



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB.BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE**

*En vue de l'obtention du diplôme de master en science de la nature et de la vie
Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes*

THEME

**Etude des propriétés pharmacologiques des extraits d'une plante
médicinale *Ruta chalepensis L.* et formulation pharmaceutique.**

**Date de soutenance :
Le 08/07/2018**

Présentées par:

- GRIB kheira.
- BOUMAAZA Amina.

devant l'honorable examinateurs composé de:

Mme. CHEBATA Nada.	MAA	USDB	présidente.
Mme. BELGUENDOZ Rachida.	MCA	USDB	Examinatrice.
Mme AYACHI Nabila.	MAA	USDB	Promotrice

Promotion : 2017-2018

Remerciement

Au terme de ce travail nous tenons à remercier :

Avant tout ALLAH, le tout puissant qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour accomplir notre travail.

On exprime d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Mme AYACHI N. Promotrice de ce travail, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations, ses encouragements et pour l'effort consenti à nous faire profiter de ses connaissances.

Mme CHEBATA N. d'avoir accepté de présider le jury

Mme BELGUENDOZ R. D'avoir bien voulu juger notre travail

Nous remercions également Mme GHANAI R. d'avoir accepté de nous aider tout aux longues de notre stage dans laboratoire de recherche de la spécialité biotechnologie et valorisation des plantes.

Nous remercions Mme AZINE. Mme Hafid et Mme Asmaa pour nous avoir guidés de la meilleure façon qui soit.

A toute personne ayant participé de pré ou de loin à notre formation et à tous Ceux qui nous ont apportés leurs soutiens encouragements durant la réalisation De ce travail.

Grib K. et Boumaaza A.

Dédicace

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

A Mes très chers parents, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui a toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines.

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: Fatma, Houria, Fatiha et Hamida, pour leurs conseils et leurs encouragements.

Mes très chers frères : Mohamed, Mahdi, Djamal, Mokhfi, Youssef, pour leurs soutiens et compréhensions et leurs encouragements.

Et les fleurs de ma maison : Touati, Mohamed, Djilali, Ahleme, Aya, Chemso, Safaa, Zahra, Amira, Mondhir Rabah, Mohamed, Adam, Islam.

Mes amies

"A toute la promotion Biotechnologie et valorisation des plantes, 2018".

"Kheira "

Dédicace

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

A Mes très chers parents, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui a toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. 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: Fouzia, Nora, Samia et Zineb pour leurs conseils et leurs encouragements.

Mes très chers frères : Amine et Ridha pour leurs soutiens et compréhensions et leurs encouragements.

Et les fleurs de ma maison : Zaki ; Serine et Adame

Mes amies

"A toute la promotion Biotechnologie et valorisation des plantes, 2018".

" Amina "

*Etude des propriétés pharmacologiques des extraits d'une plante médicinale *Ruta chalepensis* L. et formulation pharmaceutique.*

RESUME

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales méditerranéennes particulièrement les espèces très connues et répandues en Algérie, nous avons mené une étude sur la phytochimie et différentes activités biologiques des extraits aqueux et d'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de la région de Blida. Qui est une plante cultivée, aromatique et médicinale, appartenant à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale « Fidjel ». Le screening phytochimique a mis en évidence la présence d'une série de métabolites secondaires : (coumarines, flavonoïdes, d'alcaloïdes, mucilages, tanins, glycosides et d'anthocyanes.). L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de *Ruta Chalepensis* L. a révélé un rendement de l'ordre de **3.8%**. Les essais pharmacologiques ont montré que les infusés testés de *Ruta chalepensis* L. possèdent un effet anti-inflammatoire de **43.68%** comparé à **63%** pour le diclofenac et un effet antispasmodique de **53.11%** comparé à **78,4 %** pour l'ibuprofène. Les résultats de l'activité antioxydante ont montré un pouvoir antioxydant avec un **IC₅₀** de **0,181mg/ml** des polyphénols et **0,135mg/ml** pour l'extrait aqueux. L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur des souches bactériennes et fongiques est mise en évidence par la méthode des aromatogrammes a révélé de très bons résultats avec : *Staphylococcus sp* **35mm** (diamètre d'inhibitions), *Enterococcus faecalis* **30mm**.

Mots clés : *Ruta chalepensis* L., métabolites secondaires, huile essentielle, activité anti-inflammatoire, activité, antispasmodique, pouvoir antioxydant, activité antimicrobienne.

الملخص

كجزء من تهمين الأنواع النباتية الخاصة بالبحر الأبيض المتوسط و بالأخص الانواع المنتشرة في الجزائر اجرينا دراسة لمعرفة التركيب الكيميائي و تقييم مختلف النشاطات الحيوية لمستخلصات النوع النباتي، المتمثل في الزيوت الطيارة و المستخلصات المائية للسذاب المتواجدة بمنطقة البليدة *Ruta chalapensis L* السذاب من النباتات الطبية والعطرية التي تنتمي إلى العائلة السذابية تسمى عند المجتمعات المحلية الفيجل ، ينتشر الي حد كبير في شمال افريقيا و الجزائر خصوصا. حيث كشف الفحص الكيميائي النباتي توفر سلسلة من الفئات الكيميائية (كومارينات، الفلافونات، الفلويدات، التانينات، الستيروول و كومارينات و الغلوسيدات ، الانتوسيان، الموسيلاج)، كما أعطت عملية استخراج الزيوت الأساسية من الجزء العلوي للنوع المدروس عن طريق التقطير مردودا قدره 3.8%. كما أن النتائج المتحصل عليها تبين أن للنبته تأثير مسكن قدره 53.11 % بالمقارنة مع المرجع ايبيريوفان 78,4%. و تأثير مضاد للالتهاب بنسبة 43.68% بالمقارنة مع المرجع ديكلوفيناك 63% . كما اظهرت نتائج النشاط المضاد للاكسدة فعالية قدرت ب 0.181 مغ/مل بالنسبة للبوليفينول ونسبة 0.135 مغ/م للمستخلص المائي. كما اعطت دراسة النشاط المضاد للميكروبات بواسطة الزيت الاساسي عن طريق تقنية اروماتوغرام نتائج جيدة جدا: (قطر التثبيط) مم 35 Staphylococcus sp و مم 30 Enterococcus faecalis.

الكلمات المفتاحية : الفيجل ، الفحص الكيميائي ، الزيت الأساسي ، البوليفينول ، مضاد للالتهاب ، مسكن ، مضاد للاكسدة ، مضاد للميكروبات.

Etude des propriétés pharmacologiques des extraits d'une plante médicinale Ruta chalepensis L. et formulation pharmaceutique.

Summary

As part of the development of Mediterranean vegetable species particularly the species, so much known and used in Algeria, we have taken a study on the phytochemical and biological activity of the extract and essential oil of *Ruta chalepensis L.* of the region of Blida. *Ruta chalepensis L.* is an aromatic plant, belonging to the family of Rutaceae, called commonly by the local population "Fidjela" and is widely spread in North Africa. The phytochemical screening revealed the presence of coumarins, flavonoids, alkaloids, tannins, mucilages, glycosides and anthocyanes. The extract of essential oil by distillation of *Ruta chalepensis L.* in Boumerdes has a yield of the order of **3,8%**. The pharmacological tests have shown that the infusion of *Ruta chalepensis L.* possesses an anti-inflammatory effect of **43,68%** compared with the reference product Diclofenac **63%** and an antispasmodic effect of **53,11%**, compared with the reference product ibuprofen **78,4%**. These extracts (crude extracts, flavonoids and alkaloids) have shown a medium power to reduce Iron and free radical scavenging (DPPH), which means the IC_{50} is between **0,181mg/ml** of polyphenolic and **0,135mg/ml** of the extract. The essential oil of the stations Somaa has a good antibacterial activity against several species including, *Staphylococcus sp* **35mm** (diameter of inhibition), and *Enterococcus* **30mm**.

Keywords: *Ruta chalepensis L.*, secondary metabolites, essential oil, antioxidant power, antimicrobial activity.

Liste des figures

Figure 01 : <i>Ruta chalepensis L</i>	10
Figure 02 : Caractéristique morphologique de <i>Ruta chalepensis L</i>	12
Figure 03 : Carte géographique de la distribution de l'espèce <i>Ruta chalepensi L</i>	14
Figure.04 : <i>Ruta chalepensis L</i>	23
Figure.05 : la localisation de Soumaa dans la willaya de Blida.....	24
Figure.06 : Séchage de plantes récoltée	25
Figure07 :coupe histologie de la tige de <i>Ruta chalepensis L</i>	27
Figure.08 : coupes histologie de la feuille de <i>Ruta chalepensis L</i>	27
Figure.09 : Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydro distillation (Clevenger).....	31
Figure.10 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH.....	33
Figure .11 : Schéma de protocole expérimental de l'activité antioxydant	34
Figure. 12 : L'ensemencement des souches microbienne	40
Figure 13 : l'obtention d'un mélange homogène	40
Figure 14 : Herbar de <i>Ruta chalepensis L</i>	41
Figure15 : Vue à la loupe binoculaire de la face supérieure d'une feuille de <i>Ruta chalepensisL L (Gx 4.5)</i>	42
Figure 16 : Vue des glandes à huile de type schisolysigènes au niveau de feuille de <i>Ruta chalepensis L</i> . au microscope photonique (Gx250)	42
Figure.17 : Observation de la fleur de l'espèce <i>Ruta chalipensis L</i> sous la loupe binoculaire.....	43
Figure.18 : Observation de sépale(A) et de pétale(B) de l'espèce <i>Ruta chalipensis L</i> . sous la loupe binoculaire	43
Figure.19 : Observation d'étamine de l'espèce <i>Ruta chalipensis L</i> . sous la loupe binoculaire	43
Figure.20 : Observation de L'ovaire de l'espèce <i>Ruta chalipensis L</i> . sous la loupe	43

Liste des figures

Figure 21 :Fleur de <i>Ruta chalepensis</i> Lvue à la loupe binoculaire (Gx2,5)	44
Figure 22 :Tige de <i>Ruta chalepensis</i> L. vue a l œil nu.....	44
Figure 23 : Coupe transversale de l axe d'une feuille de <i>Ruta chalepensis</i> L. vu au microscope optique après double coloration(Gx100).....	45
Figure 24 : Schéma de Poche glandulaire endogène vue en coupe d'une feuille de rue fétide (<i>Rutacée</i>)	45
Figure 25 : Coupe transversale de la tige de <i>Ruta chalepensis</i> L. vu au microscope optique après double coloration(Gx100).	46
Figure 26 : Coupe transversale au niveaux de la feuille de <i>Ruta chalepensis</i> L. observé au microscope optique après double coloration (GX250).	47
Figure 27 : Observation des poches a huile au niveaux des pétales de la fleur de <i>Ruta chalepensis</i> observé au microscope optique après double coloration (G×100).	48
Figure 28 : Rendement en polyphénols de <i>Ruta chalepensis</i> L.	50
Figure. 29 : la courbe de l'acide galique	51
Figure 30 : huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i>	52
Figure 31 : Huile essentielle de <i>Ruta Chalepensis</i> L.....	53
Figure 32 : Rendement en huile essentielle de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	53
Figure 33 : Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les 3 lots testés.....	54
Figure 34 : l'activité anti oxydante de poly phénole de <i>Ruta chalipensis</i> L	56
Figure 35 : l'activité anti oxydante de L'extrait de <i>Ruta chalipensis</i> L.....	56
Figure 36 : Pourcentage de réduction du radical libre de DPPH.....	56
Figure37 : Sensibilité observées chez les souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Ruta chalipensis</i> L.....	59
Figure 38 : Sensibilité observées chez les souches fongiques vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Ruta chalipensis</i> L.	60
Figure 39 : Vue de la pommade de <i>Ruta chalipensis</i> L.sous le microscope optique GX100	61

Liste des figures

Figure 40: formulation de pommade a base de l'extrait ethanologique de <i>Ruta chalapensis L</i>	61
--	----

Liste des tableaux

Tableau 01: Classification taxonomique de <i>Ruta chalepens</i>	11
Tableau 02 : Principaux noms vernaculaires de <i>Ruta chalepensis L.</i>	11
Tableau 03 : résume les caractéristiques propres à chaque organe de la plante	13
Tableau 04: Les souches microbiennes utilisées	25
Tableau 05: Classement des zones d'inhibition	39
Tableau 06: Teneur en eau contenue dans l'espèce.....	48
Tableau 07: Résultats d'identification de métabolites secondaires de plante étudiée : <i>Ruta chalepensis L.</i>	49
Tableau 08 : Les résultats de l'activité antalgique de l'extrait aqueux de <i>Ruta chalepensis L.</i>	55
Tableau 09: Concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) des extraits testés.....	57
Tableau 10: Valeurs des IC50 des antioxydants standards et des polyphénols de <i>Ruta chalepensis L.</i> Substance IC50 (µg/ml)	58

Liste des abréviations :

D : dilution.

DO : densité optique.

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EethOH : Extrait éthanolique

HE : Huile essentielle

IC₅₀ : concentration inhibitrice de 50% des radicaux.

MH : Muller Hinton.

PhOH : polyphénol

PPT : poly phénols totaux

RL : Radical libre

SAB : Saburraux

RC : *Ruta chalapensis L*

AB : Activités biologiques

FP : formulation de pommade

Glossaire

Agent pathogène : un germe qui peut provoquer une maladie. (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Analgésique ou Antalgique : C'est un médicament capable de diminuer la perception des sensations douloureuses sans entrainer la perte de conscience (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Antifongique : substance actives contre les champignons ou levures parasitaires de l'homme , végétaux ou des animaux (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Antiseptique : Un antiseptique est un désinfectant à usage corporel ; c'est une substance qui tue ou prévient la croissance des bactéries, champignons et des virus sur les surfaces externes du corps (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Carragénine : C'est un Mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Diclofénac : est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques. Il possède les propriétés suivantes : activité antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et inhibition de courte durée des fonctions plaquettaires. L'ensemble de ces propriétés est lié à une inhibition de la synthèse des prostaglandines (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Effet anti-ulcère : ces médicaments sont utilisés dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal. Ils ont pour but de lutter contre la douleur due à une acidité gastrique trop forte ou contre les lésions de l'estomac, s'il est déjà endommagé par les sécrétions acides (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Emménagogue : Activité contre les douleurs de cycle menstruelle (Fakhfakh et al., 2012).

Gavage : Le gavage est une technique d'alimentation forcée pratiquement chez l'Homme et l'animal (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Gynotype : c'est l'ensemble ou une partie donnée de l'information génétique (composition génétique) d'un individu. Le **génotype** d'un individu est donc la composition allélique de tous les gènes de cet individu (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Herbacées : En botanique, une *herbacée* désigne toute plante vivace, annuelle ou bisannuelle qui n'a pas de tige ligneuse persistante au dessus du sol, ou dont l'aspect est de la nature de l'herbe verte par opposition à ce qui est ligneux. Ainsi, les **plantes herbacées** sont des plantes frêles non ligneuses, molles, qui ne produisent pas de bois (siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013).

Glossaire

In vitro : (en latin : « dans le verre ») signifie un test en tube, ou, plus généralement, en dehors de l'organisme vivant ou de la cellule. Un exemple est la fécondation **in vitro** (FIV) (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).
Le liber : ou phloème secondaire est produit par le cambium vers l'extérieur. C'est la zone où circule-la élaborée. Le liber est constitué de tubes criblés, de leur cellule compagne, de parenchyme et de fibres (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Laxatif : Produit accélèrent le transit intestinal (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Le phloème : est le tissu conducteur de la sève élaborée qui est une solution riche en glucides tels que le saccharose, le sorbitol et le mannitol chez les plantes vasculaires (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

levuriformes : en biologie, désigne un microorganisme apparenté à une levure (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Molécules bioactives : Molécules qui possèdent des propriétés biologiques ou des substances biologiquement actives dans un but curatif ou préventif (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Mycéliennes : (Mycéliens) Le mycélium est la partie végétative des champignons ou de certaines bactéries filamenteuses comme les Actinomycètes. Il est composé d'un ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, appelés hyphes, que l'on trouve dans le sol ou le substrat de culture (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

OEdème : C'est un gonflement anormal d'un tissu.

OEdème : Gonflement des tissus provoqué par une infiltration de liquide interne (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Phylogénique : Le terme phylogénétique provient de "phylogénèse" qui est l'évolution des espèces. Phylogénétique est donc employé pour décrire un phénomène relatif à l'évolution des espèces (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Pommade : préparation de consistance molle, pour l'usage externe, composée de la substance médicamenteuse associée à un corps gras qui sert d'excipient (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Sedative : Se dit d'une substance qui agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Spasme : Contraction pathologique des muscles et spécialement des muscles lisses.

Superoxyde : L'ion **superoxyde**, noté O_2^- ou $O_2^{\cdot-}$ (la deuxième écriture ne fait pas apparaître explicitement le caractère radicalaire) est issu de la réduction monoélectronique du

Glossaire

dioxygène (O₂)¹. L'ion superoxyde est paramagnétique (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Vaseline : C'est une substance pâteuse, d'une certaine onctuosité. Utilisée comme excipient dans les pommades.

Xylème : Le xylème ou tissu xylémique, est un constituant des tissus végétaux formé de l'association de vaisseaux, de cellules mortes ou vivantes de soutien et de cellules associées (**siham CHAUCHE-MAZOUNI,2013**).

Table de matières

Résumé

Introduction..... 1

Chapitre I : Bibliographique

Partie 01 : Métabolites secondaire

1.1. Définition	2
1.2 .Classification des métabolites secondaires.....	2
1.3. Fonction des métabolites secondaires	2
1.4. Les composés phénoliques.....	3
1.5. Autres composes	4
1.6.Les huiles essentielle.....	6

Partie 02 : La plante étudié

2.1. Présentation de la famille des rutacées.....	8
2.2. Aperçu sur le genre Ruta.....	8
2.3. Les variétés de la rue.....	9
2.4. <i>Ruta chalepensis</i> L.....	9
2.4.1.Définition.....	9
2.4.2. Description générale.....	10
2.4.3. Systématique de <i>Ruta chalepensis</i>	11
2.4.4. Noms vernaculaires de l'espèce (<i>Ruta chalepensis</i> L).....	11
2.4.5.Caractéristiques des différentes parties de la plante.....	11
2.4.6. Origine et répartition géographique.....	12
2.4.7. Phytochimie de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	13
2.4.8.Utilisation de la plante.....	15
2.4.9.Mode d'emploi du <i>Ruta chalepensis</i> L.....	17

Table de matières

2.4.10. Les Activités des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	18
2.4.11. Toxicité de <i>Ruta chalepensis</i> L.....	19

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique.....	23
1.1.1. Matériel végétal.....	23
1.1.2. Souches microbiennes utilisées.....	25
1.1.3. Matériel animal.....	26

2. Méthodes

2.1. Identification de l'espèce étudiée	26
2.2. Étude macroscopique et botanique des différentes parties de la plante	26
2.3. Etude Anatomique.....	26
2.4. Étude phytochimique de la plante.....	27
2.4.1. Détermination de la teneur en eau	27
2.4.2. Screening chimique	28
2.4.3 Extraction des polyphénols.....	29
2.4.3.1. Détermination du rendement de l'extraction.....	30
2.4.3.2. Dosage des polyphénols totaux.....	30
2.4.4. Extraction de l'huile essentielle.....	31
2.5. Activités biologiques.....	32
2.5.1. Activité antioxydant.....	32

Table de matières

2.5.2. Activité anti-inflammatoire.....	35
2.5.3. Activité antalgique.....	37
2.5.4. Activité antimicrobienne.....	38
2.6. Formulation galénique.....	40

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'étude botanique de la plante étudiée.....	48
2. Etude macroscopique et microscopique de la plante.....	48
3. Etude Anatomique	45
4. Résultats de l'étude phytochimique.....	49
4.1. Détermination de la teneur en eau.....	49
4.2. Résultats des tests photochimiques (screening)	50
4.3. Résultats de l'extraction de polyphénols.....	51
4.4. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle.....	53
5. Activités biologiques	55
5.1. Activité anti-inflammatoire.....	55
5.2. Activité antispasmodique.....	56
5.3 Activité anti-oxydante.....	57
5.4. Activité antimicrobienne.....	60
6. La formulation galénique.....	62
- Conclusion	
- Référence bibliographiques	
-Annexe	

Introduction

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 (**Bouzid., 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**).

Et d'après la médecine traditionnelle Algériennes nous avons trouvé que notre grande mère utilise la rue comme un remède pour plusieurs thérapies sans confirmation scientifique, ci pour ça en a essayé de confirmer l'hypothèse, par des méthodes scientifiques pour un but d'enrichir notre choix des remèdes biologiques et plus efficaces et pour valoriser une plante Algérienne facile à cultiver et à utiliser.

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**).

Le présent travail a été consacré à l'étude phytothérapeutique à travers l'extraction des polyphénols totaux et l'huile essentielle de cette plante puis à l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques tels que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique et antimicrobienne de ces extraits et formulation galénique (préparation d'une pommade à base des PPT).

Ce manuscrit se subdivise en deux parties, une partie bibliographique consacrée aux rappels théoriques et une partie expérimentale partagée en deux chapitres ; un chapitre matériels et méthodes où nous exposons les matériels et les méthodes d'études et un chapitre résultats et discussion, enfin nous concluons par une conclusion.

Chapitre I : **partie bibliographique**

Partie I : Les métabolites secondaires

I.1.1. Définition

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques **(Guillaume, 2008)**.

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies **(Hartmann, 2007)**.

I.1.2. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine **(Krief, 2003, Havenet al., 2000)**.

I.1.3. Fonction des métabolites secondaires

I.1.3.1. Fonctions pour la plante

La coopération avec les animaux (Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminèrent) et Lutte contre la compétition avec d'autres plantes (Les métabolites secondaires participent à des réponses allélopathiques) Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (utiliser comme des composés de défense contre les escargots et autres herbivores **(Wink, 2003)**.)

I.1.3.2. Rôle pour l'Homme

Dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique **(Bahorun, 1997)**.

1. Utilisation en médecine

Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'Homme :

- en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux.

- systèmes cardiovasculaires
- drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire
- contre le diabète
- les maladies du stress (**Lee et al., 2005**).
- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire (**Mohammedi, 2006**).

2. En Agriculture exemple : les huiles utilisées comme bio pesticide

3. En alimentation : Les épices et les herbes aromatiques (**Mohammedi, 2006**).

4. En cosmétique : Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (**Mohammedi, 2006**).

I.1.4. Les composés phénoliques

I.1.4.1. Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière (**Nkhili, 2009**).

Ils ont largement distribués et comportant au moins 9000 structures connues différentes (**Bahorun, 1997**). Ces corps jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (**Scalbert et al., 2005**).

I.1.4.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Des propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne,

anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective (**Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouriet *al.*, 2007**).

- Effets antioxydant
- Effets anti-trombotique et vasodilatatoires
- Effet antiallergique
- Effet anti-inflammatoire
- Effet anti-ulcère
- Effet anticancéreux

Le Rôle des polyphénols chez la plante c'est les fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs (**Maillard, 1996**). Nous avons classé selon les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (**Glombitza, 1985 ; Harborne, 1980 ; Goodwin, 1988 ; Porter, 1989;Boros, 2010**).

Les Polyphénols sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochockda *et al.*, 1995 ; Taguchi, 2000 ;Ojala *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2004 ; Khan *et al.*, 2005 ; Thati *et al.*, 2007 ; Stefanova *et al.*, 2007).

Pour l'activité antibactérienne, les Polyphénols sont efficaces contre les bactéries à Gram positif (Cottiglia *et al.*, 2001 ; Laure, 2005 ; Khan *et al.*,2005).

I.1.5. Autres composés

- **Les flavonoïdes**

Le terme flavonoïde (de favus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002**).

- **Les lignanes**

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Les lignanes sont les Dimères des unités de phenylpropane (C6 C4) (**Benarous, 2009**).

Selon (Yousefzadi et al., 2010), les lignanes présentent Plusieurs activités biologiques montrant les Antiviral, anticancéreux, antimicrobien et Antioxydant.

- **Les stilbènes**

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux Aromatiques reliés par un double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes (Crozier et al., 2006)

- **Les coumarines**

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où futisolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford et al., 2001).

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses Activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochocka et al., 1995).

- **Les tannins**

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (Bruneton, 1999).

La précipitation des protéines par les tanins protège les microorganismes du rumen de leurs effets délétères. Elle permet également le recyclage de l'urée. Elle participe également à l'activité antidiarrhéique, en protégeant les organes digestifs des attaques nuisibles. Les tanins ont également un pouvoir cicatrisant car ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle (Brunet, 2008).

- **Les alcaloïdes**

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale a caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga; 2011).

L'origine des alcaloïdes vrais remontent aux acides aminés entre autres. les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine , acide aminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine.

D'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive

(réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**).

Les alcaloïdes tout d'abord, ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante, parmi ces effet, selon (DA CONCEICAO en **2010**) : ils Régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils Protègent la plante contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les herbivores. (**Mauro, 2006**).

- **Les terpenoïdes**

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (**Benaissa, 2011**).

- **Produits de dégradation des tri-terpènes (les stéroïdes)**

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes. Ils constituent une classe de composés abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal).

Dans les plantes, algues, champignons, ainsi que chez les animaux, le cholestérol est la source de tous les métabolites de type stéroïdes (**Benaissa, 2011**).

I.1.6. Les huiles essentielles

I.1.6.1. Définition

Le terme huiles essentielles (HES) dérive de « quintaessentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelse aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (**Khenaka, 2011**).

I.1.6.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont retrouvées chez les Spermaphytes qui inclus les Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc. (**Rakotonanahary, 2012**).

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, des écorces, des bois, des racines, des rhizomes, des fruits, des graines (**Figueredo, 2007**).

I.1.6.3. Propriétés physico-chimique des huiles essentielles

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène, qui a des propriétés communes représentées dans les points suivants :

- Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes.
- Elles sont plus ou moins colorées
- elles peuvent conférer leur odeur à l'eau.
- leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.
- Leur indice de réfraction et pouvoir rotatoire sont très élevés.
- Elles sont entraînaibles par la vapeur d'eau, soluble dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau.
- Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Rakotonanahary, 2012 ; Laib, 2011**).

3.4. Activité biologiques des huiles essentielles

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs. Les huiles essentielles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales et antiparasitaires. Dû leur vaste utilisation dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique. Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (**Laib, 2011**).

1. Activité antioxydant
2. Activité antibactérienne
3. Activité antifongique

I.1.6.5. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5g/kg. Chez l'Homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles (**Laib, 2011**).

I.1.6.6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielle

Entraînement à la vapeur, Hydro-distillation, Solvant organiques, CO₂ supercritique, Micro-ondes, Ultra-sons, Initiation, Enfleurage, Expression

Partie 02 : Etude botanique de *Ruta chalepensis* L.**I.2.1. Présentation de la famille des rutacées**

La famille des rutacées est une famille de plantes dicotylédones. Elles comprennent plus de 700 espèces en grande partie arborescente et appartenant aux pays chauds, ce sont des arbres, arbustes ou plus rarement des plantes herbacées productrices d'huile essentielles. Les caractères morphologiques de cette famille sont assez variables, le plus caractéristique est la présence de glandes à huiles essentielles visibles sur les feuilles sous la forme de points translucides. La plupart des plantes de cette famille sont toxiques. En effet, les rutacées sont riches en furanocoumarines photosensibilisantes qui sont responsables de manifestations phytotoxiques.

Les rutacées sont essentiellement tropicales, sont particulièrement bien diversifiées dans le sud de l'Asie, de l'Afrique et en Australie. Certaines espèces habitent les régions subtropicales et tempérées de l'hémisphère Nord, notamment le pourtour méditerranéen et le sud de l'Europe. Les rutacées vivent dans les milieux naturels très variés. **(P. crété, 1965).**

La famille est remarquable par la diversité de ses fruits qui peuvent être une baie à paroi coriace ou une capsule. La plupart de ces espèces sont pollinisées par des insectes divers surtout les abeilles et les mouches qui sont attirés par les fleurs souvent spectaculaires produisant du parfum et du nectar. La majorité sont allogames en raison de leurs fleurs unisexuées ou dans le cas de fleurs hermaphrodites parce que les stigmates et les anthères sont distants spatialement ou ont des périodes de maturité différentes **(Judd et al., 2002).**

I.2.2 Aperçu sur le genre *Ruta*

Le genre *Ruta* comporte beaucoup d'espèces originaires du pourtour méditerranéen et du Moyen Orient mais qui ont été acclimatées dès la moyenne Age dans les régions tempérées plus froides de l'Europe. Les Espagnols et les Portugais les ont introduites au 16^{ème} siècle en Amérique du Sud **(Nazich et al., 2009).**

Ces espèces se différencient par rapport aux autres espèces de la même famille par une tige ramifiée de couleur verte pâle. Les feuilles sont séquées et cela d'autant plus que leur niveau d'insertion sur l'axe est plus bas. Les fleurs sont groupées au sommet de la tige en une cyme composée. La fleur centrale de l'inflorescence est pentamère, toutes les autres sont tétramères. Dans l'un et l'autre cas l'androcée est complet, avec 10 ou 8 étamines, et obdiplostémone. Le gynécée repose sur un disque épais, surmontant le point d'insertion des étamines. Les

carpelles au nombre de 5 ou 4 et multiovulés, donnent autant de coques à déhiscence suturales et contenant des graines albuminées (Crété, 1965).

I.2.3. Les variétés la rue

Les plus importantes espèces représentatives du genre on cite : *Ruta graveolens* Pers. (la rue fétide) et *Ruta chalepensis* L. L. qui sont les plus connue et utilisées, dans une moindre mesure *Ruta montana* L., *Ruta angustifolia* L., *Ruta corsica* DC. (Duval, 1992).

- *Ruta Montana*: c'est la rue des montagnes (synonymes: *Ruta légitima* Jacq.; *Ruta tenuifolia* Gouan). Appelé vulgairement en Algérie fidjlet el-djbel ou Fidjela, a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (BABA AISSA, 1999).
- *Ruta graveolens*: *graveolens* vient du latin 'gravis' qui signifie fort et de verbe 'olere' qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable. Appelée aussi rue- officinale, rue puante, rue fétide, rue des jardins. Herbe à la belle-fille, cette espèce est appelée vulgairement Fidjien. فيجن
- *Ruta chalepensis* :(décrite si dessous et plus détailler).

I.2.4. *Ruta chalepensis* L.

I.2.4.1. Définition

Chalepensis signifiant « d'Alep» (ville de Syrie) indique le lieu d'origine des spécimens ayant servi à identifier et classer cette espèce en premier lieu ou simplement l'abondance de celle-ci dans la région (Benstone, 1984).

Le mot « *Ruta* » est dérive d'un mot grec signifiant « qui libère » il fait allusion aux propriétés médicinales de ces plantes qui avaient la réputation de «soulager » tant de maux de l'empoisonnement aux troubles psychiques.

C'est une ancienne herbe médicale qui a longtemps été utilisée comme contrepoison et comme talisman contre la sorcellerie chez les Grec. Les Romains l'utilisaient surtout pour améliorer la vision (Duval, 1992).

Aristote dans son "Histoire des animaux IX-6" rapporte que la belette avant de combattre les serpents, se frotte contre cette plante redoutée des reptiles où cette croyance est encore vivace de nos jours (**web master 3**).

I.2.4.2. Description générale

Ruta chalepensis L 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**).



FIGURE 1.55 - *Ruta chalepensis* L.



Figure 01 : *Ruta chalepensis* L

I.2.4.3. Systématique de *Ruta chalepensis*

Tableau 01: Classification taxonomique de *Ruta chalepensis* L (Bock, 2011) :

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

I.2.4.4. Noms vernaculaires de l'espèce (*Ruta chalepensis* L)

Français : Rue de chalep (Bock, 2011)

Arabe : Fijel فيجل (Lamnauer et Batanouny, 2005)

Berbère : Aourmi (Lamnauer et Batanouny, 2005)

Anglais : Fringed Rue (Bock, 2011)

Espagnole : Ruda (Bock, 2011)

Italien : Ruta d'Aleppo (Bock, 2011)

I.2.4.5. 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).

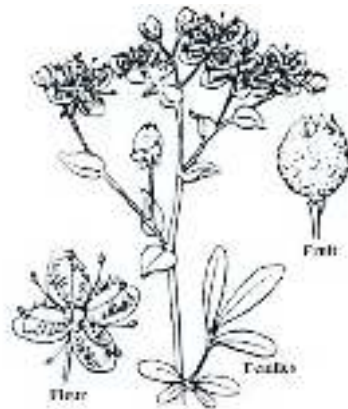


Figure 02: Caractéristique morphologique de *Ruta chalepensis* L.

(Quézel & Santa, 1962, in Bouzidi 2013).

Résume les caractéristiques propres à chaque organe de la plante

- **La tige :** Tiges droites, rameuses, cylindriques, dures, glabres, hautes de trois à quatre pieds, d'un verre glauque. Également non glanduleuses (Lamarck, 1804)(Bock, 2011).
- **Feuille :** 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).
- **Fleur :** 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).
- **Fruit :** 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.2.4.6. Origine et répartition géographique

Plante originaire du Sud est de l'Europe (Ukraine, Albanie; Bulgarie et ex-Yougoslavie). Elle est largement ré pondue dans toute l'Europe et en Afrique du Nord. *Ruta chalepensis* L. est une espèce méditerranéenne bien connue en toute l'Algérie, elle existe a l'état spontané dans les rocailles et les endroits secs du Tell (**Jaque et Paltz, 1995**).

Selon **Eberhard et al (2005)**, *Ruta chalepensis* L. ré pondue dans toute la région Méditerranéenne, cultivée à l'Ouest de l'archipel indonésien, au Mexique, en Amérique centrale et en Amérique de Sud. 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 03 : Carte géographique de la distribution de l'espèce *Ruta chalepensis* L. dans les pays méditerranéenne.

I.2.4.7. composition de *Ruta chalepensis* L.

Ruta chalepensis L est une source riche en métabolites secondaires importants tels que des furanocoumarines, des alcaloïdes et bien d'autres substances 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 :

- **Les 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, dictamnine,

kokusaginine, pteleine .

- Quinazoline alcaloïdes : comme l'arborine (**Tounsi et al., 2011**).
- **Les coumarines** : les Coumarines sont un groupe de composés dérivant du 1,2-benzopyrone et qui sont largement distribués dans le règne végétal comme la annelle, 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 chalepsin,

l'isopimpinelline, et le psoralen .

- Des coumarines glucosidiques : la rutarensine, et la daphnorétine (**Lamnaouer, 2002**).
- **Les 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 qui est aussi appelé « vitamine P » isomère de la Quercétine (**Attou, 2011**).

- **Les 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 leurs synthèse et localisation sont souvent associées à la présence de structures histologiques spécialisées (poches schisolysigènes 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* L 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-undécanone est le constituant majoritaire de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L 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**).

- **Autres composés :** Les feuilles et les jeunes tiges de *Ruta chalepensis* L 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**).

I.2.4.8. L'utilisation de la plante

A. Culinaire

Les feuilles fraîches ou séchées sont utilisées en petites quantités (très amères) dans les sauces, œufs brouillés ou omelettes, fromages blancs et beurres aux herbes.

Très prisée des Anglo-saxon, *Ruta chalepensis* L. sert aussi à aromatiser des boissons alcoolisées, la bière mais aussi le vin blanc dont elle rehausse le bouquet.

Ainsi les feuilles fraîches peuvent être utilisées pour assaisonner les sauces et les plats de viande mais utiliser modérément à cause du goût amer et des risques de toxicité (**Eberhard et al., 2005**).

B. Médicinale

- **Peau:** l'effet de la rue sur la peau revêt deux aspects. D'une part, la rue, comme plusieurs rutacées et certaines ombellifères, contient des composés susceptibles de provoquer des dermatites sous l'action du soleil. D'autre part, il est reconnu depuis longtemps que le jus ou la sève des feuilles de la rue sert d'antidote contre les morsures de serpent, les piqûres d'insectes et les allergies dues aux plantes. Elle servirait également à soigner les maladies de peau comme le psoriasis ainsi que les blessures (**Duval, 1992**).
- **Système nerveux:** la rue est antispasmodique. Les Arabes en mâchent les feuilles, ce qui est sensé calmer tout trouble d'origine nerveuse. Les feuilles fraîches écrasées en application externe soulagent la sciatique. Traditionnellement, la rue était utilisée dans les cas d'épilepsie. Les victimes de

la maladie portaient des feuilles de rue au cou pour prévenir les crises (Ait, 2006).

- **Circulation sanguine:** une des propriétés reconnues de la rue est sa capacité pour abaisser la pression artérielle, ce qui en fait une plante utile pour le traitement des vaisseaux sanguins. La rue accroît également le flot sanguin du système gastro-intestinal, protégé dans le cas de coliques ou troubles digestifs (Ait, 2006).
- **Sens:** Les anciens reconnaissaient les vertus de la rue dans les cas de trouble de la vue. En homéopathie, le jus extrait des plantes fraîches est utilisée pour renforcer la vue, il conseille pour soigner les cataractes de dissoudre les fleurs de rue dans un plat d'eau peu profond exposé au soleil. On baigne les yeux plusieurs fois par jour avec le liquide jaune obtenu en pressant les fleurs ayant trempées dans l'eau. Le jus chauffé soulagera les maux d'oreilles (Ait, 2006).

- **Fertilité:**

Le pouvoir de la rue est redoutable en ce domaine, la plante agissant sur l'utérus. En petites doses, la rue est bonne pour le soulagement des dysménorrhées. A plus forte dose, la rue est abortive et son utilisation a donc été envisagée comme 'pilule du lendemain'. Autrefois, la rue était utilisée comme anaphrodisiaque pour encourager à la chasteté (Ait, 2006).

- **Parasites:** la rue est un antihelminthique, un vermifuge et un anti-amibien (Ait, 2006).
- **Usage vétérinaire:** la rue a déjà été employée dans de nombreux remèdes vétérinaires surtout pour aider à la délivrance et contre la météorisation chez les bovins, caprins et ovins. D'autre usages, ceux-là empiriques, incluent le traitement des fièvres persistantes des bovins, les parasites intestinaux; de la morve des chevaux; des parasites externes et la prévention de la rage. En homéopathie animale, la rue entre dans la composition d'un remède antirhumatismal et d'une poudre calcique (Ait, 2006).

Les symptômes d'un empoisonnement à la rue chez les animaux sont: salivation, gastro-entérite aiguë, excitation puis prostration, bradycardie et avortement (Ait, 2006).

C. Agricoles

La rue, par sa forte odeur et ses composés puissants, est utilisée pour le contrôle des ravageurs, notamment contre les insectes. La rue est toxique pour les mollusques, les poissons et les oiseaux. Elle serait aussi nématicide (Duval, 1992).

D. Cosmétique

L'huile essentielle de *Ruta Chalepensis L* est utilisée dans le domaine de la parfumerie (Baba Aissa, 1991).

E. Ecologique et horticole

Elle permet la fixation du sol donc le protéger contre l'érosion. On trouve cette plante dans la plupart des jardins pour son parfum, sa saveur, et sa décoration.

I.2.4.9. Mode d'emploi du *Ruta chalepensis L*

- **Infusion:** mélangé à du jus de citron, contre les coliques, les vers intestinaux et traitement des règles douloureuses, des affections respiratoires, des paralysies, de la goutte, de l'oligurie et des œdèmes. En tampons appliqués dans les cas de saignements de nez et en cataplasmes sur la tête dans les cas de migraine. On la donne à la mère juste après l'accouchement comme remède ocytocique (Ait, 2006).
- **Décocté:** en mélange avec d'autre plante comme remède abortif et en friction de tout le corps pour baisser la fièvre (Ait, 2006).
- **Fumigation:** mélangée à des graines de *Peganum harmala L.*, de câriandre et à du goudron de cèdre contre l'épilepsie, dans le traitement des affections du foie (Ait, 2006).
- **Oléate:** traitement de vitiligo. Contre les rhumatismes (Ait, 2006).
- **Macérât:** dans l'huile, des gouttes auriculaires: contre les bourdonnements d'oreille et dans les cas d'otite (Ait, 2006).
- **Poudre:** chez les enfants contre la fièvre (Ait, 2006).
- **Mélangé:** avec le miel pour soigner les gerçures des seins (Ait, 2006).

I.2.4.10. Les Activités des extraits de *Ruta chalepensis L*

Ruta chalepensis L 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 L* 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 L* 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 antispasmodique** : **Moazed 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 L* ont exercé un effet antispasmodique dose-dépendant sur l'iléum des rats, avec une dose efficace de 0,04mg/ml d'extrait.
- **Effet analgésique** : La méthode de l'induction de la douleur par la chaleur a été employée ; et le temps de réaction à la douleur a été enregistré. Les résultats des études de l'activité analgésique des extraits de *Ruta chalepensis L* 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 L* 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 L* 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 L* n'induit aucun changement de ces paramètres de coagulation.

1.2.4.11. Toxicité de *Ruta chalepensis L*

L'effet toxique le plus connue de *Ruta chalepensis L* 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 L* 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: Matériels et méthodes

Objectifs et lieu de stage

Notre expérimentation s'est étalée sur la période allant du mois de Mars au mois de Juin, 2018. Notre travail consiste à l'étude phytochimique et botanique de la partie aérienne d'une plante de la famille des Rutacées (*Ruta chalepensis L*) et l'évaluation de quelques activités biologiques.

Pour réaliser cette étude nous avons fixé les objectifs suivants :

- **Au niveau du laboratoire de recherche en plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie université Blida1 :**
 - L'extraction des huiles essentielle et calcule du rendement
 - L'extraction des polyphénols totaux et leur dosage analytique
 - L'étude botanique et histologique
- **Au niveau du CRD SAIDAL : nous avons réalisé :**
 - Screening phytochimique de la plante en vue de connaître la composition en familles phytochimiques.
 - Etude des activités biologiques : activité antispasmodique, anti-inflammatoire et anti-oxydante.
- **Au niveau du Laboratoire d'hygiène de Blida :**
 - Etude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis L*.
- **laboratoire de pharmacie galénique du département de pharmacie, Université de Blida 1 :** la formulation galénique d'une pommade dermique.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de l'espèce *Ruta chalepensis* L. récolté à partir 100 pots mets dans la serre depuis le stade de feuillissant jusqu'à le stade de fleurissant.



Figure.04 : *Ruta chalepensis* L. (Boumaaza et Grib, 2018)

A-Période de récolte :

Les échantillons de la plante ont été prélevés au stade de feuillaison (pour la préparation de l'extrait aqueux et l'extraction des polyphénols) et au stade de fleuraison (pour l'extraction des huiles essentielles), (février, Mai 2018), la matinée.

B. Lieu de récolte :

Les plantes sont issues de la pépinière de la région de Souama wilaya de Blida puis les pots des plantules ont été placés dans une serre au niveau du Département de Biotechnologie, Faculté SNV de l'université Blida 1 pour poursuivre leur croissance.

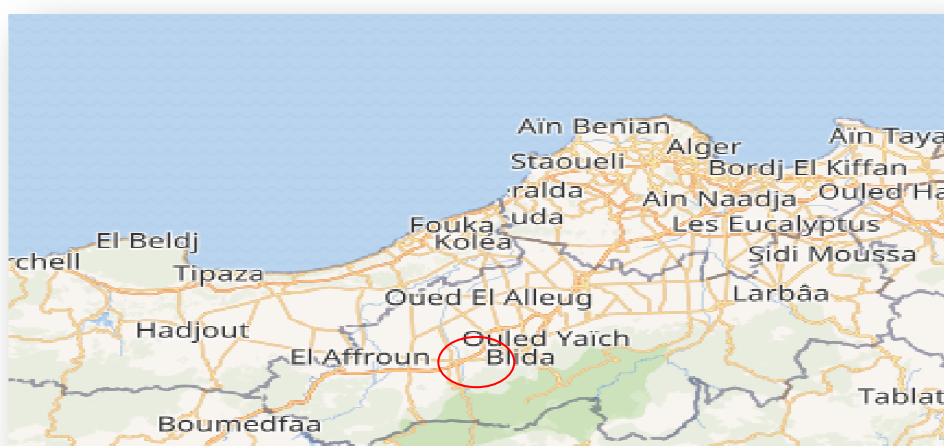


Figure.05 : la localisation de Soumaa dans la wilaya de Blida

Le climat de Blida En été est chaud et tempéré. les pluies sont moins importantes qu'elles ne le sont en hiver. D'après **KOPPEN** et **GEIGER**, La température moyenne annuelle à Blida est de 17.9C°. Les Précipitations sont en Moyenne de 791mm, la Démographie est 37461 hab.(2008) , Densité 1350 hab./km², Superficie : 27,75 km² Altitude 229 m.

Soumaa est une commune de la wilaya de Blida .Lors du découpage administratif de 1984, la commune de Soumaa est constituée à partir des localités suivantes (soumaa, Feroukha, Bahli, Grabah, Hallouya, Saada, Cherifia, Bouchemla). Il est située au centre de wilaya de Blida, a environ 8 km au nord-est de Blida et a environ 44 km au sud-ouest d'Alger et a environ 35 km au nord-est de Médéa.

C. Séchage et stockage :

Après la récolte, les échantillons ont été nettoyés et étalés sur du papier, pour séchage à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Ils sont étendus, sans superposition, et

retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de fermentation à une température ambiante, pendant 20 jours, afin de garder intactes les substances actives des feuilles et éviter la pourriture. Les échantillons ainsi séchés ont été mis dans des sachets en papier jusqu'au Jourde l'extraction.



Figure.06 : Séchage de plantes récoltée (Boumaaza et Grib, 2018).

II.1.1.2.Souches microbiennes utilisées :

Le support Microbien utilisé est composé de six bactéries, deux champignons. Fournis par le Laboratoire d'hygiène de Blida présentées dans le tableau ci-après :

Tableau 04 : Les souches microbiennes utilisées (Laboratoire d'hygiène. Blida 2018)

<i>Bacillus subtilis</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC6633
<i>Escherichia. Coli</i>	Bactérie à Gram négative	ATCC 8739
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC2035
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie à Gram négative	ATCC 4352
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie à Gram négative	ATCC9027
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC6538
<i>Aspergillus niger</i>	Champignon	Prélèvement biologique
<i>Candida albicans</i>	Levure	ATCC 10231

II.1.1.3. Matériel animal : le matériel animal est constitués de souris issus de l Institut pasteur présenté comme suit :

Souris Albinos : pour les activités anti-inflammatoire et antalgique

- Nombre : 24
- Poids : 18g à 24g.
- Sexe : mâle

Condition d'élevage des animaux de laboratoire :

- Température : 25°C
- Humidité : 60%
- Alimentation : Granulé de l'O.N.A.B (Office Nationale de l'Alimentation du Bétail).
- Eau : eau de robinet ad libitum.

II.2. Méthodes

II.2.1. Identification de l'espèce étudiée

L'identification botanique de l'espèce *Ruta chalepensis L.* a été confirmée par la comparaison avec l'herbier du département de botanique à l'INSA.

II.2.2. Étude macroscopique et botanique des différentes parties de la plante

Nous avons observé chaque partie aérienne (tige, feuille , fleur) de l'espèce *Ruta chalepensis L.* par fois a l'œil nu et d'autre sous la loup binoculaire pour connaître les caractéristiques morphologiques de chaque partie de cette espèce.

II.2.3. Etude Anatomique

A-Technique de double coloration :

Coloration des parois : Pour la différenciation des tissus, nous avons utilisé la technique classique de double coloration (**Langeron.1949**), qui comporte les étapes suivantes :

1. Un traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 minutes, afin de vider le contenu cellulaire, à l'exception des parois qui persistent.
2. Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.

3. Un traitement à l'acide acétique à 0.1% pendant 1 min, afin de neutraliser le pH et assurer la fixation des colorants sur les parois.
4. Un traitement au vert de méthyle pendant 10min, pour colorer les parois lignifiées et surédifiées.
5. Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.
6. Un dernier traitement avec le rouge Congo pendant 10 min, pour colorer les parois pécto-cellulosiques.
7. Un dernier rinçage des coupes à l'eau de robinet.



Figure.07 : coupe histologie de la tige de *Ruta chalepensis L*

(Boumaaza et Grib, 2018)



Figure.08 : coupes histologie de la feuille de *Ruta chalepensis L*.

(Boumaaza et Grib, 2018)

B-Observation microscopique

Les coupes sont mises entre lame et lamelle et vue sous le microscope optique.

II.2.4. Étude phytochimique de la plante

II.2.4.1. Détermination de la teneur en eau : le protocole adopté est celui de (Zerrad, 2006). Les parties aériennes de la plante fraîche sont pesées (PF) puis séchées à l'étuve à 75°C. Elles sont ensuite pesées toutes les 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant (PS).

La teneur en eau (T) est calculée comme suit :

$$T = \frac{(PF - PS)}{PF} \times 100$$

T : taux d'humidité en pourcent.

PF : masse de l'échantillon avant séchage.

PS : masse de l'échantillon après séchage dans l'étuve.

II.2.4.2. Screening chimique

Le but de ces tests, est de connaître la composition en métabolites secondaires. Ils sont effectués, soit sur la poudre du broyat, soit sur l'infusé. Le screening phytochimique, consiste soit des réactions de colorations ou de précipitations (**Paris et Moyse, 1976**).

Les réactions du screening phytochimique que nous avons effectué ont été décrites par (**Bouyer, 1996**).

A. Identification des Flavonoïdes :

A 5ml de l'infusé, sont additionnés 5 ml d'HCL, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction des flavanols, flavanones et flavones par le magnésium métallique donne une couleur rouge orangée, ce qui indique la présence des flavonoïdes.

B. Identification des tannins : Tannins catéchiques

A 5 ml de l'infusé, sont ajoutées quelques gouttes de la solution FeCL₃ à 5%. L'apparition d'une couleur bleue noire indique la présence des tannins catéchiques.

- **Tannins galliques :**

A 5 ml de l'infusé, sont ajoutés 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCL₃. L'apparition d'une couleur bleue noire indique la présence des tannins galliques.

C. Identification des Saponosides :

A 2 ml de l'infusé, sont additionnées quelques gouttes d'acétate de plomb. L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

D. Identification des Anthocyanes

Quelques gouttes d'HCL concentré, sont ajoutées à 5 ml de l'infusé. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des anthocyanes.

E. Identification des Leuco-anthocyanes

2 g de poudre végétale, sont additionnés à 20 ml d'un mélange de propanol /acide chlorhydrique (v/v). Après, le mélange est porté à l'ébullition dans un bain-marie pendant quelques minutes. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des leucoanthocyanes.

F. Identification des Alcaloïdes :

5 g de poudre végétale, sont humectés avec 20 ml d'ammoniaque ½, puis laisser macérés pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3v /v). Ensuite, le filtrat est épuisé par HCL à 2N. Après, quelques gouttes du réactif de Drangendroff sont ajoutées à la solution chlorhydrique. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des alcaloïdes.

G. Identification des Glycosides

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique. Une coloration rouge brique apparait. Après agitation, une coloration violette se forme en présence de glucoside.

H. Identification des Coumarines

2 g de poudre végétale, sont mis à l'ébullition dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15min dans un bain-marie puis filtrer. Ensuite, 3 à 5 ml de filtrat, sont ajoutés à 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide avec formation de troubles.

I. Identification des Mucilages :

Dans un tube à essai, 1ml d'infusé est ajouté à 5 ml d'alcool absolu. La formulation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages.

J. Identification des quinones

2 g de poudre végétale humectée par HCL à 1N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis filtrer. Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque 1/2. La formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones libre.

II.2.4.3. l'extraction des polyphénols

L'extraction a été effectuée selon la méthode établie par **Boumaza, (2009)**, dont le volume du solvant et la quantité de la poudre ont été choisis selon nos besoins. Faire macérer pendant 15 jours 20g de poudres végétales dans 200ml de MeOH absolu (96°) avec une agitation de temps en temps. Ces extraits sont filtrée sur mousseline et deux fois sur papier filtre, puis concentré au Rotavapor à 40° C jusqu'à l'obtention d'une poudre colée sur les parois internes du ballon.

Les extraits secs obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement de l'extraction, puis récupéré avec 30 ml d'eau distillé bouillante et conservé par la suite dans des bouteilles stériles à 4°C.

II.2.4.3.1. Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement a été déterminé par la formule décrite par **Mahmoudi et al,(2013)** dans la page suivante :

$$R (\%) = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} \times 100$$

Avec :

R: le rendement en %.

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation en (mg).

M_{éch} : la masse sèche de l'échantillon végétal en (mg).

II.2.4.3.2. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu(**Singleton et al, 1999**).

a. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolibdique (H3PMo12O40), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23), (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

b. Mode opératoire

- Mettre 100 µl de l'extrait de *Ruta chalepensis L.* dans des tubes à essais ;
- ajouter 3.16 ml d'eau distillé et 200 µl de réactif de Folin -Ciocalteu dilué dans l'eau distillée (v/v) dans chaque tube;
- Agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 600 µl de carbonate de Sodium à 20%.
- Incuber pendant 2h à température ambiante et à l'abri de la lumière,
- Lire l'absorbance à 765 nm, par spectrophotomètre UV-visible.

La même opération a été effectuée pour l'acide gallique à différentes concentrations **(50/100/150/200/250)** mg/ml. Cette étape nous permet d'établir la courbe d'étalonnage.

Le blanc est représenté par l'éthanol additionné au Fol in-Ciocalteu, l'eau distillée et le carbonate de sodium.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ g de matière sèche (mg EAG/g MS).

II.2. 4 .4. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation.

A- Principe de la méthode

La plante contenant l'huile essentielle recherchée est immergée dans un volume d'eau. Tout, contenu dans un ballon, est porté à ébullition. En s'évaporant, l'eau entraîne les composés volatils de l'huile essentielle recherchée, les vapeurs se condensent ensuite dans le réfrigérant et s'écoulent à l'état liquide dans un récipient où elles forment le distillat. En général, le distillat fait apparaître deux phases non miscibles : les huiles essentielles et l'eau (**Brunton, 1993**).

B- Mode opératoire de l'hydro distillation

Nous avons pris 50 g de matière végétale sèche de rue d'Alpe, que nous avons ciselée afin de faciliter son introduction dans un ballon de 1000 ml, rempli de 700ml d'eau distillée. Le ballon est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon, pendant 2 heures, ceci engendre la formation de vapeurs. Ces vapeurs s'élèvent et passent dans un réfrigérant qui est constamment refroidi. Au contact des parois refroidies du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent à l'état liquide, goutte à goutte, dans le tube gradué de Clevenger, où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles qui sont séparées l'une de l'autre par le robinet de Clevenger. Le volume du distillat obtenu est placé au réfrigérant.

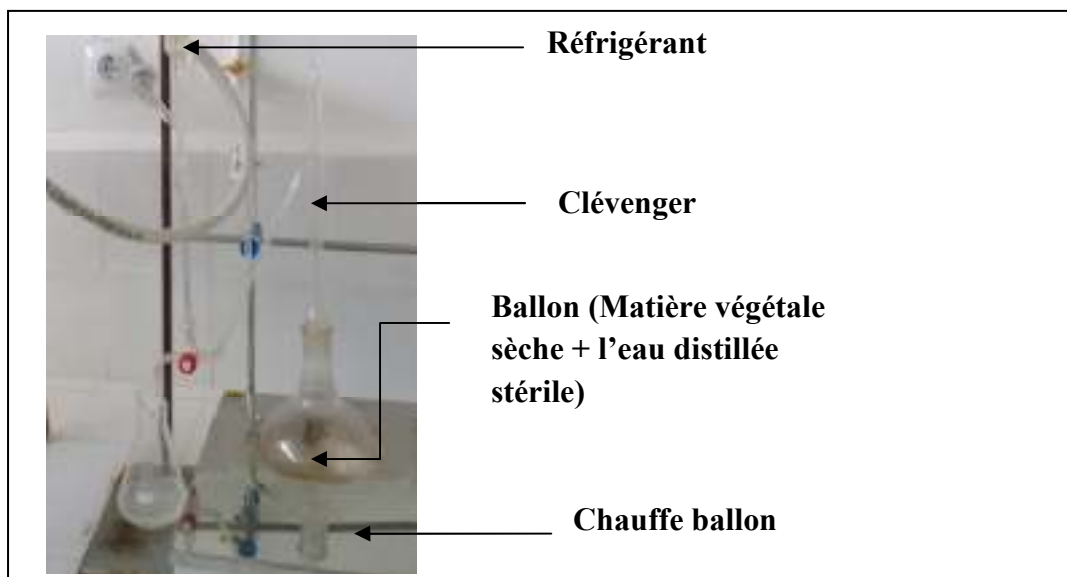


Figure.09 : Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydro distillation (Clevenger)(Boumaaza et Grib, 2018).

C- Calcule du rendement en huile essentielle

En se référant aux normes **AFNOR (2000)**, le rendement en huile essentielle est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle (M_{HE}) et la matière végétale sèche (M_{VS}). Il est exprimé en % et donné par la relation ci-dessous :

$$R_{HE} = M_{HE} / M_{VS} \times 100$$

Avec :

R_{HE} : Rendement des huiles essentielles en %

M_{HE} : Masse de l'huile essentielle en (g).

M_{VS} : Masse de la matière végétale sèche en (g).

II.2.5. Les activités biologiques

II.2.5.1. L'évaluation de l'activité antioxydante par Le test de piégeage du radical DPPH:

Dans ce test, l'extrait de la plante (*Rutachalipensis L.*) a fait l'objet d'une évaluation *in vitro* de leur capacité antioxydant à travers le Test du piégeage du radical libre DPPH.

A. Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule.

La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux2004) (Fig.10).

Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm, et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminé (Molyneux. P. 2004) ;(Popovicieet , . al.2009)

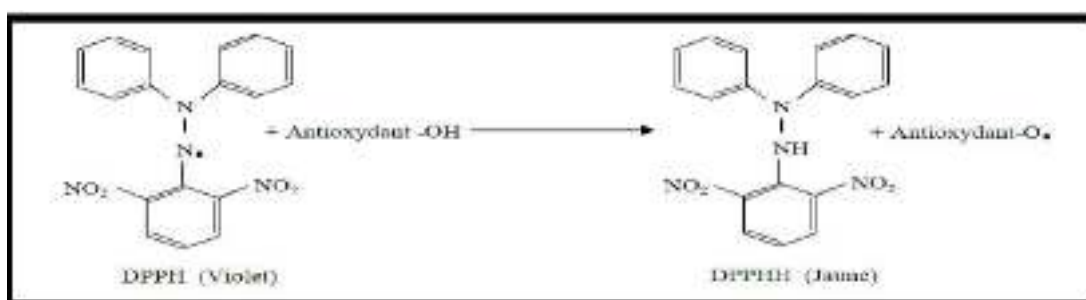


Figure.10: Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Talbiet ., al.2015.).

B. Méthode de dosage :

Dans notre étude, ce test a été évalué par le protocole suivant :

- Préparation d'une solution mère : 5 ml d'extrait + 5ml de méthanol. Nous avons testée comme extraits l'infusé et les polyphénols totaux des deux plantes étudiées.
- Préparation de 5 dilutions à partir de la solution mère à 1/10 (1ml du 1ere solution + 9ml du méthanol 97%) ainsi jusqu' à la cinquième dilution.

Brièvement, 2ml d'une solution méthanolique de DPPH 4% (4mg du DPPH dans 100ml du méthanol) a été mélangé avec 0.5ml des dilutions dans des tubes secs. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 30minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de la solution méthanolique de DPPH.

Les échantillons, le témoin : la solution méthanolique de DPPH ; et le blanc : le méthanol ainsi qu'une solution de 3mg de vit c dans 10 ml de méthanol (qui servira de référence) sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 517nm et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé selon la formule ci-dessous :

D'où :

$$PI = ((DO \text{ du blanc} - DO \text{ de l'échantillon}) / DO \text{ du blanc}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO : La décroissance de l'absorbance

NB : La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (**IC50**); la valeur d'**IC50** la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. Le pourcentage d'inhibition est exprimée.

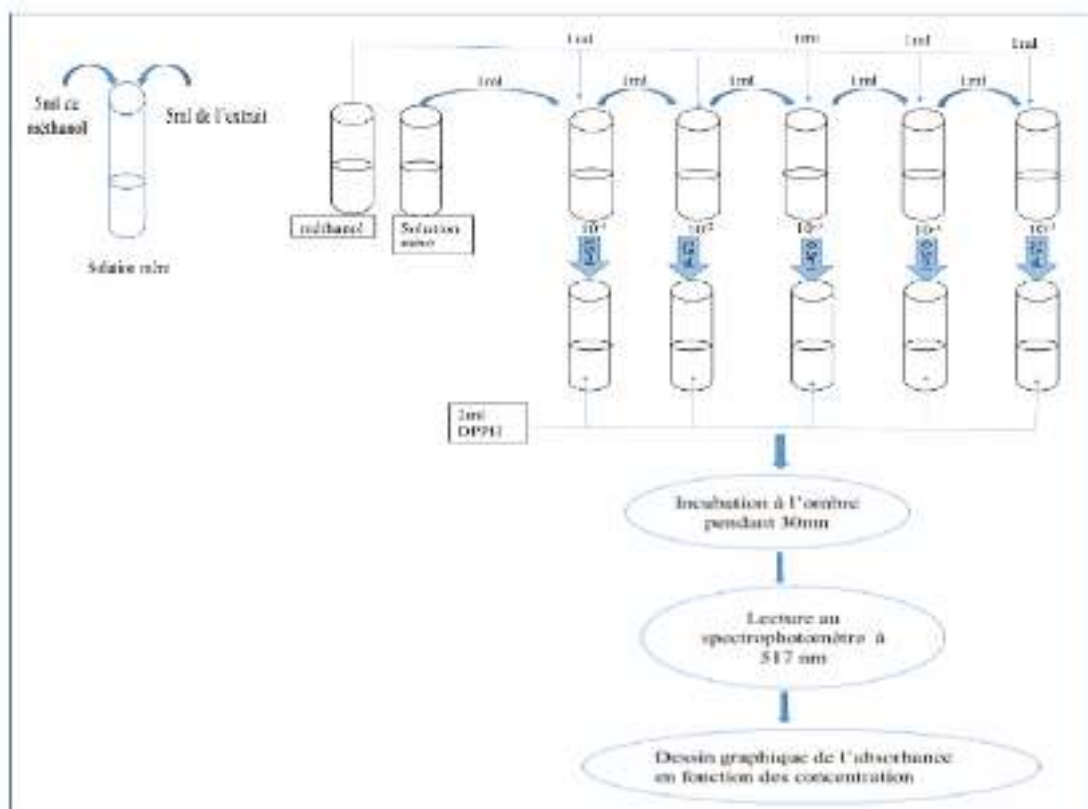


Figure .11: Schéma de protocole expérimental de l'activité antioxydant (**Boumaaza et Grib, 2018**)

II.2.5.2. Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de la plante

L'objet de ce test est de déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante étudiée selon le test de Levy. (Culot, 1972).

A.Principe

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration des doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

B.Protocole expérimentale

1. Préparation de l'infusé :

Ajouter 100 ml d'eau bouillante à 20 g de poudre de la partie aérienne. Laisser infuser pendant 15 minutes et filtrer. (Bardeau, 2009) Le filtrat est ajusté à 100 ml avec d'eau distillée.

2. Préparation de la solution de carragénine :

Pour la préparation : nous mettons 25 ml d'eau distillée dans un petit bécher, nous lui ajoutons progressivement de la carragénine (0.5 g), puis nous ajustons le volume à 50 ml avec de l'eau distillée.

3. Préparation de la solution du produit de référence (Antalfen 200mg) : Pour la préparation de cette solution, on utilise (Ibuprofène) comprimé de 200mg : La dose active est de 1200mg/60kg (Vidal, 2008). Sachant que le poids moyen des souris est de 20g. Ainsi, la dose à administrer à chaque souris serait de 0,4 mg et chaque souris doit recevoir 0,5ml de médicament. Donc on dissout 1cp (200mg) dans 100ml d'eau distillée puis on ajuste le volume à 250ml.

C.Mode opératoire

Constituer lots de 6 souris chacun :

-Un lot témoin,

-Un lot d essai.

Un lot de référence.

✓ **Au temps T0 :**

Administer aux trois lots les suspensions suivantes :

-**Lot témoin** : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillé

-**Lot d essai**: chaque souris reçoit 0,5 ml de l'infusé de *Ruta chalepensis L.*

-**Lot de référence** : chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence Diclofenac 200 mg.

✓ **Au temps T0 + 30 mn :**

Injecter la solution de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche à un volume de 0,025 ml aux souris.

N.B. : La patte arrière droite de chaque souris sert de contrôle.

✓ **Au temps T0 + 4 h :**

-Sacrifier les animaux par rupture de la nuque ;

-Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balanceAnalytique.

D.Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :

Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante : (Culot, 1972).

$$\% \text{ de l'œdème} = ((m_g - m_d) / m_d) \times 100.$$

Avec :

m_g : la moyenne du poids de la patte gauche.

m_d : la moyenne des poids de la patte droite.

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante : (Culot, 1972)

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = ((\% \text{ de l'œdème du Témoin} - \% \text{ de l'œdème de l'essai}) / \% \text{ de l'œdème du témoin}) \times 100.$$

II. 2.5.3. Détermination de l'activité antalgique

L'activité antalgique a été recherchée chez la souris par la méthode de l'acide acétique (Vogel et Vogel, 1997)

A.Principe

L'injection de l'acide acétique par voie intrapéritonéale chez la souris provoque une réaction douloureuse. Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen, avec étirement des pattes postérieures (crampes), qui peuvent être réduite par un produit antalgique. Cette étude permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration du produit antalgique (infuses des plantes étudiées), et du produit pris comme référence.

B.Mode opératoire

Les souris ont été réparties en 3 lots, chaque lot se compose de 6 souris de poids moyen de 20g :

- Lot témoin **T** : qui reçoit l'eau distillée.
- Lot essai 1: qui reçoit l'infusé de la plante *Ruta chalapensis L.*
- Lot référence : qui reçoit le produit de référence.

❖ Au temps T0

On administre aux trois lots les suspensions suivantes :

Lot T: chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.

Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé).

Lot référence : chaque souris reçoit 4mg du produit de référence **Ibuprofène** diluée dans l'eau physiologique à 0,9% à raison de 200mg/kg (0.5ml de solution).

- ❖ **Après 30 mn** : toutes les souris reçoivent 0,2ml de la solution d'acide acétique à 1% par voie intra péritonéale.
- ❖ **Après 5 min** : le comptage du nombre des crampes est observé directement sur les souris Pendant 10min.

C. Expression des résultats

- On Calcule les moyennes arithmétiques des crampes pour chaque lot.
- On Calcule le pourcentage de réduction de crampes (pourcentage de protection) chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de protection} = \frac{\text{moyennes des crampes } Tém \text{ négatif} - \text{moyennes des crampes du lot essai}}{\text{moyenne des crampes du lot témoin négatif}} \times 100$$

II.2.5.4. Etude d'Activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé, appelée « aromatoگرامme ».

1. L'aromatoگرامme

C'est une technique microbiologique qui permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes à différentes huiles essentielles, c'est-à-dire, leur pouvoir antibactérienne antifongique (Salle, 1991).

2. Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Benjeleli et al., 1986).

3. Mode opératoire

1. Repiquage des souches

- En vue d'obtenir des cultures jeunes, les souches conservées ont été repiquées par la méthode des stries dans le gélose nutritive, puis incubées, (24h-37°C /Bactéries,

et 3 à 5 jours-25°C /champignons) afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

2. Coulage des boîtes de pétri

Après la fonte de gélose par autoclave à 120°C pendant 15 à 20 min, nous avons coulé aseptiquement une couche de 04 mm d'épaisseur dans des boîtes de pétri en plastique stérile et rondes, de 90 mm de diamètre, ces dernières doivent être séchées durant 30 minutes à une température ambiante, au laboratoire, avant leur emploi.(Mueller Hinton pour les bactéries ;et le milieu Sabouraud pour les champignons).

3. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile 0.9%,
- Bien homogénéiser la suspension (agitation manuelle)
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

4. L'ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette opération a été

5. Imprégnation des disques

A l'aide d'une pince stérile déposer et presser le disque vierge de 6 mm de diamètre sur la surface gélosée dans la boîte de pétri, une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. Après, ces disques sont imbibés avec 10µl de l'huile essentielle à tester en utilisant une micropipette pour homogénéiser les concentrations des huiles testées dans chaque disque.

- Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche.et chaque répétition se fait dans une boîte de pétri à part.
- Incubation des souches dans l'étuve est à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, à 25°C pendant 4 jours pour les champignons.

6. Lecture des résultats

Les huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne, si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation, dépasse le diamètre du disque absorbant. Les diamètres des zones d'inhibition, sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Ils sont classés en 4 classes (**Tableau V**) (**Moreira et al, 2005**).

A noter que le diamètre du disque (6 mm) a été inclus dans le calcul du Diamètre de la Zone d'Inhibition (DZI, mm).

Tableau 05: Classement des zones d'inhibition

La sensibilité	Diamètre
Souche résistante	D= 6
Souche sensible	7≤D≤11
Très sensible	12≤D≤16
Extrêmement sensible	D>17



Figure. 12 : L'ensemencement des souches microbienne (**Boumaaza et Grib, 2018**).

II.2.6. Formulation galénique

Nous avons préparé une formulation galénique à base des extraits polyphénoliques des plantes, il s'agit d'une pommade.

1. Matériels utilisé

- Balance de précision.
- Mortier
- Microscope optique.
- Spatules.

2. Les excipients

- Vaseline blanche.
- Huile de vaseline.

Poly phénols et l'huile essentielle de la plantes *Ruta chalapensis L.*

3. Mode opératoire : dans un bécher on mélange 0.5g du PPT ; 20g du vaseline blanche dont 5 gramme d'huile de vaseline; après on mélange jusqu'à la dispersion totale et l'homogénéité de la pommade on conditionne dans un flacon étiqueté (Fig.17).



Figure 13: l'obtention d'un mélange homogène (Boumaaza et Grib, 2018).

III. Résultats et discussion :

Dans ce chapitre nous allons exposer les résultats et discussions se rapportant à l'étude botanique et histologique de la plante étudiée *Ruta chalepensis* L ; les rendements des extraits de la plante; l'étude phytochimique ,et aux différentes activités biologiques : activité microbiennes de HE ; activité anti-inflammatoire; activité antalgique et activité antioxydante des extraits de la plante.

III.1.Résultats de l'étude botanique de la plante étudiée

La reconnaissance de la plante a été réalisée par un enseignant botaniste du département de pharmacie de Blida : Mr Mettai.

Cette identification a été confirmée au niveau de l'INSA. La comparaison des caractéristiques morphologiques et macroscopiques de notre plante récoltée avec ceux des plantes répertoriées de l'herbier de l'INSA, nous permis d' identifier l'appartenance botanique de la plante choisie, confirmant ainsi leur genre et leur espèces : *Ruta chalepensis* L.



Figure 14 : Herbier de *Ruta chalepensis* L (Boumaaza et Grib, 2018)

III.2. Etude macroscopique et microscopique de la plante

A. La feuille : Elle est d'une couleur verte, elle est découpée en segments dont les terminaux sont larges de 1.5 à 6mm.

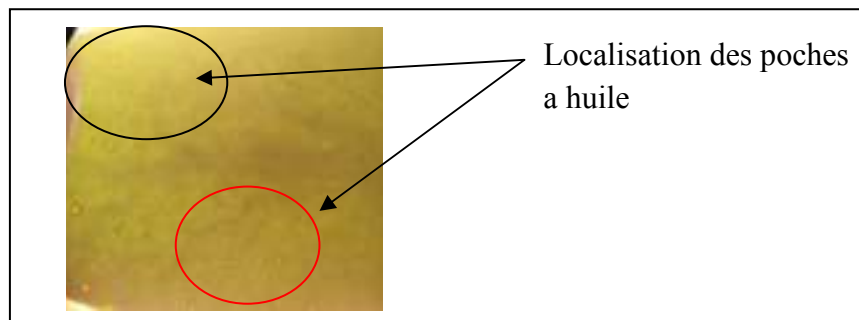


Figure 15 : Vue à la loupe binoculaire de la face supérieure d'une feuille de *Ruta chalepensis* L (Gx 4.5) (Boumaaza et Grib, 2018).

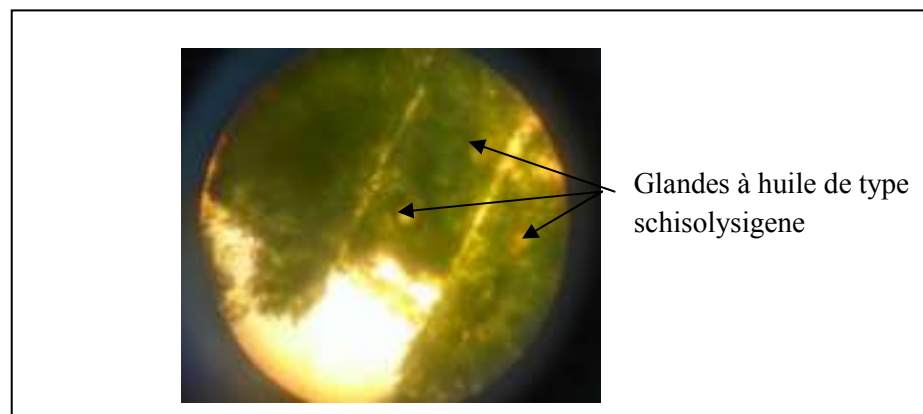


Figure 16 : Vue des glandes a huile de type schisolytiques au niveau de feuille de *Ruta chalepensis* L. au microscope photonique (Gx250) (Boumaaza et Grib, 2018).

B. La fleur : Elle est composée de quatre pétales dialypéales jaune vif avec des franges laminés, quatre sépales dialypéales, huit étamines (quatre soudées aux pétales et quatre soudées à la base de l'ovaire).

B. Etude morphologique de la fleur :

La fleur de l'espèce *Ruta chalipensis L.* fleur a 4 sépale alterné avec 4 pétale cilié, avec 8 étamines, chaque pétale est fixés avec un étamine et les 4 autres sont libres, la fleur centrée par l'ovaire. La structure morphologique est présente dans les figures suivantes :



Figure.17 : Observation de la fleur de l'espèce *Ruta chalipensis L.* sous la loupe binoculaire. (Boumaaza et Grib, 2018).

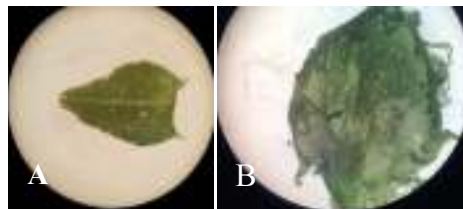


Figure.18: Observation de sépale(A) et de pétale(B) de l'espèce *Ruta chalipensis L.* sous la loupe binoculaire (Boumaaza et Grib, 2018).

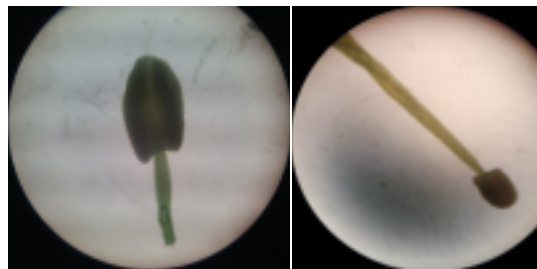


Figure.19 : Observation d'étamine de l'espèce *Ruta chalipensis L.* sous la loupe binoculaire (Boumaaza et Grib, 2018).



Figure.20 : Observation de l'ovaire de l'espèce *Ruta chalipensis L.* sous la loupe (Boumaaza et Grib, 2018).

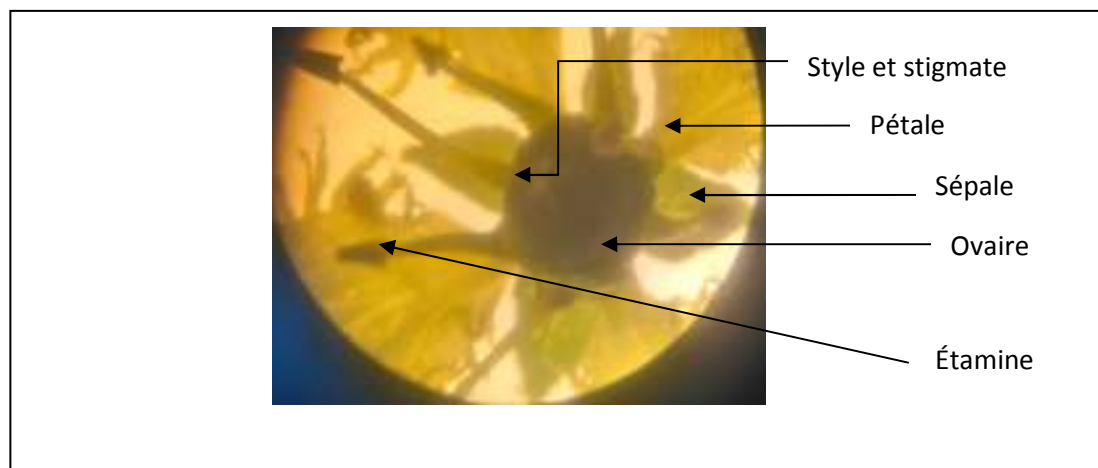


Figure 21 : Fleur de *Ruta chalepensis* L vue à la loupe binoculaire (Gx2,5) (**Boumaaza et Grib,2018**)

C.LaTige

tige feuillue, ligneuse à la base, pouvant atteindre 1 m .



Figure 22 : Tige de *Ruta chalepensis* L. vue a l œil nu.(**Boumaaza et Grib, 2018**)

III.3. Etude Anatomique

Afin de reconnaître les structures histologiques végétales de la plante étudiée et localiser les structures sécrétrices nous avons réalisé des coupes transversales colorées au niveau de la feuille et la tige de la plante *Ruta chalepensis* L.

A. Structure de la feuille

La coupe transversale montre que la feuille se compose des structures suivantes :

- La cuticule qui enveloppe vers l'extérieures les cellules épidermiques.
- L'épiderme qui constitue par des cellules épidermiques.

- Des parenchymes lacuneux.
- Xylème et phloème.
- Riche en cristaux d'oxalate de calcium.
- Riche en glandes à huile essentielle de type schisolysigène.

(Figure 23 ; Figure24)

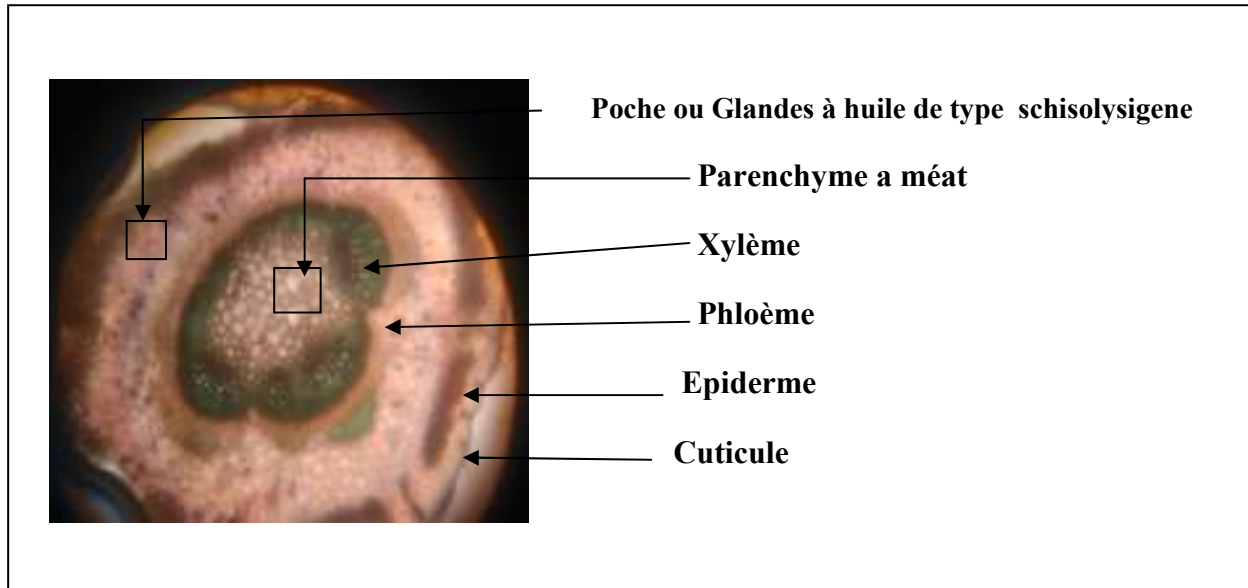


Figure 23 : Coupe transversale de l'axe d'une feuille de *Ruta chalepensis* L. vue au microscope optique après double coloration(Gx100). (Boumaaza et Grib, 2018).

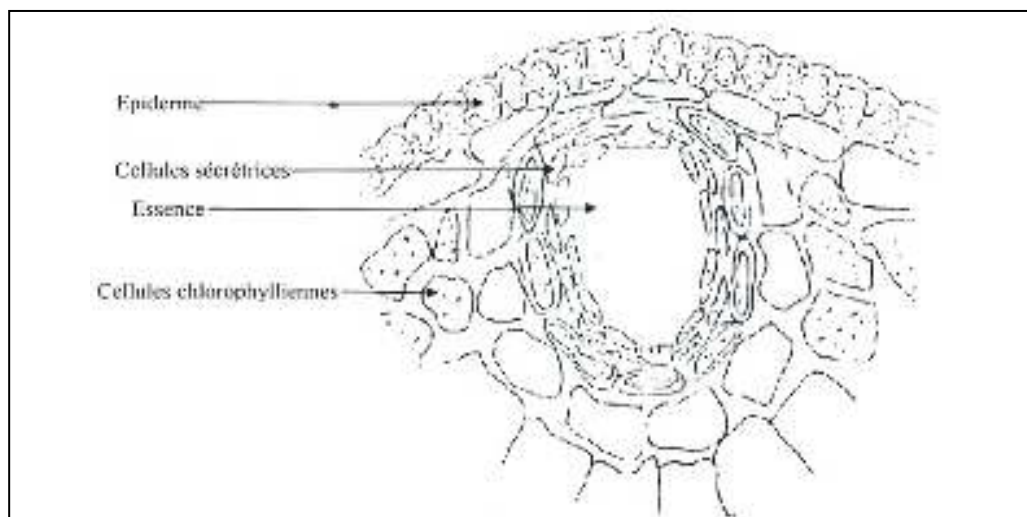


Figure 24 : Schéma de Poche glandulaire endogène vue en coupe d'une feuille de rue fétide (Rutacée) (Bruneton, 1999).

B. Structure de la tige

La coupe transversale montre que la tige se compose des structures suivantes :

- Suber.
- Liber et Bois.
- Des glandes à huile de type schisolysigène.
- Des parenchymes à méat.
- La tige aussi comme la feuille renferme des cristaux d'oxalate de calcium (**Figure 25**).

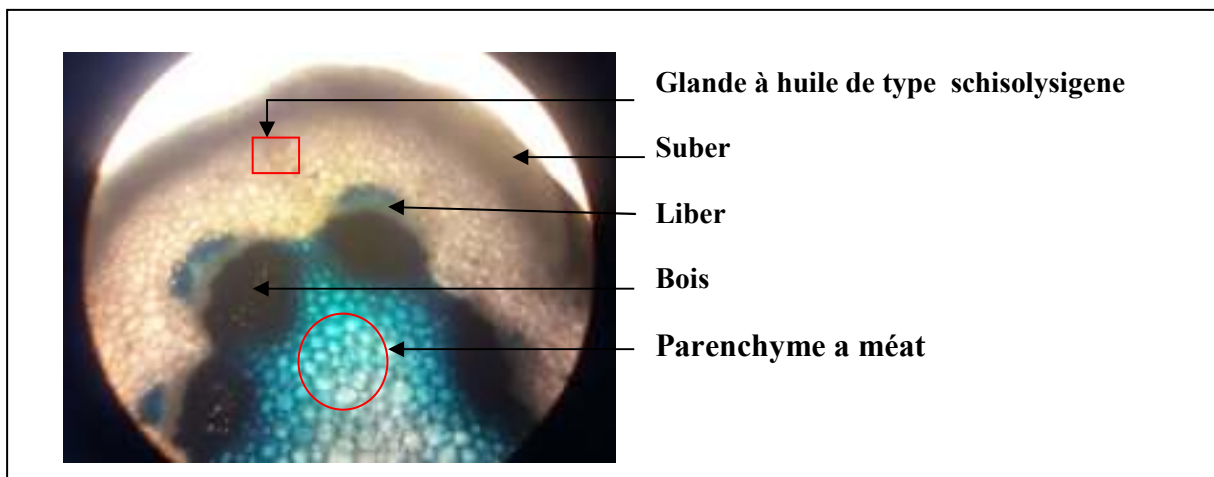


Figure 25: Coupe transversale de la tige de *Ruta chalepensis* L. vue au microscope optique après double coloration(Gx100). (**Boumaaza et Grib, 2018**)

D'après les résultats obtenus nous remarquons que la feuille et la tige de *Ruta chalepensis* riche en cristaux d'oxalate de calcium qui sont considérés comme des molécules médicales. (**Figure 26**)

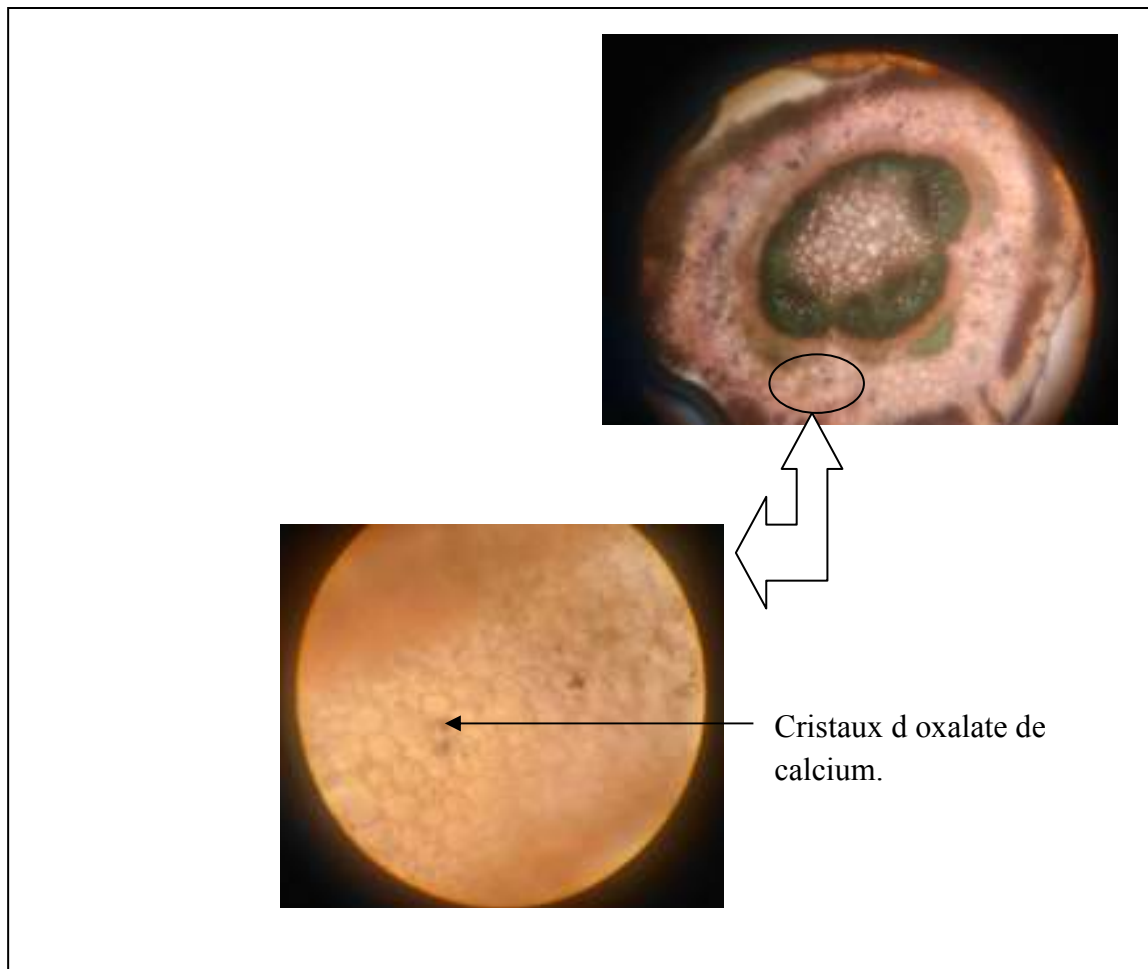


Figure 26 : Coupe transversale au niveaux de la feuille de *Ruta chalepensis L.* vue au microscope optique après double coloration (GX250). (Boumaaza et Grib, 2018)

C. Structure de la fleur

Les pétales de la fleur de *Ruta chalepensis L.* traite par la méthode de double coloration montre que cette partie de la fleur contient des poches ou glandes à huile de type schisolysigene. (Figure 27)

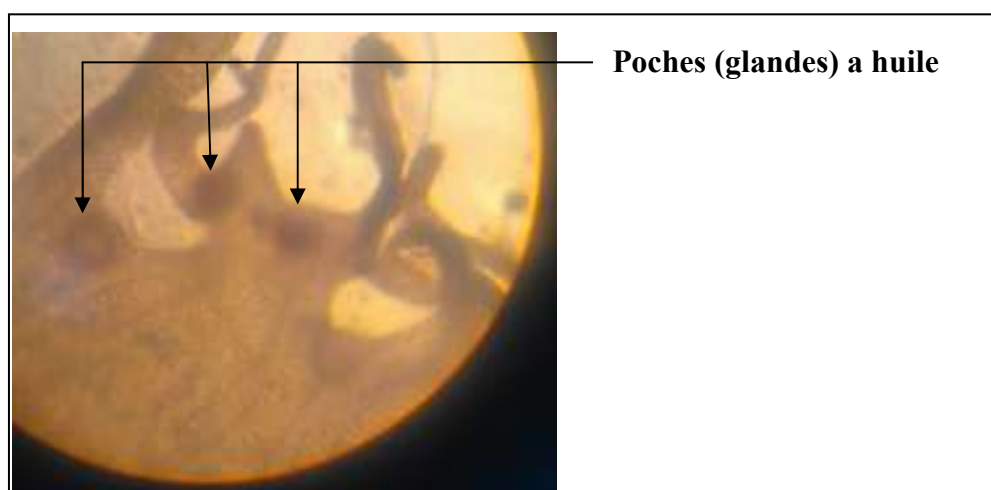


Figure 27: Observation des poches a huile au niveaux des pétales de la fleur de *Ruta chalepensis* vue au microscope optique après double coloration (G×100). (Boumaaza et Grib,2018)

III.4. Résultats de l'étude phytochimique

III.4.1. Détermination de la teneur en eau

La plante est essentiellement constituée d'eau, sa teneur en cet élément varie de 75% à 95% de leur poids total. 80% de cette eau est libre (chimiquement non liée), 18% à 19% constituent l'eau liée et 1% à 2% est une eau de constitution (molécules hydratées) (Camefort, 1972).

Les valeurs obtenues de la teneur en eau de *Ruta chalepensis* L. représentées sur le

Tableau 3 montre une contenance en cet élément de l'ordre de 56.10%.

Tableau 06: Teneur en eau contenue dans l'espèce

Espèce	PF (g)	PS(g)	TE(g)	TE(%)
<i>Ruta chalepensis</i> L.	577,25	253.36	323.89	56.10

PF: Poids frais, PS : Poids sec, TE : teneur en eau

Nous constatons que Comme la plupart des végétaux, notre plante est riche en eau.

III.4.2. Résultats des tests phytochimiques (screening)

Le screening phytochimique, effectué soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 10% de la partie aérienne de *Ruta chalepensis L.*, nous a permis d'obtenir les résultats dans le tableau

Suivante :

Tableau 07: Résultats d'identification de métabolites secondaires de plante étudiée : *Ruta chalepensis L.*

Métabolite	Résultat obtenu
Flavonoïdes	++
Tannins catéchiques	+
Tannins galliques	+
Saponosides	-
Anthocyanes	+
Leuco-anthocyanes	-
Alcaloïdes	++
Glycosides	+
Coumarines	+
Mucilages	+
Quinones	+

Le screening chimique de la partie aérienne de *Ruta chalepensis L.* a révélé la présence des composés chimiques tels que les Flavonoïdes, Tanins (cathéchiques et galliques), Anthocyanes, Alcaloïdes, Glycosides, Coumarines, Mucilages et les quinones. D'autre part l'absence totale de deux composés : Saponosides et Leuco-anthocyanes. - De façon général, la résultat obtenue dans notre étude est presque le même avec travaux de **HNATYSZYN et al en 1974 ; MOHR et al en 1982 ; ULUBELEN et TEREM en 1988** et aussi **MANSOUR EL-SAID et al en 1990** sur la même espèce (*Ruta chalepensis L.*) de provenance d'Espagne, Égypte, Turquie et d'Arabie saoudite respectivement.

III.4.3. Résultats de l'extraction de polyphénols

A. Caractérisation des polyphénols totaux

✓ Caractérisation organoleptique des PPT

Les PPT de la plante *Ruta chalepensis L* présente un aspect visqueux, de couleur verte très foncée et d'une odeur caractéristique de la rue.

✓ Résultats du rendement en PPT de *Ruta chalepensis L*

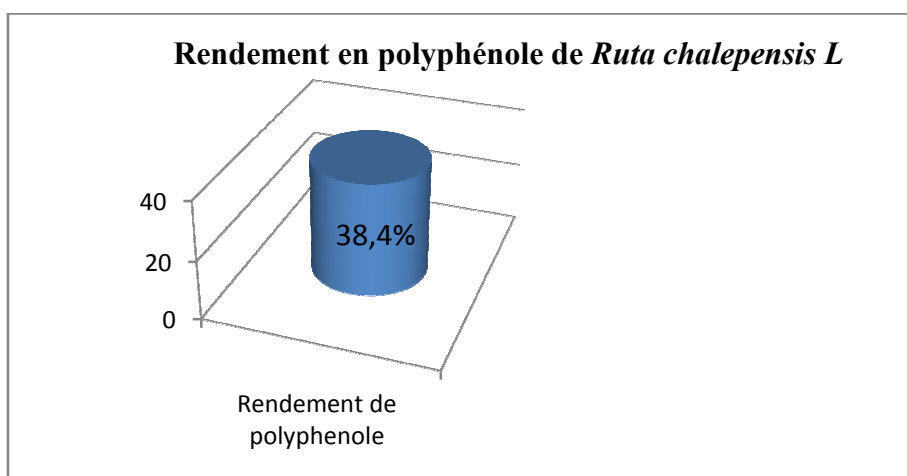


Figure 28 : Rendement en polyphénols de *Ruta chalepensis L*.

Nous constatons que le rendement en polyphénols totaux de l'extrait de la partie aérienne de *Ruta chalepensis L* est de l'ordre de **38,4%**. ce rendement dépend de la période de récolte et des conditions climatiques de région.

B. 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**).

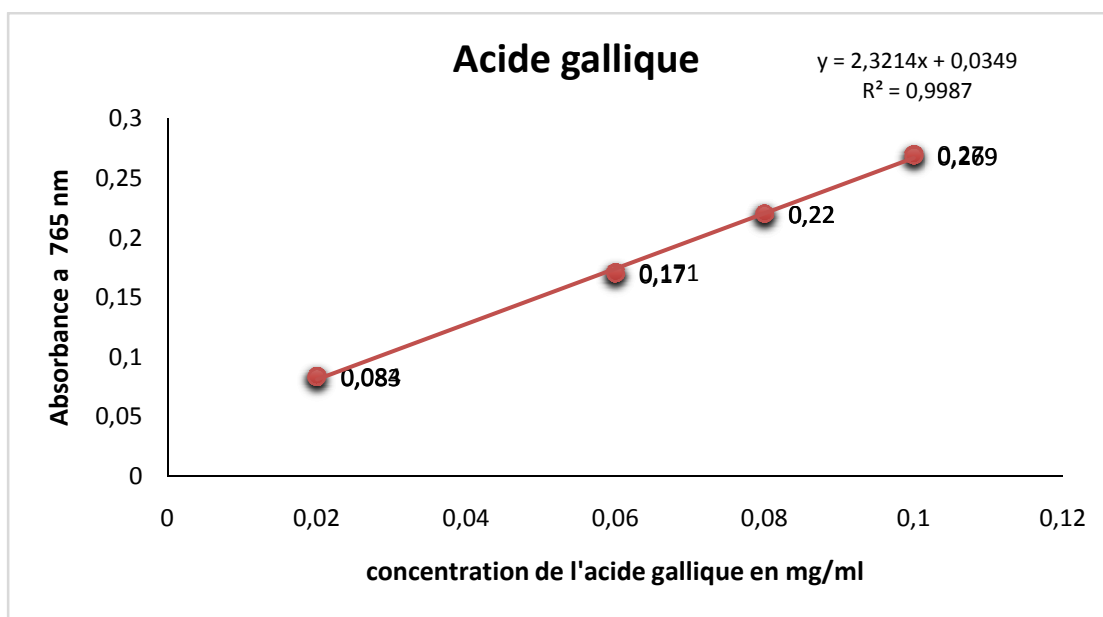


Figure. 29 : la courbe de l'acide galique (Boumaaza et Grib, 2018).

La figure.00, représente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, dans une gamme de concentrations allant de 0,08 à 0,259mg/ml. Et d'après ce dernier en calcule la teneur des poly phénole de notre plante étudié *Ruta chalapensis L.* qui est de valeur de : 0.871 mg/ml Equivalent de l'acide galique. en remarque que notre plante *Ruta chalapensis L.* est riche en polyphénoles.

Selon Fakhfakh *et al.*, (2012), 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, représente **124.87±0,007 mg EAG /100 g MS**

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*,

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.

III.4.4. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle

✓ Caractère organoleptiques de l'huile essentielle

Les huiles extraites apparaissent sous forme liquide, d'un aspect huileux, visqueux, transparent, d'une couleur jaune, caractérisées par une forte odeur de la plante.



Figure 30: huile essentielle de *Ruta chalepensis* (Boumaaza et Grib, 2018).

✓ Détermination du rendement de l'huile essentielle

Le rendement d'huile essentielle extraite de la plante étudiée (*Ruta chalepensis* L.) par la méthode de l'hydro distillation est présenté dans la **figure 31**.

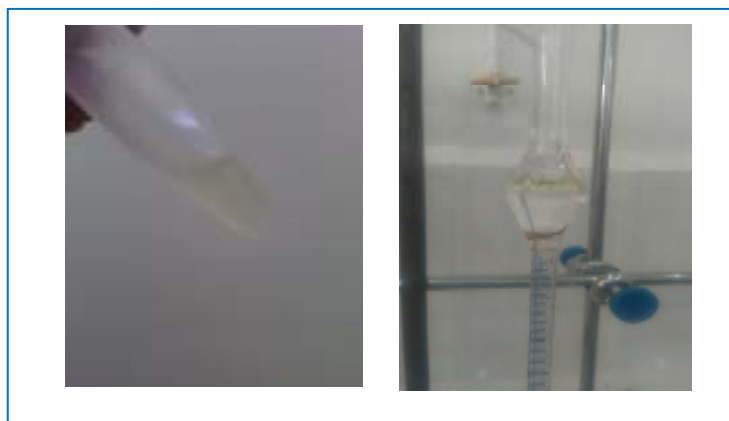


Figure 31 : Huile essentielle de *Ruta Chalepensis L.* (Boumaaza et Grib, 2018).

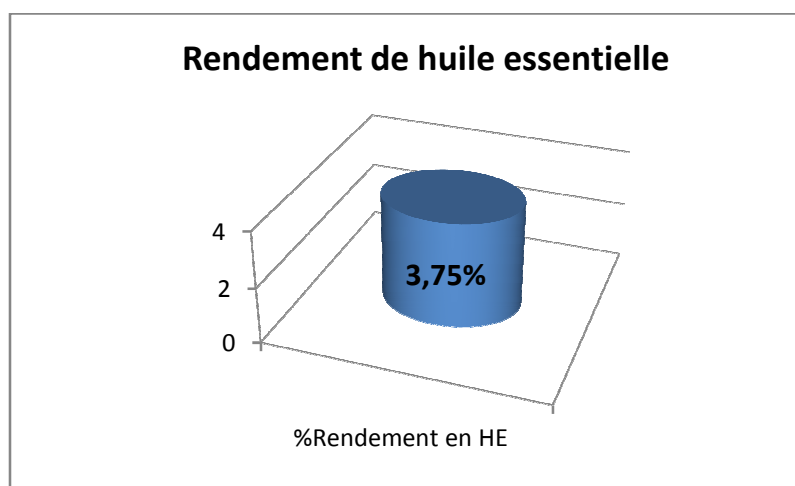


Figure 32 : Rendement en huile essentielle de *Ruta chalepensis L*

Dans notre expérimentation, Le rendement en huile essentielle extraite de la partie aérienne de *Ruta chalepensis L.* est de **3.75%** ce qui est assez faible. Les travaux réalisés par **Mejri et al., (2010)**, sur la partie aérienne de *Ruta chalepensis L* récoltée en Tunisie durant le mois de mai, ont révélé **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 soumaa ;wilaya de Blida(Algérie) est nettement différent que celui obtenu par d autre auteurs a partir de la même espèce provenant d un autre payé (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 moins 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.5. Activités biologiques

III.5.1. Activité anti-inflammatoire

D'un produit irritant à base de carragénine. Les résultats obtenus pour cette activité sont représentés dans la figure suivante : Le but de ce test est la mesure de l'activité anti-inflammatoire des infusés de *Ruta chalepensis L.* Pour cela nous avons déterminé le pourcentage de réduction d'œdème provoqué par une inflammation des pattes de souris suite à l'application

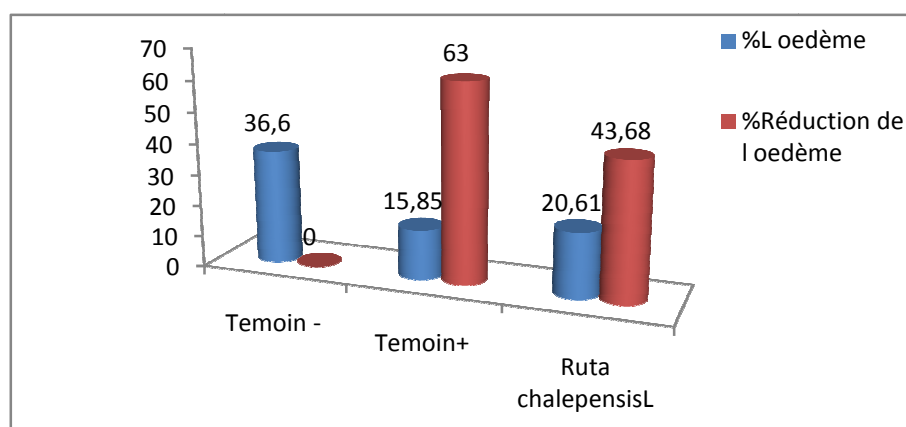


Figure 33 : Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les 3 lots testés.

Au vue des résultats expérimentaux de l'activité anti-inflammatoire nous avons remarque un taux d'œdème faible pour le lot de référence **15.85%** et pour le lot de souris ayant reçu l'infusé de *Ruta chalepensis L* . un pourcentage de **20.61%** d'autre part le pourcentage de réduction d'œdème pour le lot essai **43.68%** est comparable par rapport au lot traité par Diclofénac® **63 %** (anti-inflammatoire de référence).

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes de HE des Rutacées possèdent des propriétés anti-inflammatoire et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations (**Harbone,1977**), ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoire d'autres sont capables d'inhiber l'histamine(**Bruneton,1993**).

III.5.2.Activité antispasmodique

Les résultats de l'activité antalgique de l'extrait aqueux de *Ruta chalepensis L* par le test de LEVY basé sur la douleur provoquée par l'acide acétique (Test de crampes), sont présentés dans le Tableau 09 :

Tableau 08 : Les résultats de l'activité antalgique de l'extrait aqueux de *Ruta chalepensis L*

	L'extrait de <i>Ruta chalepensis L</i>	Témoin positif	Témoin négatif
Moyenne des Crampes	12.66	5.83	27
% de réduction	53.11%	78.4%	0%

A partir du tableau, nous constatons que l'infusé du *Ruta chalepensis L* est efficace avec un pourcentage de protection de crampe de **53.11%**. Ce résultat est proche de celui obtenu par le produit Ibuprofène® qui a enregistré un pourcentage de protection des crampes de **78.4%**.

Selon un travail qui expose un cas d'intoxications aiguës par *Ruta montana* en Tunisie. Il s'agit d'une femme de 74 ans qui a développé une défaillance respiratoire, rénale et neurologique avec hyperkaliémie suite à la consommation inhabituelle et excessive d'infusion à base de *Ruta montana* pour traitement de crampes abdominales

d'insomnie. L'évolution a été favorable après traitement de trois semaines en réanimation (Hammich et al 2013).

III.5.3. Activité anti-oxydante

Les résultats du pouvoir antioxydant des polyphénols de la plante étudiée (*Ruta chalapensis* L.) par la méthode de piégeage du radical libre DPPH sont illustrés dans les figures suivantes :

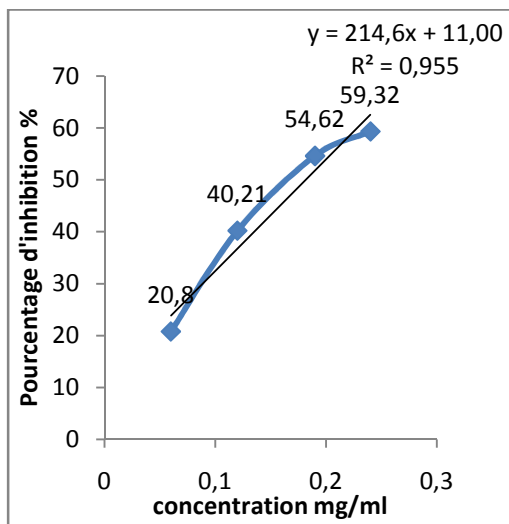


Figure 34: l'activité anti oxydante de poly phénole de *Ruta chalapensis* L. (Boumaaza et Grib, 2018).

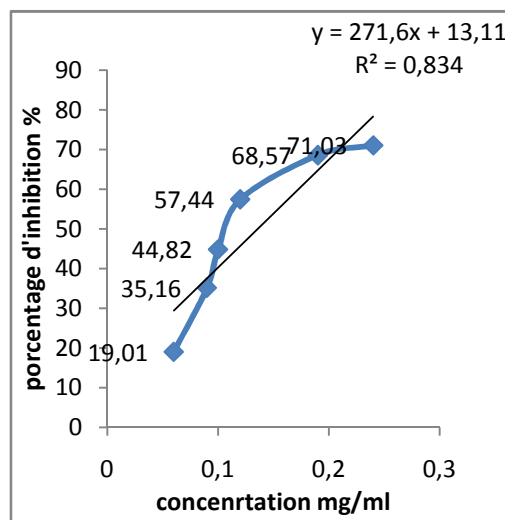


Figure 35: l'activité anti oxydante de L'extrait de *Ruta chalapensis* L. (Boumaaza et Grib, 2018).

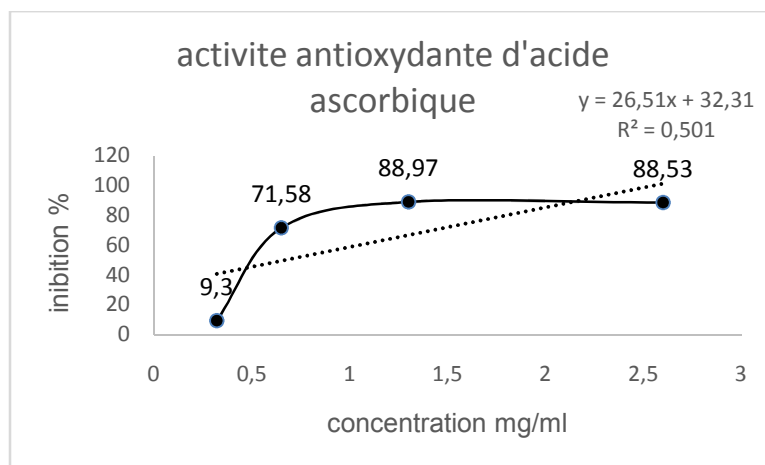


Figure 36: Pourcentage de réduction du radical libre de DPPH

D'après les figures (43,44,45) nous constatons que les extraits aqueux et les polyphénols de *Ruta chalapensis* L. possèdent un pouvoir antioxydant important de l'ordre de

59,32% et 71,03%, respectivement, pour la solution la plus concentré (Dilution 1/10 ème). Ces valeurs sont proches au celles du produit de référence (l'acide ascorbique) qui donne un pourcentage de réduction de **88,53%**.

De Même, les extraits aqueux de notre plante étudiée ont montré une activité anti radicaire remarquable comparée à la solution de référence (**vit C**) qui est de **88.9%** pour *Ruta chalipensis L.* (**Fakhfakh et al., (2012)**).

Détermination d'IC 50 :

Le calcule des concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) est déterminé graphiquement, les résultats sont renseigné dans le tableau suivant :

Tableau 09: Concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) des extraits testés.

L'espèce	infusé	Extrait des polyphenols
<i>Ruta chalipensis L</i>	0,135	0,181
IC 50 de la Vit c : 0,667		

La capacité antioxydante des deux extraits (polyphenols et extrait aqueux) de la plante (*Ruta chalipensis L.* a été déterminée à partir de l'**IC50**, c'est la concentration nécessaire pour réduire **50 %** du radicale DPPH. Plus la valeur d'**IC50** est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande (**Hobi & Eddouks, 2016**).

Nous avons déterminé graphiquement l'**IC50** pour chaque extrait, pour l'extrait polyphénolique du *Ruta chalipensis L.* a présenté une IC50 de l'ordre de **0,181mg/ml** inférieur à celui de l'infusé aqueux qui est d'ordre de **0,135 mg/ml** .

Egalement, l'**IC50** de l'extrait des polyphénols de *Ruta chalipensis L* (**0.135mg/ml**) a été meilleur que celui obtenu pour le produit de référence **Vit C (0.667mg/ml)**.

En Ce qui concerne l'espèce de *Ruta chalipensis L.* Les travaux de **Bettayeb rebey et al.; (2017)** ont démontré un effet anti -radicalaire de cette espèce avec des variations statistiquement significatives en fonction de l'organe étudié. En effet, les extraits des racines sont par excellence les plus intéressants avec des IC50 ne dépassant pas **50.36 µg/ml** puis en deuxième position les extraits de tiges (**IC 50 : 178.7 ug/ml**) et enfin les extraits des feuilles en dernier (**IC50 :200.8ug/l**). Egalement, notre résultat été plus

importante que celui obtenu par **Bettayeb rebey et al. (2017)**, car les polyphénol de *Ruta chalepensis L.* ont donné un résultat de IC₅₀ de l'ordre (**0,135mg/ml=11.5 µg/ml**) ce dernier est plus réduit de celui de **Bettayeb rebey et al. (2016)** qui est de l'ordre de **50.36 µg/ml**.

Tableau 10: Valeurs des IC₅₀ des antioxydants standards et des polyphénols de *Ruta chalepensis L.* **Substance IC₅₀ (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*.

III.5. 4. L'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme), nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien d'huiles essentielles des parties aériennes de *Ruta chalapensis L.* vis-à-vis des huit souches pathogènes testées. Les résultats sont présentés comme ceci :

➤ Activité antibactérienne de *Ruta chalapensis L.*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Ruta chalapensis L.* sont présentés dans la **figure 35**

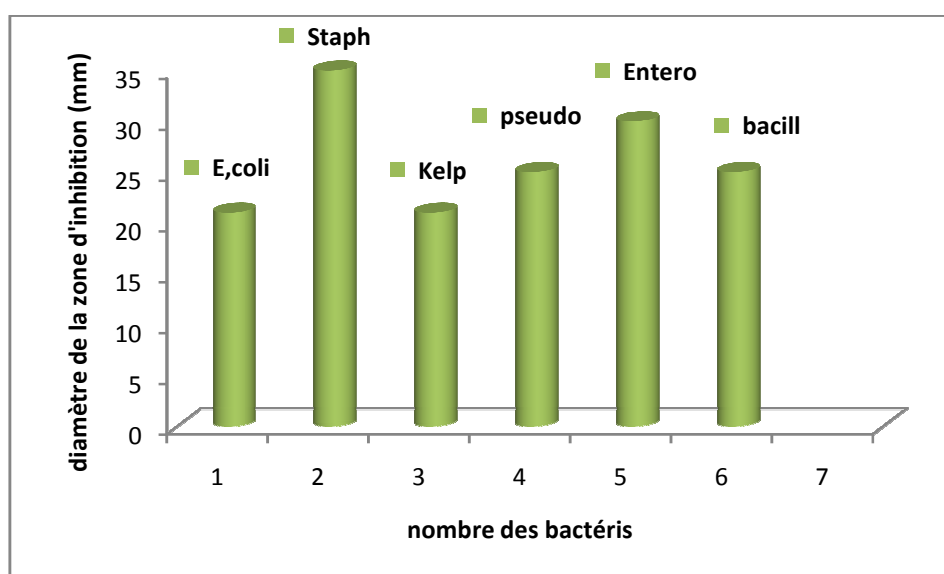


Figure37 : Sensibilité observées chez les souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de *Ruta chalapensis L.* (*Boumaaza et Grib, 2018*)

D'après les résultats mentionnés dans la **figure00**, nous remarquons que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles au contact des huiles essentielles et les diamètres d'inhibition varient d'une souche à une autre. On constate que la sensibilité de l'E.H. de *Ruta chalapensis L.* est plus remarquable chez *Staphylococcus aureus* (**35mm**) et *Entérobactère* (**30mm**), *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* de (**25 mm**), et un effet moindre inhibiteur contre *E. Coli* (**20mm**).

A partir de ces résultats on constate que les bactéries gram+ (*Staphelococcus a.* et *Bacillus subtilus*) sont plus sensible vis-à-vis l'huile essentielle de *Ruta chalapensis L.* par rapport

au bactéries gram- . ce qui est confirmé par les travaux de (Marino *et al.*, 1999), (Inouye *et al.*, 2002) et (Billerebeck *et al.*, 2002) qui ont montré que les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensible aux huile essentielles que les bactéries à Gram négatif.

Selon les travaux d'Imelouane *et al.* (2009) et N'Dédianhoua K. *et al.* (2014) qui ont trouvé une résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à huile essentielle de *Ruta chalapensis* l.marocaine , ces résultats se rapprochent des notre résultat où on a enregistré une activité antimicrobienne de moindre importance de l'ordre de 20mm .

➤ **activité anti fongique de *Ruta chalapensis* L.:**

L'activité antifongique de l'essence aromatique du *L.* effectuée par la méthode d'aromatogramme, testée sur des souches levuriformes et mycéliennes les résultats de ce test sont consignés dans la figure suivante.

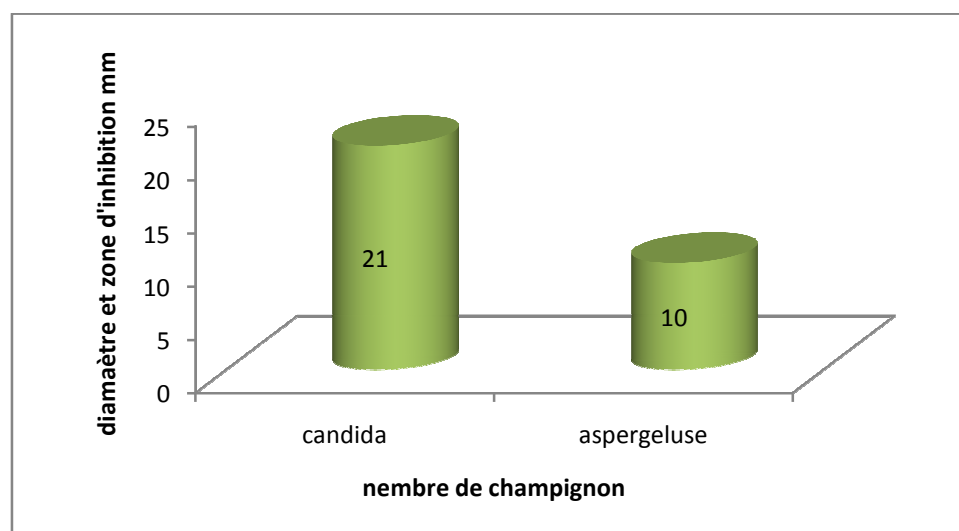


Figure38 : Sensibilité observées chez les souches fongiques vis-à-vis de l'huile essentielle de *Ruta chalapensis* L. (Boumaaza *et Grib*, 2018)

En Observant les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Ruta chalapensis* L. On constate que cette dernière a une forte action inhibitrice contre les souches fongiques suivante : *Candida albicans*, *Aspergillus niger* avec un diamètre de zone d'inhibition présentée respectivement comme suit : **21 mm (Extrêmement sensible)** et **10mm (souche sensible)**.

Les résultats des études de Mohhamedi *et al.* (2011) sur la *Ruta chalapensis* L. ont révélé une activité comparable sur les souches *fusarium* sp.

III.6. La formulation galénique

Les crèmes formulées ont été vues au microscope optique grossissement X 100

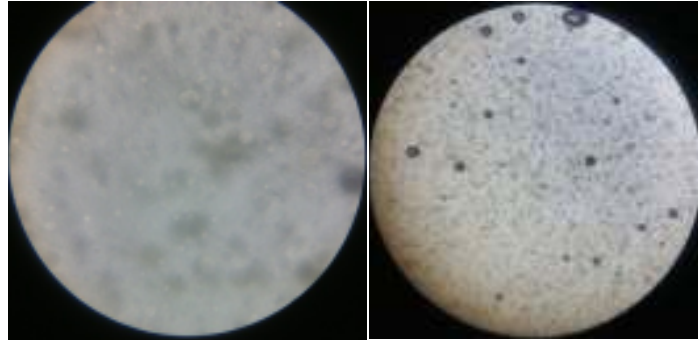


Figure 39: Vue de la pommade de *Ruta chalapensis L.* sous le microscope optique GX100
(Boumaaza et Grib, 2018)

La photo microscopique montre une dispersion homogène de la pommade dispersée par de petits globules homogènes et monodispersés, ce qui témoigne de la stabilité de la pommade dans le temps.



Figure 40: formulation de pommade à base de l'extrait éthanolique de *Ruta chalapensis L.*
(Boumaaza et Grib, 2018).

Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Cette étude a eu pour but de contribuer à la connaissance de *Ruta chalepensis L.*, espèce cultivée, 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 L.* fournit de bons rendements en substances bioactives, avec un rendement en **PPT** de **0.871** et en **HE** de **3.75%**, elle en est donc riche.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, à partir de l'extrait obtenu qui est de l'ordre de **0.871mg/ml** a clairement montré que l'extrait éthanolique de *Ruta*, possède une teneur moyenne en ces composés.

L'évaluation de l'activité antioxydant *in-vitro*, a révélé que L'extrait éthanolique de *Ruta chalepensis L.* présente une **IC50** de **0,181 µg/ml** de polyphénole et **0,135µg/ml** vis-à-vis du radical libre **DPPH**.

Les résultats des activités antimicrobiennes ont démontré une forte inhibition de croissance des souches bactériennes comme : *Staphylococcus aureus* **35mm**, *Escherichia. Coli* **20 mm**, *Klebsiella pneumoniae* **20mm**, *Pseudomonas aeruginosa* **25mm**, *Enterococcus faecalis* **30mm**, *Bacillus subtilis* **25mm**, et fongique ; *Candida albicans* **21mm**, et *Aspergillus niger* **10mm**.

L'étude des activités biologique *in vivo*, sur des animaux de laboratoire a mis en évidence un effet anti inflammatoire (anti œdème) intéressant **43,68 %** comparable au produit de référence diclofenac **63 %**.

D'autre part un effet antispasmodique a été étudié et a révélé une activité antispasmodique de l'extrait des **PPT** de **53,11 %** proche de celui de la référence Ibuprofène **78,4%**.

Ces études préliminaires donnent un aperçu intéressant sur les capacités de l'extrait de *Ruta chalepensis L.* à exercer un effet antioxydant, antiinflammatoire, antibactérien et antispasmodique. A présent, il serait donc plus intéressant de procéder à la séparation des différentes substances présentes dans cet extrait pour approfondir la caractérisation des familles phytochimiques et d'en extraire les principes actifs responsable des effets biologiques et pourquoi pas l'utiliser pour des fins thérapeutiques dans le domaine pharmaceutique.

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 étudiée.

Reference bibliographiques

1. - **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.
2. **(Benjeleli et al., 1986). Bardeau F, 2009** : La pharmacie du BON DIEU. Edition Fernand Lanore.333p.
3. **(Bock, 2011) : Bock, B. (2011).** *Ruta chalepensis* L. BDNFF, *Tela Botanica*, 4(2).
4. **(Brunton, 1993). Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. *tec & toc, Paris, 1120 p.*
5. **(Harbone ,1977), □ Harborne J.B., (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall Ltd., London. pp. 49-188.**
6. **(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.
7. **(Moreira et al., 2005). 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.
8. **(Navnath et al., Les figures n° 25 et n° 26Navnath, 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.*
9. **(Popovici et al., 2009). 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.*
10. . **Baba Aissa F. (1999).** Les plantes médicinales en Algérie, Ed. Addiwane, Alger, 184p.
1985 Brener, S. & Friedman, J. (1985). Phytophotodermatitis induced by *Ruta chalepensis* L. *Contact-dermatitis*, 12 : 2 - 230.
11. **Ait fella R., 2010,** Les activités biologiques du genre *Lavandula* (La lavande). Univ. Ferhat Abbas Sétif. 35p.

Références bibliographiques

12. **AIT MY (2006)**. Plantes médicinales de Kabylie. Ed. Ibispress. Paris. 293pp.
13. **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.
14. **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.
15. **Baba Aissa F, 2011** : Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. Edition El-Maarifa, p204-205.
16. **Bardeau F., 2009** : Les huiles essentielles : Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Ed. Fernand Lanore, France. 315p.
17. **Beniston W. S. (1984)**. Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise nationale des livres, Alger, 120p.web master 3
18. **Benjilali B., Tantaoui-elaraki A., ismail-alaoui M. et Ayadi A., 1986** : Méthode d'étude des propriétés antiseptique des huiles essentielles parcontact direct en milieux gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie. pp20, 155-167.Thèse de Magister en pharmacie. Université de Constantine.
19. **Bock B. (2009)**. Base des données Nomenclature de la flore de France *Ruta chalepensis* L. *Tela Botanica BDNFF Vol 4(02) :1/2*.
20. **Boumaza A., 2009** : Effet de l'extrait méthanolique de *zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse magister en biologie cellulaire et moléculaire. Université de Constantine.125 P.
21. **Bouyer J., 1996** : « Méthodes statistiques, médecine biologie », pp : 139.
22. **Bouzig, 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.
23. **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.
24. **Brener, S. & Friedman, J. (1985)**. Phytophotodermatitis induced by *Ruta Chalepensis* L. *Contact-dermatitis*, 12 : 2 - 230.

25. **Bruneton J. 2009** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition. Ed. Lavoisier Tec S Doc., Paris, 1.270pp.
26. **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3^{ème} Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
27. **Bruneton., 1994**. Les plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'Homme et les Animaux , Edite Lavoisier Paris.
28. **Brunton, J. 1993** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (2. édition, Éd.) Paris: Lavoisier, Tec & Doc. Burt, S.; 2004 : Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
29. **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.
30. **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.
31. **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.
32. **Crété P. (1965)**. Précis de botanique. Tome II: Systématique des Angiospermes. Bd. Masson, Paris, 550p.
33. **Culot M, 1972** : Notions techniques de pharmacologie générale. Edition Masson et Centre de recherche. 132p.
34. **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006)**. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chemistry*, 97: 654 - 660.
35. **Duval, 1992 Duval J. (1992)**. La culture de la rue. *AGRO-BIO*. 3: 6-45.
36. **Eberhard T. Robert A. et Annelise L. (2005)**. Plantes aromatiques: épices, aromates, condiment et leurs huiles essentielles. Ed. Tee Doc, Paris, 521p.
37. **El Sayed, K., Al-Said, M.S., El-Ferally, F.S. & Ross, S.A. (2000)**. New Quinoline Alkaloids from *Ruta chalepensis*. *J. Nat. Prod.*, 63: 995 - 997.
38. **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.

39. **Fakhfakh, N., Zouari, M.S., Loussayef, C. & Zouari, N. (2012).** Chemical composition of volatile compound 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.
40. **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Anales pharmaceutiques Françaises*, 64(6): 390 - 396.
41. **Ghasemi, K., Ghasemi, Y. & Ebrahimzadeh, M.A. (2009).** Antioxidant activity,
42. **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.
43. **Gurif, F. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspectsof Medicine*, 27: 1 - 93.
44. **Gönaydin, K. & Savcib, S. (2005).** Phytochemical studies on *Ruta chalepensis*(lam.) lamarck. *Natural Product Research*, 19 (3): 203 - 210.
45. **-Hammich V., Azzouz M. (2013)** les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité phytothérapie 11 :22-30.
46. **Harsha et Latha (2012) 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.
47. **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 antiinflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 267 - 272.
48. **Jayaprakasha et al., (2007) 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
49. **Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S., & Skaria, B.P. (2001).** Medicinal Plants. *Tropical Horticulture*, 2: 449 - 632.
50. **Judd et al., 2002 Judd W.S., Cambeil C.S., Kellogg E.A. et Stevens P. (2002),** Botanique systématique une prespective phylogénétique 1 er édition. Ed De Boeck, Paris, 540 p.
51. **July, L. (2007).** La rue, ruta, plante médicinale, plante magique, plante toxique. *Rev.perubiol*, 13(3): 8 - 19.

52. **Lamarck, J.P. (1804).** Encyclopédie méthodique, ou par ordre de matière botanique. Agasse, Paris, 333-335.
53. **Lamnaouer, D. (2002).** Composition chimiques et activités biologiques de quelques plantes médicinales du PNT, 2 - 9.
54. **Lamnaouer, D. & Batanouny, K. (2005).** A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN-Centre for Mediterranean Cooperation Malaga, 241 - 244.
55. **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.
56. **Mahmoudi s, khali M. et Mahmoud N., 2013 :** Etudes de l'extraction des composés phénolique de différente partie de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus L.*) « nature et technologie » B- science Agronomie et biologique n°9Pp 35-40.
57. **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.
58. **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.
59. **Marino M., Bersani et Comi G., 1999:** Antibacterial and antifungal activity of *thymus vulgaris* L. Measured using a bioimpedometric method. *J. Food protects* 62:1017-1023.
60. **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.
61. **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.
62. **Mladěnka, P., Macáková, K., Zatloukalová, L., Reháková, Z., Singh, B.K., Prasad, A.K., Parmar, V.S., Jahodář, L., Hrdina, R. & Saso, L. (2010).** In vitro interactions of coumarins with iron. *Biochimie*, 92: 1108 - 1114.
63. **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.
- 64. Molyneux. P. 2004:** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J.Sci.Technol*, 26 (2): 211-219.
- 65. Moreira M.R., Ponce A.G., Delvalle C.E., Roura S.I., 2005:** « Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen », pp: 565-570.
- 66. Nazich et al, 2009 Nazish I., Kaskoos R. A., Mir S.R., Amin S., Ali M., (2009).** Preliminary Pharmacognostical Standardisation of *Ruta graveolens* L. *Journal of Medicinal Plant*, 3(2)/ 41-44.
- 67. 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.
- 68. Pasquier, C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des Laboratoires*, 276 : 87 - 92. **Pasquier, C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 276 : 87 - 92. phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm.*
- 69. Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. & Zhang, L. (2003).** Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews*, 23(4): 519 - 534.
- 70. Salle J-L., 1991 :** Les huiles essentielles « synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie », Ed : Frison-Roche, pp33-34. *Sci.*, 22(3): 277 – 281
- 71. siham CHAUCHE-MAZOUNI, 2013** permettre a l'étudiant de comprendre certaines notions de base qui l'aideraient a mieux assimiler son programme de biologie.
- 72. 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.
- 73. Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O.E.K. & Moulti-mati, F. (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété *ghars*, *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2): 107 - 114.
- 74. 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

Références bibliographiques

75. **Turgeon, 2001). Turgeon, M. (2001).** Profil des produits forestiers première transformation. Huiles essentielles. Gouvernement du Québec Ministère des Ressources naturelles, Bibliothèque nationale du Québec.
76. **Vogel H.G., Vogel W.H., 1997:** Drug discovery and evaluation. In: Pharmacological Assays. Springer-Verlag, Berlin, pp 80–168.
77. **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.

Annexes

Annexes

Annexe n° 01 :

Tableaux : Composition chimique de *Ruta chalepensis* (Günaydin *et al.*, 2003)

No Partie de la plante Extrait Composé

No	Partie de la plante	Extrait	Composé
1	Fruit	Ethanol	Psoralen
2	Fruit	Ethanol	Bergapten
3	Racine	Ethanol	Isopimpinellin
4	Fruit	Ethanol	Xanthatoxcin
5	Partie aérienne	Dichlorométhane	Moskachan C
6	Partie aérienne	Dichlorométhane	
7	Racine	Chloroform	5-Methoxydictamine
8	Racine	Chloroform	Chalepimoskachan
9	Partie aérienne	Chloroform	Chalepin
10	Partie aérienne	Chloroform	Chalepensisin
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

Annexes

Annexe n° 02 : 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
1,7-Octadiène 2,7-diméthyl 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
Chalepensin	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).

Annexes

Annexe n° 03 : Matériel utilisé

Equipement	La marque
Hydrodistilateur	MEDLINE
Rotavapor	BÜCHI ROTAVAPOR
Spectrophotomètre UV-Vis	SHIMADZU
Microscope optique	ZEISS (WEST GERMANY)
Loupe binoculaire	EUROMEX
Etuve	
Bain marie	GFL (GESELLSCHAT FUR LABORTECHNIK M.B.H)
Agitateur	ROTAMAG 10



Balance de précision



Broyeur (Kika Labortechnik).



Etuve MEMMERT.



Spectrophotomètre



Vortex.



Barreaux magnétiques.



Agitateur.



Bain-marie Bensen



Microscope



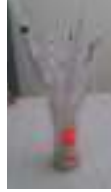
loupe.

Annexes

Annexe 04 : Accessoire et Verrerie de laboratoire (bécher, éprouvette, pipette à graduations,...).



Entonnoir ballon



pipette
graduée



éprouvette
graduée



spatule



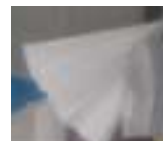
tubes a essais



Micropipette



bécher fiole jaugée



papier filtre

Annexe 05 : Notre culture de *ruta chalapensis L*

Des photos de la Plante entier (originale2018).



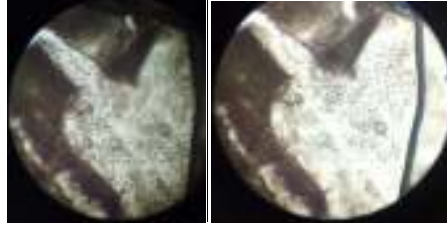
La fleur de notre plante (originale2018).



Annexes

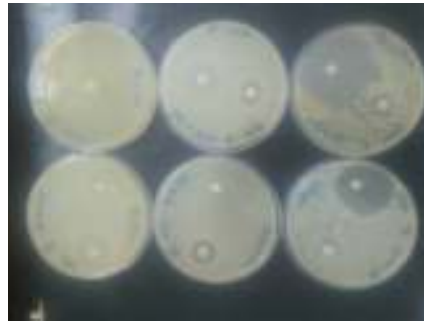
Annexe 06 :

La feuille observée par microscope optique montre les glandes sécrétrices



Annexe 07 : Les résultantes de l'activité antimicrobienne

Après l'ncubation (La zone d'inhibition) :

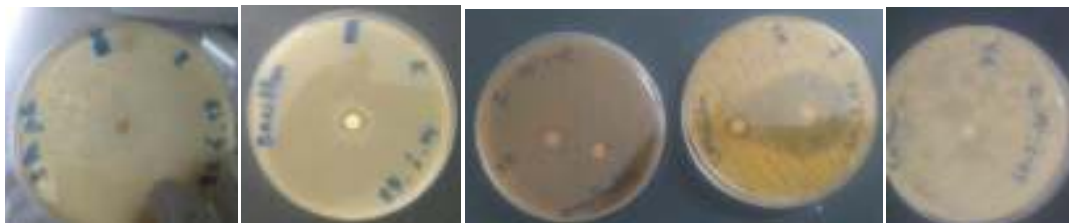


Staphylococcus sp

Escherichia sp

Klebsiella

Pseudomonas sp



Staphylococcus sp

Bacillus sp

Aspergillus

Candida albicans

Enterobacter

Annexes

Annexe 08 : les réactifs chimiques :

Numéro	Le produit
1	L'alcool OH
2	L'alcool isoamylique
3	Ethanol
4	Methanole (MeOH absolu)
5	Folin
6	Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)
7	L'acide HCL
8	L'acitate de polmbe
9	L'acitate de potasium
10	Magnisum Mg
11	L'amoniac
12	Carbonate de soduim
13	L'oxcyde de potasum (KOH)
14	Chlorure féérique (FeCL3)
15	Propanol
16	acide chlorhydrique
18	Drangendroff
19	d'acide sulfurique
20	d'alcool éthylique
21	Rouge de coungo
22	Vert de méthyl
23	L'acide acetique
24	Caragénine
25	Déclofenac