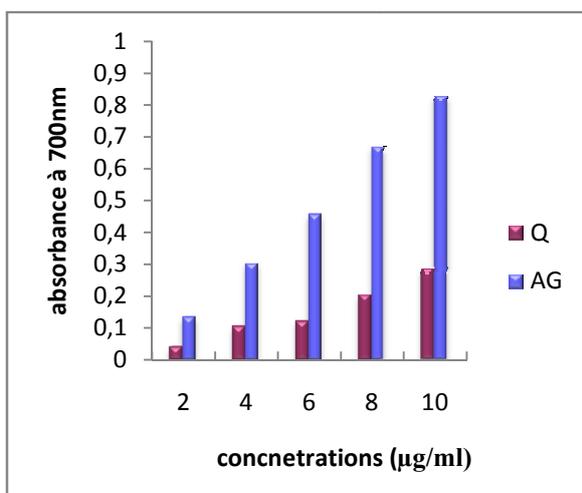


Figure n° 29 : Pouvoir réducteur des antioxydants de synthèse (Quercétine et Acide gallique)

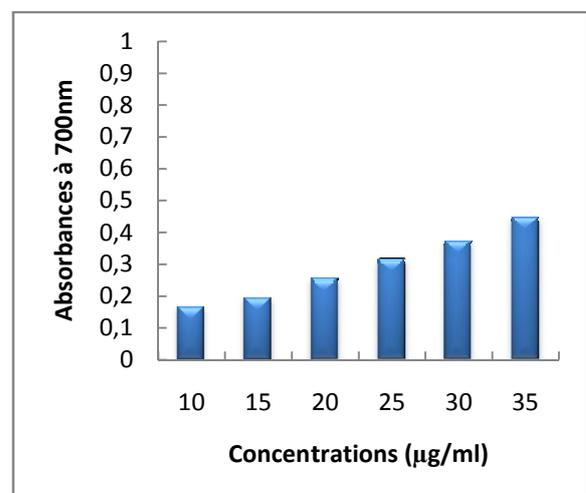


Figure n° 30 : Pouvoir réducteur de l'antioxydant de synthèse Tocophérol

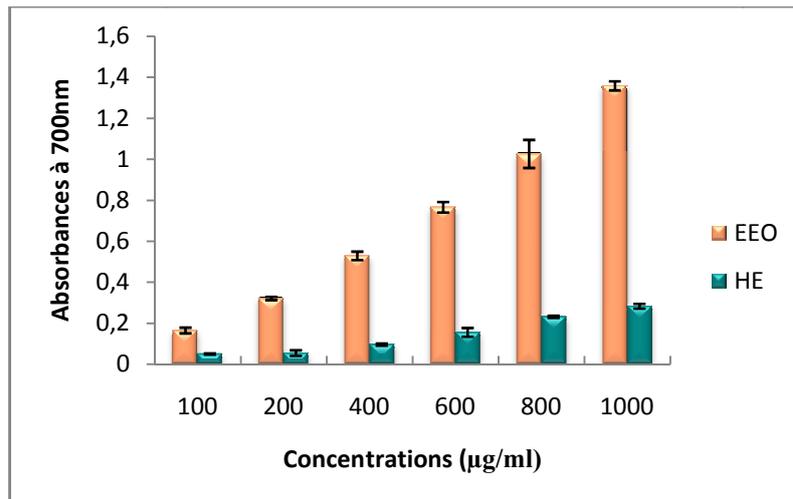


Figure n° 31 : Pouvoir réducteur des polyphénols et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*

Dans tous les échantillons analysés (standards et extraits), une activité dépendante de la concentration est observée.

D'après les graphiques précédents, il existe une grande différence entre les témoins utilisés et les échantillons testés. En effet, pour une concentration de 10µg/ml, les absorbances données par les standards varient de **0,165** (tocophérol) à **0,828** (acide gallique), alors que l'échantillon d'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis* a donné une absorbance de **0,165** à une concentration dix fois plus élevée, soit 100µg/ml. L'huile essentielle quant à elle, a montré un plus faible pouvoir par rapport aux standards et par rapport à l'extrait éthanolique, une absorbance de **0,051** a été mesurée pour la concentration de 100µg/ml. Ce résultat est environ trois fois plus faible que celui obtenu avec l'extrait éthanolique, il est donc trente fois plus faible que celui observé avec les antioxydants témoins.

Cette différence d'activité, est probablement due au degré de pureté des échantillons utilisés, les standards étant des composés de synthèse purs et les échantillons des extraits bruts non purifiés. Selon **Dawidowicz et al., (2006)**, il est difficile d'établir une corrélation et d'obtenir un même résultat entre des composés purifiés et des extraits bruts, puisqu'il est possible d'avoir des interactions entre les différents composés de l'extrait (effet de synergie ou effet d'antagonisme).

Le potentiel réducteur observé dans ce test se classe dans l'ordre suivant :
Acide gallique > Quercétine > Tocophérol > Extrait éthanolique > Huile essentielle.

Fakhfakh et al., (2012), ont montré que l'extrait ethanologique de *Ruta chalepensis* de Tunisie possède un bon pouvoir réducteur avec une absorbance de **0,600** pour une concentration de 100µg/ml, ce qui coïncide avec sa forte teneur en composés phénoliques. Selon les résultats de **Harsha et al., (2012)**, l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens* d'Inde possède une activité réductrice moindre que *Ruta chalepensis*, avec une absorbance de **0,06** pour une concentration de 100µg/ml.

Tous ces résultats, indiquent que la réduction du Fe^{3+} est un mécanisme d'action important de l'activité antioxydant des polyphénols.

De manière générale, la concentration des antioxydants, ainsi que le nombre de groupements hydroxyles des composés phénoliques et leurs position spatiale contrôlent l'intensité du pouvoir réducteur (**Kranl et al., 2005**).

***Conclusion
&
Perspectives***

Cette étude a eu pour but de contribuer à la connaissance de *Ruta chalepensis*, espèce spontanée, relativement abondante en Algérie.

L'extraction des composés phénoliques et de l'huile essentielle à partir de la partie aérienne de la plante, a indiqué que *Ruta chalepensis* fournit de bons rendements en substances bioactives, elle en est donc riche.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, à partir des deux extraits obtenus, ont clairement montré que l'extrait éthanolique de *Ruta*, possède une teneur moyenne en ces composés, et que l'huile essentielle en est relativement pauvre.

L'évaluation de l'activité antioxydant *in-vitro*, a révélé des résultats différents pour les deux échantillons:

↳ L'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis*, présente une IC₅₀ vis-à-vis du radical libre DPPH de 59.58µg/ml, et a fourni de bons pourcentages scavenger pour ce radical. Ce même extrait, a également montré un bon pouvoir réducteur en comparaison avec les antioxydants standards.

↳ En revanche, l'huile essentielle n'a pas donné de bons résultats pour les deux tests réalisés, un maximum d'inhibition du radical DPPH de 27.28%, et un pouvoir réducteur tout aussi faible. Ces résultats étant en accord avec ceux obtenus lors du dosage. Ainsi, l'absence de composés phénoliques et la prédominance des cétones dans la composition de cette huile, la rendent dépourvue d'un bon potentiel antioxydant.

Ces données préliminaires donnent un aperçu intéressant sur les capacités des différents extraits de *Ruta chalepensis* à exercer un effet antioxydant. A présent, il serait plus intéressant de procéder à la séparation des différentes substances présentes dans ces extraits, et de déterminer laquelle d'entre elles est responsable de ces activités.

Par la suite, tenter d'évaluer d'autres activités que pourrait présenter cette plante, en accord avec sa composition phytochimique, en particulier pour l'huile essentielle qui reste à ce jour encore très peu étudié.

Enfin, des études toxicologiques viendraient affirmer ou rejeter la possibilité d'emploi des extraits de *Ruta chalepensis* dans les différentes industries (agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique,...).

***Références
Bibliographiques***

- A -

Abrams, S.R. & Shaw, A.C. (1987). Preparation of 8- methyl-2- Decanol : General synthesis of Diastreomeric mixtures of Alkyl Branched insect pheromones. *Journal of chemical Ecology*, 13(8): 1927 - 1933.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74 : 636 - 643.

Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Arab, L., El Ajjouri, M. & Chaouch, A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Dest.) Benth. Du Maroc. *Biotechnol. Agron. Environ.*, 14(1) : 141 - 148.

An, Z.Y., Yan, Y.Y., Peng, D., Ou, T.M., Tan, J.H., Huang, S.L., An, L.K., Gu, L.Q. & Huang, Z.S. (2010). Synthesis and evaluation of graveoline and graveolinine derivatives with potent anti-angiogenesis activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 3895 - 3903.

Anton, R., Carere, A., Delmulle, L., Corrado, L.G., Rietjens, I., Silano, V. & Speijers, G. (2009). Compendium of botanicals that have been reported to contain toxic, addictive, psychotropic or other substances of concern. *EFSA Journal*, 7(9): 1 - 100.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-laouar, A., Laroui, S. & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *lebanese. Science journal*, 11 : 69 - 81.

Attou, A. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de Magister en biologie, *Université de Tlemcen*, 119 p.

- \mathcal{B} -

Bajpai, V.K., Al-Reza, S.M., Choi, U.K., Lee, J.H. & Kang, S.C. (2009). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1876 - 1883.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446 - 475.

Belkassam, A., Zellagui, A., Gherraf, N., Lahouel, M. & 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. & 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.

Berger, M.M. & Chioléro, R.L. (2001). Apport d'antioxydants en réanimation : pourquoi, lesquels, avec quels objectifs ? *Réanimation*, 10: 527 - 534.

Bijoy, M., Jayati, S. & Prabir, K.S. (2008). Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*, 41: 586 - 593.

Bock, B. (2001). Photoflora *Ruta chalepensis*. Grimaud, France, *BDNFF*.

Bock, B. (2004). Photoflora *Ruta chalepensis*. Hyères, France, *BDNFF*.

Bock, B. (2011). *Ruta chalepensis* L. *BDNFF, Tela Botanica*, 4(2).

Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques*.

Références bibliographiques

Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C. & Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'aubepine monogyne*. *Lebanese. Science journal*, 12(1) : 59 - 69.

Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M. & Chaabouni, M.M. (2008). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 : 119 - 125.

Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A. & Lognay, G. (2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 11(1) : 3 - 7.

Brener, S. & Friedman, J. (1985). Phytophotodermatitis induced by *Ruta chalepensis* L. *Contact-dermatitis*, 12 : 2 - 230.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. *tec & toc*, Paris, 1120 p.

Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Jokić, S., Mujić, I., Bilić, M. & Velić, D. (2011). Effect of Extraction Conditions on the Extractability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 6(3): 195 - 199.

- C -

Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Qiong, L. & Corke, H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 2872 - 2888.

Ćavar, S., Maksimović, M., Vidić, D. & Parić, A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products*, 37: 479 - 485.

Chia-wen, L., Chia-wen, Y., Sung-chuan, W. & Kuang-hway, Y. (2009). DPPH Free-Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Contents and Chemical Composition Analysis of Forty-Two Kinds of Essential Oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 17(5): 386 - 395.

- د -

Daayf, F. & Lattanzio, V. (2008). Recent advances in polyphenol Research. *Blackwell Publishing, Singapore, p 1.*

Dawidowicz, A.L., Wianowska, D. & Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra L.* (antioxidant properties of extracts). *LWT, 39: 308 - 315.*

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

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

- ع -

El Sayed, K., Al-Said, M.S., El-Feraly, F.S. & Ross, S.A. (2000). New Quinoline Alkaloids from *Ruta chalepensis*. *J. Nat. Prod., 63: 995 - 997.*

- ح -

Facchini, P.J. (2001). Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 52: 29 - 66.*

Fakhfakh, N., Zouari, M.S., Loussayef, C. & 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.*

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique, 108 - 115.*

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Anales pharmaceutiques Françaises, 64(6): 390 - 396.*

Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M. & Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100: 1511 - 1516.

- 4 -

Ghasemi, K., Ghasemi, Y. & Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(3): 277 - 281.

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

Goudable, J. & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr. Clin. Métabol.*, 11: 115 - 120.

Gravot, A. (2002). Etude de P450s impliqués dans la biosynthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens*. Thèse soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de Docteur de L'INPL en sciences agronomiques. *Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires*, 221 p.

Gurif, F. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27: 1 - 93.

Günaydin, K. & Savcib, S. (2005). Phytochemical studies on *Ruta chalepensis* (lam.) lamarck. *Natural Product Research*, 19 (3): 203 - 210.

- 5 -

Harsha, S.N. & Latha, B.V. (2012). *In vitro* antioxidant and *in vitro* anti inflammatory activity of *Ruta graveolens* methanol extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(1): 0974 - 2441.

- J -

Iauk, L., Mangano, K., Rapisarda, A., Ragusa, S., Maiolino, L., Musumeci, R., Costanzo, R., Serra, A. & Speciale, 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 -

Jayaprakasha, G.K. & Bhimanagouda, S.P. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, 101: 410 - 418.

Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S., & Skaria, B.P. (2001). Medicinal Plants. *Tropical Horticulture*, 2: 449 - 632.

July, L. (2007). La rue, ruta, plante médicinale, plante magique, plante toxique. *Rev. perubiol*, 13(3): 8 - 19.

- K -

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I.P., Simporé, J. & Nikiéma, J.B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*, 32 : 9 - 23.

Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y. & Soro, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 5(3): 550 - 558.

Kranl, K., Schlesier, K., Bitsch, R., Hermann, H., Rohe, M. & Bohm, V. (2005). Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. *Food Chemistry*, 93: 171 - 175.

Kumar, S.V., Saritha, G. & Fareedullah, M.D. (2012). Role of antioxidants and oxidative stress in cardiovascular diseases Fareedullah. *Annals of Biological Research*, 1(3): 158 - 173.

- ل -

Lamark, J.P. (1804). Encyclopédie méthodique, ou par ordre de matière botanique. Agasse, Paris, 333-335.

Lambert, P. (2011). *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Bastelicaccia, BDNFF.

Lamnaouer, D. (2002). Composition chimiques et activités biologiques de quelques plantes médicinales du PNT, 2 - 9.

Lamnauer, D. & Batanouny, K. (2005). A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN-Centre for Mediterranean Cooperation Malaga, 241 - 244.

Levizou, E., Petropoulou, Y. & Manetas, Y. (2004). Carotenoid composition of peridermal twigs does not fully conform to a shade acclimation hypothesis. *Photosynthetica*, 42(4): 591 - 596.

Lièvre, K. (2004). Modification de la composition en molécules pharmaceutique (furocoumarines) de la Rue officinale (*Ruta graveolens*) par transformation génétique. Thèse soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de Docteur de L'INPL en sciences agronomiques. *Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires*, 200 p.

Loganathan, K.J., Hemalatha, M., Gunasundari, D., Shenbhagaraman, R. & Kaviyarasan, V. (2011). Antioxidant activity of hot water soluble fraction from *Agaricus heterocystis* and its effect on apple browning. *Emir. J. Food Agric.*, 23(4): 381 - 386.

- م -

Mansion, G. & Salvo, G. (2005). Dating the origin of plants endemic to the Corso-Sardinian Plate: a window on the biogeography of the Mediterranean Basin. 268 - 280.

Mansour, S.A.L., Tariq, M., Al-Yahya, M.A., Rafatullah, S., Ginnawi, O.T. & Ageel, A.M. (1990). Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 28: 305 - 312.

Références bibliographiques

- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L. & Aafi, A. (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(3) : 415 - 424.
- Martin, S. & Andriantsitohaina, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 5 : 304 - 315.
- Mejri, J., Abderrabbab, M. & 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.
- Merghache, S., Hamza, M. & Tabti, B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science*, 05(1): 67 - 81.
- Miguel, M.G. (2010).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252 - 9287.
- Milesi, S., Massot, B., Gontier, E., Bourgaud, F. & Guckert, A. (2001).** *Ruta graveolens* L.: a promising species for the production of furanocoumarins. *Plant Science*, 161: 189 - 199.
- Mladěnka, P., Macáková, K., Zatloukalová, L., Reháková, Z., Singh, B.K., Prasad, A.K., Parmar, V.S., Jahodáň, L., Hrdina, R. & Saso, L. (2010).** In vitro interactions of coumarins with iron. *Biochimie*, 92: 1108 - 1114.
- Moazedi, A.A., Dabir, N., Gharib-Naseri, M.K., & Zadkarami, M.R. (2009).** Investigated Antispasmodic Effect of *Ruta chalepensis* Leaf on Rat's Ileum at Present of KCl and Different Concentrations of Calcium Chloride. *Journal of Biological Sciences*, 9: 159 - 164.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2): 211 - 219.

Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A. & Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3482 - 3485.

- *N* -

Navnath, P., Karmabeer, J., Dusmant, M., Dattatray, G. & Tanaji, J. (2010). Free radical scavenging potential, reducing power, phenolic and biochemical constituents of *Porphyra* species from India. *J. Algal. Biomass. Utiln.*, 1(3): 29 - 42.

- *O* -

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307 - 315.

Ozkan, A. & Erdoğan, A. (2011). A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. *Turk. J. Biol.*, 35: 735 - 742.

- *P* -

Pandey, P., Mehta, A., Hajra, S., Jinu, J. & Mehta, P. (2011). Antioxidant property, total Phenolic content and inhibition of α -amylase activity of *Ruta graveolens* L. leaves extract. *Journal of Pharmacy Research*, 4(6): 1735 - 1737.

Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 276 : 87 - 92.

Pastre, J.O.C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de Docteur vétérinaire, *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120 p.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. & Defraigne, J.O. (2008). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 233 - 239.

Popovici, C., Saykova, I. & Bartosz, T. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *e-Revue de génie industriel*, 4 : 1313 - 8871.

- 2 -

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. & Zhang, L. (2003). Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews*, 23(4): 519 - 534.

Richerdeforges, T. (2011). *Ruta graveolens* L. Morée. *BDNFF*.

Ruberto, G. & Baratta, M.T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69: 167 - 174.

- 3 -

Sharma, O.P. (1993). Plant taxonomy. *Tata Mc Graw- Hill Education, Rajcamal*, 244 - 246.

Shirwaikar, A., Rajendran, K. & Punitha, I.S.R. (2006). *In Vitro* Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine. *Biol. Pharm. Bull.*, 29(9): 1906 -1910.

Spigno, G., Tramelli, L. & De Faveri, D.M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200 - 208.

- 4 -

Tasset, J.L. (2004). Photoflora *Ruta chalepensis*. Hyères - Var, France, *BDNFF*.

Tasset, J.L. (2007). Photoflora *Citrus medica*. Menton - Alpes Maritimes, France, *BDNFF*.

Telli, A., Mahboub, N., Boudjeneh, S., Siboukeur, O.E.K. & Moulti-mati, F. (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété *ghars*, *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2): 107 - 114.

Références bibliographiques

Tounsi, S.M., Aidi-Wannes, W., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A. & 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.

Turgeon, M. (2001). Profil des produits forestiers première transformation. *Huiles essentielles. Gouvernement du Québec Ministère des Ressources naturelles, Bibliothèque nationale du Québec.*

- ♡ -

Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M. & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44 - 84.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1 - 40.

Vercauteren, J. (2012). Plan, formule et illustrations du cours de pharmacologie. 1 - 296.

Villaño, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M. & Garcia-Parrilla, M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71: 230 - 235.

Vundać, B.V., Brantner, A.H. & Plazibat, M. (2007). Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys taxa*. *Food Chemistry*, 104: 1277 - 1281.

- ≈ -

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

Références bibliographiques

Zouari, S., Ketata, M., Boudhriou, N. & Ammar, E. (2012). *Allium roseum L.* volatile compounds profile and antioxydant activity for chemotype discrimination – Case study of the wild plant of Sfax (Tunisia). *Industrial Crops and Product*, 41: 172 - 178.

Annexes

Annexe n° I : Composition chimique de *Ruta chalepensis* (Günaydin *et al.*, 2003)

No	Partie de la plante	Extrait	Composé
1	Fruit	Ethanol	Psoralen
2	Fruit	Ethanol	Bergapten
3	Racine	Ethanol	Isopimpinellin
4	Fruit	Ethanol	Xanthatoxin
5	Partie aérienne	Dichlorométhane	Moskachan C
6	Partie aérienne	Dichlorométhane	Dehydromoskachan C
7	Racine	Chloroform	5-Methoxydictamnine
8	Racine	Chloroform	Chalepimoskachan
9	Partie aérienne	Chloroform	Chalepin
10	Partie aérienne	Chloroform	Chalepensin
11	Racine	Chloroform	Chaloridone
12	Racine	Chloroform	Rutalpinin
13	Partie aérienne	Ether de pétrole	Taifine
14	Partie aérienne	Ether de pétrole	Isotaifine
15	Partie aérienne	Ether de pétrole	8-Methoxytaifine

Annexe n° II : Composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* d'Algérie en fonction de la partie de la plante étudiée (**Mergache et al., 2009**)

Composés ^a	IR ^b	Partie aérienne	Feuilles	Fleurs	Tiges
Limonène	1030	2.56	0.65	0.10	0.99
2-Nonanone	1086	22.89	12.45	2.01	18.16
2-Nonanol	1097	0.32	0.15	0.10	0.13
2-Décanone	1192	1.69	2.02	0.63	1.48
1-Décanol	1272	10.96	26.32	1.95	8.40
2-Undécanone	1297	43.71	40.61	68.95	38.38
2-Undécanol	1305	1.36	1.59	2.01	0.34
1,7Octadiene2,7diméthyl 3,6 bis (méthylène) ^c	1311	tr	0.00	0.00	1.95
1-Undécanol	1364	tr	0.29	0.10	0.30
2-Dodécanone ^d	1365	0.93	0.90	0.88	1.33
2-Dodécanone	1390	0.60	0.61	1.13	0.79
1-Dodécanol	1463	4.61	4.69	9.13	3.57
2-Tridécanone	1491	0.74	0.51	1.94	0.91
E-11, 13-diméthyl-12-tétradécène-1- ol acetate ^c	1525	0.05	0.14	0.15	0.34
Elémol	1553	0.36	0.22	0.21	0.90
Elémicin	1565	0.03	0.17	0.22	0.28
2-Butyl 4-(3',5'-benzo-dioxy)- acetate	1700	0.06	0.00	0.00	0.87
6-(3',5'-Benzo-dioxy)-3,3-diméthyl- 1-hexène	1753	0.32	tr	Tr	0.12
Chalepensisin	1890	0.05	0.02	Tr	0.11
Clausindin	1898	0.02	tr	0.02	0.11
Composés identifiés au total (%)		91.26	91.34	89.53	79.46

^a : Les composés sont listés selon leur temps de rétention sur colonne DB5. Les composés identifiés ayant une valeur inférieure à 0.01% sont notés comme traces (tr).

Annexe n° III : Matériel utilisé

Bain-marie Bensen.

Balance de précision.

Balance analytique.

Broyeur (Kika Labortechnik).

Etuve MEMMERT.

pH mètre.

Spectrophotomètre UV-visible SHIMADZU 1240.

Vortex.

Barreaux magnétiques.

Agitateur.

Micropipette Accumax.

Verrerie de laboratoire (bécher, éprouvette, pipette à graduations,...).

Annexe n° IV : Produits chimiques utilisés

Ethanol (C₂H₆O).

Méthanol (CH₃OH).

Eau distillé (H₂O_D).

Sulfate de sodium anhydre.

Folin-Ciocalteu à 10% : 10ml / 90ml d'H₂O_D.

Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2% : 2g / 100ml d' H₂O_D.

Chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2% : 2g / 100ml d' H₂O_D.

DPPH à 0,008% : 8mg / 100ml de méthanol.

Solution tampon phosphate à pH = 6,6:

- ✓ HK_2Po_4 : 4,565g / 100ml d' $\text{H}_2\text{O}_\text{D}$.
- ✓ KH_2Po_4 : 2,72g / 100ml $\text{H}_2\text{O}_\text{D}$.

Ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1% : 1g / 100ml $\text{H}_2\text{O}_\text{D}$.

Acide trichloracétique (TCA) à 10% : 10g / 100ml $\text{H}_2\text{O}_\text{D}$.

Chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1% : 0,1g / 100ml $\text{H}_2\text{O}_\text{D}$.

Antioxydants standards :

- ✓ Acide gallique.
- ✓ Quercétine.
- ✓ Tocophérol.

Résumé

Ruta chalepensis (Rutacée), est une plante aromatique médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans de nombreux pays, comme laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique, antiépileptique, emménagogue et pour le traitement des pathologies cutanées. Ces innombrables vertus thérapeutiques sont principalement dues à sa richesse en métabolites secondaires comme des polyphénols, des huiles essentielles, des alcaloïdes et des coumarines.

La partie aérienne de *Ruta chalepensis*, en provenance de la région de Kherrata (Algérie), a été utilisée pour l'extraction des polyphénols et de l'huile essentielle, dans le but d'en évaluer les activités antioxydants, par la mesure de l'effet scavenger du radical DPPH et du pouvoir réducteur.

L'extrait éthanolique de la plante s'est avéré contenir une teneur moyenne en composés phénoliques de l'ordre de $124,87 \pm 0,008$ mg EAG / 100g MS. L'huile essentielle obtenue a fourni un rendement de 0,61% et a montré une très faible teneur en polyphénols avec une valeur de 4 ± 0.33 mg EAG /100g MS.

Les résultats des activités antioxydants, ont montré que les polyphénols de *Ruta chalepensis* avaient une très bonne activité anti-radicalaire, avec une IC_{50} égale à $59,58 \mu\text{g/ml}$ et un excellent pouvoir réducteur, tandis que l'huile essentielle n'a donné qu'une très faible activité inhibitrice du radical et un pouvoir réducteur négligeable.

Mots-clés : *Ruta chalepensis*, Composés phénoliques, Huile essentielle, Activité antioxydant.

Abstract

Ruta Chalepensis (Rutaceae), is a medicinal aromatic plant widely used in traditional medicine in many countries, as a laxative, anti-inflammatory, analgesic, antispasmodic, antiepileptic, emmenagogue and to treat skin diseases. These myriad medical benefits are mainly due to its wealth of secondary metabolites such as polyphenols, essential oils, alkaloids and coumarins. The areal part of *Ruta chalepensis* cutted in the region of Kherrata (Algeria), was used for the extraction of polyphenols and essential oil, in order to evaluate there antioxydant activities by the measurement of the scavenger effect of the radical DPPH and the reducing power.

The ethanolic extract of the plant proved to contain an average content of phenolic compounds about $124,87 \pm 0,008$ Mg EAG / 100g MS of extract. Essential oil obtained provided a yield of 0, 61% and showed a very low content polyphenols with a value of 4 ± 0.33 Mg EAG / 100g MS.

The results of the antioxydant activities showed that the polyphenols of *Ruta chalepensis* had a very good scavenging activity, with an IC_{50} equal to $59, 58 \mu\text{g/ml}$ and an excellent reducing power, while essential oil gave only one very weak inhibiting activity of the radical and a negligible reducing power.

Key words: *Ruta chalepensis*, Phenolic compounds, Essential oil, Antioxydant activity.