

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en:

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

Thème:

**Extraction et activité antioxydants des composés
phénoliques des parties aériennes du *Ruta chalepensis***

Préparé par :

Mlle. BAIDDA Salha

Mme. BARMAKI Hanane

Mlle. HAFI Saida

Membres de jury d'évaluation :

Mr. IDDOU Abdelkader	Président	Pr.	Univ. Adrar
Mme. MESSAOUDI Houria	Encadreur	MAA	Univ. Adrar
Mr. BOULAL Ahmed.	Examineur	MCA	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2021/2022



شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة):

مسعود حورية

المشرف مذكرة الماستر الموسومة بـ :
Extraction et activité antioxydante
des composés phénoliques de la plante
Ruta chalepensis .
من إنجاز الطالب(ة):

و الطالب(ة): يايدة صالحة - برماكي حناء - حافني سيدة

كلية : العلوم و التكنولوجيا

القسم : علوم الطبيعة و الحياة

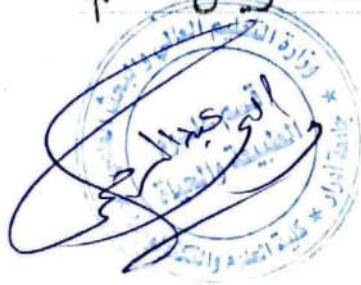
التخصص : بيوكيمياء

تاريخ تقييم / مناقشة: 2022 / 06 / 23

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين
النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.
ويامكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والالكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

مساعد رئيس القسم:



ادرار في : 2022 / 06 / 23

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENT

Avant toutes choses, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons nos profondes gratitudee à nos parents pour leurs soutiens, leurs encouragements et pour les sacrifices qu'ils ont enduré.

Nos plus vifs remerciements vont également à tous les membres de jury qui ont accepté de juger ce modeste travail.

Nous exprimons mes profonds remerciements à **Mme. MESSAOUDI. H** Pour avoir encadré et dirigé ce travail malgré ses lourdes responsabilités,

Nous voulons exprimer nos vifs remerciements au **Mr. IDDOU A. Professeur** à l'Université d'Adrar pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous aimerions aussi remercier **Mr. BOULAL. A** Maître conférence à l'Université d'Adrar, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Un remerciement spécial aux personnels du laboratoire pédagogique de sciences de la vie et de la nature faculté des sciences et de la technologie universitaire d'Adrar pour leur aide, en particulier **Lalout Djihan, Teybi Elhachmi et Boukhateche Ishak Zhour**.

Nos remerciements vont également aux enseignants du département de science de la nature et de la vie pour leur dévouement et leur générosité.

Nous tenons à remercier notre collègue qui nous a aidés dans ce travail **loucif djemâa et hassna**

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace

الحمد لله الذي وهبني التوفيق والسداد وأعاني على إتمام هذا العمل بعد جهد وتعب هاهي ثمار علمي قد أئبعت وحنان قطافها.

ما أجمل أن يجود المرء بأعلى ما لديه والأجمل أن يهدي الغالي للأعلى.

هي ذي ثمرة جهدي أجنيتها اليوم هي هدية أهديها إلى:

إلى من تشققت يداه في سبيل رعايتي ولم ينس يوما تذكيرنا بطلب العلم قائلا " أقرؤوا... أقرؤوا... أقرؤوا "

﴿ ابي الغالي ﴾

إلى من ساندتني في دعائها إلى من سهرت الليالي تنير دربي

﴿ امي الحنون ﴾

إلى الذين ظفرت بهم هدية من الأقدار إخوة فعرفوا معنى الأخوة. إخوتي الأحباء : مصطفى ، عبد القادر ، عبد الفتاح ، شعيب.

أخواتي الغاليات : فاطمة ، نعيمة ، سعيدة. صافية

إلى براعم العائلة : خاتوم ، خولة، نور الهدى، فاطمة الزهراء، طيبة، محمد، آدم

إلى من تقاسمت معهم عناء وجهد هذا العمل : سعيدة حنان

إلى صديقاتي و زميلات الدراسة كل واحد باسمها

وأخيرا أسأل الله ان يجعله نبراسا لكل طلب علم

BAIDDAS

Dédicace

الحمد لله الذي وفقنا لانجاز هادا العمل بعد صبر وعناء وإتمام مشواري الدراسي الذي كان حلمي منذ الطفولة

انا اهدي هادا العمل الى :

ابي العزيز : سندي وقدوتي وملجأني الامن في هذه الحياة

امي حبيبتي : نبع الحنان التي احاطتني بدعائها وسهرت الليالي لأجلي وأعطتني كل الدعم لأحقق حلمي ولكي اصل الى هدفي

زوجي وقرة عيني الذي منحني القوة والصبر الذي كان معي خطوة بخطوة في نجاحي

الى اخوتي : محمد ,زهراء ,ايمن ,خالد

صديقاتي:صالحة , سعيدة اللتان لهم كل الفضل عليا انتم نعم الاصدقاء

فافخر بعلم ولا تطلب به بدلا

فالناس موتى وأهل العلم احياء



Dédicace

Je dédie ce modeste travail au Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de vie, et qui ma donnée la force pour réaliser ce travail

A mes très chers Parents : Vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous.

- ➔ *A mes chères frères : **Fatiha, Karima.***
- ➔ *A mes chers frères : **Mohamed, nouraden, Younes, boualam, Ali.** je remercie amis, mille à moi **Saliha Hannan***
- ➔ *A ma très proches amie : **Fatima, Saida, Milouda.***
- ➔ *A mes chères grandes mères et mes chers grands-pères le seigneur a pitié*
- ➔ *A mes oncle: **mabrouk, Mohamed, Belkacem, Salim, Salah, Abd Rahman, Abd Kader.***
- ➔ *A mes oncle: **Belkacem, Boubakar, Mohammed, Brahim.***
- ➔ *Ames tante : **Saliha** et Ames oncle : **Fatima***
- ➔ *Les femmes d'oncles: **aicha, Salaha, Fatima, Khadija, Aicha.***
- ➔ *Les femmes d'oncles : **Aicha, Fatima, Mabrouka, Zahra.***
- ➔ *A tous mes enfants des tantes et oncles.*
- ➔ *A tout famille : **Hafi et Hemi.** je remercie amis, mille à moi **SH***
- ➔ *A tout mes amies que j'ai vécu avec elles de bons moments au cours de mon parcours à l'université.*
- ➔ *A mes camarades de la promotion.*
- ➔ *A ceux qui me connaissent de près ou de loin.*



HAFI S

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C: Degré Celsius

T° : Température

Abs : Absorbance

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

BHA: Butylhydroxyanisole

BHT: Butylhydroxytoluène

DPPH: Diphenyl picryl- hydrazyle

UV: Ultra violet

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

g : Gramme

EAG : Equivalent d'acide gallique

H₂O: Eau

I %: pourcentage d'inhibition

IC₅₀: concentration inhibitrice de 50% de radical DPPH

Kg: kilogramme

L: Litre

LDL: lipoprotéines de faible densité

MS : matière sèche

Mg : Milligramme

mn : Minute

ml : Mili litre

O₂: Oxygène

V/V : Volume par Volume

R: Rendement

μ : Micron

μg : Microgramme

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Liste des Figures

Figure 1: La plante <i>Ruta chalepensis</i>	7
Figure 2: Classification biogénétique des alcaloïdes des Rutacées	9
Figure 3: La rutine	10
Figure 4: Structure acides hydroxybenzoïques.....	12
Figure 5 : Structure acide hydroxy cinnamiques.	13
Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes	14
Figure 7 : Structure chimique des flavanones.....	15
Figure 8: Structures chimiques de flavonol.	16
Figure 9: Structures chimiques de certains flavan-3-ols.	17
Figure 10: Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes	18
Figure 11: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)	19
Figure 12: Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b).....	19
Figure 13: Structures de l'oleuropéine	20
Figure 14: Squelette de base des coumarines.	20
Figure 15: Structure de coumarines simples.....	21
Figure 16: Structures de quelques coumarines prénylées.....	22
Figure 17: Structures de quelques furocoumarines linéaires et angulaires.....	23
Figure 18: Quelques exemples de pyranocoumarines.	23
Figure 19: Exemple de dicoumarines.	24
Figure 20: Triumbéllatine.	24
Figure 21: Squelette de base des Lignane.....	25
Figure 22: Localisation des composés phénoliques.....	26
Figure 23: les différentes parties aériennes de <i>Ruta chalepensis</i>	30
Figure 24: Procédure d'extraction des composés phénoliques du <i>Ruta chalepensis</i>	33
Figure 25 : macération poly phénoliques.....	34
Figure 26 : filtration de l'extrait après macération.....	34
Figure 27 : Dégraissage du filtrat par le n-hexane.....	34
Figure 28: Evaporation par rota vapeur.	35
Figure 29: Extraits brut (les feuilles, les tiges, les fleurs).....	35
Figure 31: Schéma du protocole de dosage des flavonoïdes.	37
Figure 32: Gamme de l'étalonnage de la catéchine.....	38

Figure 33: Les extraits méthanoïques de flavonoïdes à dose.....	38
Figure 34: Schéma de Protocol d'activité DPPH.....	39
Figure 35: Taux d'humidité de <i>Ruta chalepensis</i>	40
Figure 36: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	42
Figure 37: Courbe d'étalonnage de catéchine.....	43
Figure38 : Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des feuilles	44
Figure 39: Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des tiges	44
Figure40 : Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des fleurs.....	45
Figure 41: les valeurs IC50 des parties aériennes de <i>Ruta chalepensis</i>	45

Liste des Tableaux

Tableau 1: principaux acides hydroxybenzoïques	13
Tableau 2: quelques exemple de type d hydroxy cinnamiques	14
Tableau 3: Quelques exemples de ce type de composés coumarines simples.....	21
Tableau 4: Désignation des produits chimiques utilisés.....	30
Tableau 5: Influence du la partie de la plante sur la teneur en eau (exprimée en %)	40
Tableau 6: Rendement d'extraction du trois partie de la plante	41
Tableau 7: Valeurs des IC50.....	45

Résumé

Notre travail porte sur les études de la phytochimie et d'activité antioxydante des extraits bruts des parties aériennes de la plante *Ruta chalepensis* dans région d'Adrar.

L'extraction des composés phénoliques des parties aériennes de la plante a été effectuée en utilisant le méthanol avec l'eau distillée (V/V : 70/30) par double macération. Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut présente un rendement de 40% pour les fleurs, et 30% pour les feuilles, et 16% pour les tiges. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes est élaborée par la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode de trichlorure d'aluminium, montre que l'extrait brut est riche en ces composés : feuilles (11,76mgEAG/g ; 11.74mgEC/g); fleurs et tiges (11,1mgEAG/g ; 11.09mgEC/g) respectivement. Pareillement les extraits bruts ont montrés un pouvoir remarquable de piégeage du radical libre DPPH (IC50 est de 0.015mg/mL pour les feuilles, 0.02mg/mL pour les fleurs et 0.037mg/mL pour les tiges).

Mots clés : *Ruta chalepensis*, Polyphénols, flavonoïdes, DPPH, IC50.

ملخص

يركز عملنا على دراسات الكيمياء النباتية والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الخام للأجزاء الهوائية من *Ruta chalepensis* في منطقة Adrar.

تم استخلاص المركبات الفينولية من الأجزاء الهوائية للنبات باستخدام الميثانول مع الماء المقطر (V / V: 70/30) عن طريق النقع المزدوج. بينت النتائج المتحصل عليها أن المستخلص الخام له عائد 40% للزهور و 30% للأوراق و 16% للسيقان. تم تطوير التقدير الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد بطريقة Folin-Ciocalteu وطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ، مما يدل على أن المستخلص الخام غني بهذه المركبات: الأوراق (11.76 ملي غرام مكافئ لحمض الغاليك/غرام) و(11,74 ملي غرام مكافئ لحمض الغاليك/غرام من الزهور والسيقان) (1,11 ملي غرام كرسيتين/غرام من الأوراق) ؛ (09,11 ملي غرام كرسيتين/غرام من الزهور والسيقان) على التوالي. وبالمثل ، أظهرت المستخلصات الخام قوة تنظيف جذرية خالية من DPPH (IC50 0.015 مجم / مل للأوراق ، 02,0 مجم / مل للأزهار و 037,0 مجم / مل للسيقان).

الكلمات المفتاحية : *Ruta chalepensis* ، Polyphenols ، flavonoids ، DPPH ، IC50.

Summary

Our work focuses on studies of the phytochemistry and antioxidant activity of crude extracts of the aerial parts of *Ruta chalepensis* in the Adrar region.

The extraction of phenolic compounds from the aerial parts of the plant was carried out using methanol with distilled water (V/V: 70/30) by double maceration. The results obtained show that the crude extract has a yield of 40% for the flowers, and 30% for the leaves, and 16% for the stems. The quantitative estimate of total polyphenols and flavonoids is developed by the Folin-Ciocalteu method and the aluminum trichloride method, shows that the crude extract is rich in these compounds: leaves (11.76mgEAG/g; 11.74mgEC/g); flowers and stems (11.1mgEAG/g; 11.09mgEC/g) respectively

Similarly, the crude extracts showed remarkable DPPH free radical scavenging power (IC50 is 0.015mg/mL for the leaves, 0.02mg/mL for the flowers and 0.037mg/mL for the stems.)

Keywords: *Ruta chalepensis*, Polyphenols, flavonoids, DPPH, IC50.

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	i
Liste des Figures.....	iii
Liste des Tableaux.....	v
Résumé	
Introduction.....	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I: La plante *Ruta chalepensis*

I. 1. Les plantes médicinales.....	3
I.1. Généralité.....	3
I.2. Définition.....	3
I.3. Parties de plantes médicinales utilisées.....	3
I. 4. La phytothérapie	4
<i>I.5. Ruta chalopensis</i> L.....	5
I. 5.1. Généralité	5
I.5.6. Définition.....	7
I.2. Systématique.....	8
I.3. Composition chimique.....	8
I.3.1. Les Alcaloïdes.....	8
I.3.2. Huile volatile.....	9
I.3.3. Les Flavonoïdes.....	9
I.3.4. Les Coumarines.....	10
I.3.5. Lignans.....	10
I.4. Usage et Toxicité.....	10

Chapitre II: Les polyphénols

II.1. Définition.....	11
II.2. Biosynthèse	11
II.3. Structures chimiques et classification.....	12
II.3.1. Acides phénoliques.....	12
II.3.1.1. L'acide hydroxybenzoïque.....	12
II.3.1.2. L'acide hydroxycinnamique.....	13
II.3.2. Les flavonoïdes.....	14

II.3.2.1. Les flavanone.....	15
II.3.2.2. Les Flavonols.....	15
II.3.2.3. Les Flavan-3ols.....	16
II.3.2.4. Anthocyanidines.....	17
II.3.3. Les tanins.....	18
II.3.3.1. Tanins hydrolysables.....	18
II.3.3.2. Tanins condensés.....	18
II.3.4. Alcools phénoliques.....	19
II.3.5. Les coumarines.....	20
II.3.5.1. Coumarines simples.....	21
II.3.5.2. Coumarines prénylées.....	22
II.3.5.3. Les furocoumarines.....	23
II.3.5.4. Les Pyranocoumarines.....	23
II.3.5.5. Dicoumarines (coumarines dimériques).....	24
II.3.5.6. Tricoumarines (coumarines trimériques).....	24
II.3.6. Les lignanes.....	24
II.4. Localisation des composés phénoliques.....	25
II.5. Rôles et propriétés des composés phénoliques.....	26
II.5.1. Chez les végétaux.....	26
II.5.2. Dans aliment.....	27
II.5.3. Chez l'homme.....	27
II.6. Effets biologiques des poly phénols.....	28
II.7. Activité antioxydant des poly phénols.....	28
II.7.1. Les antioxydants enzymatiques	28
II.7.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	29
II.7.3. Les antioxydants synthétiques	29

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

I. Echantillonnage et préparation du Matière végétale.....	30
II. Produits chimiques utilisés.....	30
III. Détermination du taux d'humidité.....	31
IV. Extraction des polyphénols.....	32
V. Dosage des polyphénols totaux.....	36
VII. Dosage des flavonoïdes totaux.....	37

VIII. Détermination de l'activité anti radicalaire des extraits de <i>Ruta chalepensis</i> par la méthode DPPH.....	38
---	----

Résultats et discussions

I. Taux d'humidité.....	40
II. Rendement d'extraction	41
III. Teneur des polyphénols totaux.....	42
IV. Teneur des flavonoïdes totaux	43
V. L'activité anti radicalaire DPPH.....	43
Conclusion.....	47

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (Soboda et Soboda, 2000).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (Bourgaud, et al., 2001 ; Kartal, et al., 2007). Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90% du traitement médical. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (Kartal, et al., 2007)

En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires notamment les polyphénols. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (Boizot, et Charpentier, 2006). Ils constituent une grande classe chimique qui dispose d'une extrême variété de structures et d'activités biologiques (Queiroz-Monici, et al., 2005), les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier, 2006). La capacité antioxydante est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols (Navarro et al., 2008).

L'espèce *Ruta chalepensis* est connue par ses propriétés antifongiques (Oliva et al., 2003), anti-inflammatoire; antiseptique; antipyrétique et antiparasitaire (Duke et al., 2008). L'extrait aqueux de *Ruta chalepensis* a une activité hypotensive par un effet direct sur le système cardiovasculaire (Duke et al., 2008). Dans ce contexte s'inscrit le présent

Introduction Général

travail de recherche dont le but principal est d'étudier certaines activités biologiques de l'extrait brut de *Ruta chalepensis*.

- ✓ Dans la première partie et en première chapitre de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographie sur la présentation de la plante étudiée (*Ruta chalepensis*), leur habitat et leur usage le deuxième chapitre se porte sur l'étude des composés phénoliques, la biosynthèse, les différentes familles constituées et les effets biologiques.
- ✓ Dans la deuxième partie nous envisageons la partie expérimentale. Nous décrivons la méthode d'extraction, quelques dosage des composés phénolique (les polyphénols, les flavonoïdes) et certaines activités antioxydants d'extrait brut du *Ruta chalepensis*.
- ✓ Enfin discussions les résultats obtenus lors de cette étude. D'après les résultats obtenus, ce travail est termine par une conclusion et perspectives pour des futures recherches.



Chapitre I
La plante *Ruta*
chalepensis

I. les plantes médicinales

I.1.Généralité

L'utilisation des plantes médicinales est ancienne par ce qu'elles sont employées depuis l'antiquité dans la lutte contre plusieurs maladies. En effet, on peut les définir comme toutes plantes contiennent un ou plusieurs éléments actifs pouvant être utilisés à des fins thérapeutiques (Bendif, 2017).

Aussi, elles s'utilisent comme drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Abderrazak et Guendouz 2019)

L'Algérie grâce à différentes zones bioclimatiques, hivers froids, humides, doux et secs et leur situation géographique, occupe une meilleure place pour l'exploitation, la production et l'exportation de plusieurs plantes médicinales (Abderrazak et Guendouz ,2019).

I.2.définition

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication (Lehout , Laib 2015)

Actuellement grâce ou progrès scientifique considérables enregistrés depuis la fin du XIXème siècle (technique d'analyse et extraction... etc.) les plantes médicinales constituent des ressources inestimables qui ont été utilisées pour trouver de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de futurs médicaments (Gurib-Fakim, 2006).

I.3.Parties de plantes médicinales utilisées

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par Gurib-Fakim, 2006 :

- ✓ **Racine:** Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues
- ✓ **Rhizome:** Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.

- ✓ **Bulbe** : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.
 - ✓ **Tubercule**: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse. Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille *Hypoxidaceae*) est un exemple bien connu.
 - ✓ **Écorce**: L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp., Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).
 - ✓ **Bois**: Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae. Plantes médicinales 7
 - ✓ **Feuilles** : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple : *Ginkgo biloba* de la famille Ginkgoaceae
 - ✓ **Gommes** : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains. Exemple (*Acacia Senegal*; *Terminalia bentzoe*).
 - ✓ **Huiles essentielles** : Exemple (*Mentha x piperita*; *Cananga odorata*).
- Les parties aériennes**: Toutes les parties de la plante qui se trouvent au dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : *Hypericum perforatum* de la famille Hypericaceae.
- ✓ **Fleurs** : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.
 - ✓ **Fruits** : Exemple (*Punica granatum* ; *Citrus* sp).
 - ✓ **Graines** : Exemple (*Ricinus communis*; *Foeniculum vulgare*).

I. 4- La phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » C'est un traitement ou prévention des maladies par l'usage de certaines parties de plantes médicinales telles que les racines, les tiges ou les feuilles. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Zeghad, 2009)

D'après (Zeghad, 2009) il y'a différents types de phytothérapie :

- ✚ **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plantes (essences et ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- ✚ **Gemmothérapie** : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, bourgeons et les radicules.
- ✚ **Herboristerie** : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantesmédicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples,

le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.

- ✚ **Homéopathie** : elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminées par la maladie elle-même.
- ✚ **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Après transformation chimique, les plantes sont vendues sous forme de tisanes, de liquide, de sachets, ou de gélules.

1.5. Ruta chalopensis L.

1. 5.1. Généralité

Rutaceae (famille de la rue ou des agrumes) : généralement arbres ou arbustes, parfois à épines ou aiguillons ; à composés amers triterpéniques, à alcaloïdes, et composés phénoliques ; à lacunes sécrétrices disséminées (points translucides) contenant des huiles essentielles aromatiques (Wiart, 2006).

Le genre *Ruta* (*rue*) vient du grec « rhyté » qui signifie sauvé, prévenir, ou de « reô » qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues (Doerper, 2008).

Ce genre comprend 8 espèces d'arbustes, de sous-arbrisseaux et de vivaces herbacées à souche ligneuse, caducs ou persistants, vivants dans les lieux secs et rocaillieux, de la région méditerranéenne, et du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest

de l'Asie. Les fleurs et le feuillage aromatiques, sont le principal attrait des rues. Les feuilles sont alternes, parfois opposées, ovales, larges, arrondies et pennatiséquées ou pennées. Les fleurs, jaunes, fimbriées ou dentées, à quatre ou cinq pétales, s'épanouissent en cymes terminales (Mioulane, 2004).

Les espèces de *Ruta* les plus connues sont très proches en forme, composition et en propriétés pharmacologiques :

- ❖ ***Ruta chalepensis*** (décrite ci dessous).
- ❖ ***Ruta montana*** : c'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq. ; *Ruta tenuifolia* Gouan) ou bonne rue (Bonnier, 1999), a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (Baba Aissa, 1999).
- ❖ ***Ruta graveolens*** : graveolens vient du latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Doerper, 2008). Appelée aussi rue-officinale, rue-puante, rue fétide, rue des jardins, Herbe à la belle-fille, Rue des murailles (Bonnier, 1999) et également péganion (Le moine, 2001).

1.5.6. Définition

Ruta chalepensis est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale (Baba iassa, 1999), au Nord-est de l'Afrique, Sud de l'Europe et le Sud-ouest de l'Asie (Mioulane, 2004).

Cette plante est une herbacée à tige ligneuse à la base, pouvant atteindre 1m (Baba aissa, 1999). Les feuilles de 6 à 12 cm de long, sont aromatiques, ovales, larges, pennatiséquées, bleu-vert, elles présentent de nombreux lobes oblongs, lancéolés ou aborales. En été, s'épanouissent des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre, en coupe, de couleur jaune foncé, portant quatre ou cinq pétales frangés de longs poils. Elles sont réunies en cymes lâches (Mioulane, 2004).



Nom français : *Rue d'Alep*
Nom Noms anglais : *Herb of Grace*
Nom arabe : *Fidjel*
(Merghache ., et al., 2009)

Figure 1: La plante *Ruta chalepensis*.(Duke ., et al., 2008).

I.6. Systématique

Règne : Plantae
Sous règne : Tracheobionta
Super division : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Sous division : Angiospermae
Classe : Magnoliopsida
Sous classe : Rosidae
Super ordre : Rutanae
Ordre : Sapindales
Famille : Rutaceae
Genre : *Ruta*
Espèce : *Ruta chalepensis* L.
(Wiart, 2006 ; Takhtajan, 2009)

I.7. Composition chimique de *Ruta chalepensis*

I.7.1. Les Alcaloïdes (0.4- 1.4%): (Foster et Tyler, 1999)

- Furoquinoline alcaloïdes: skimmianine, gamma-fagarine, dictamnine, kokusaginine, pteleine
- Acridine alkaloids: arborinine- 2-arylquinoline, rutacridone, Gravacridiol (Waterman, 1975), choloridone [4,5-dioxymethylene-11-methylfuro (2,3-c) acridin-6 (11H)-on] (Ulubelen et Terem , 1988).
- Quinazoline alcaloïdes : comme l'arborine
- Quinoline alcaloïdes: parmi eux: graveoline, graveolineine (Waterman P.G, 1975).

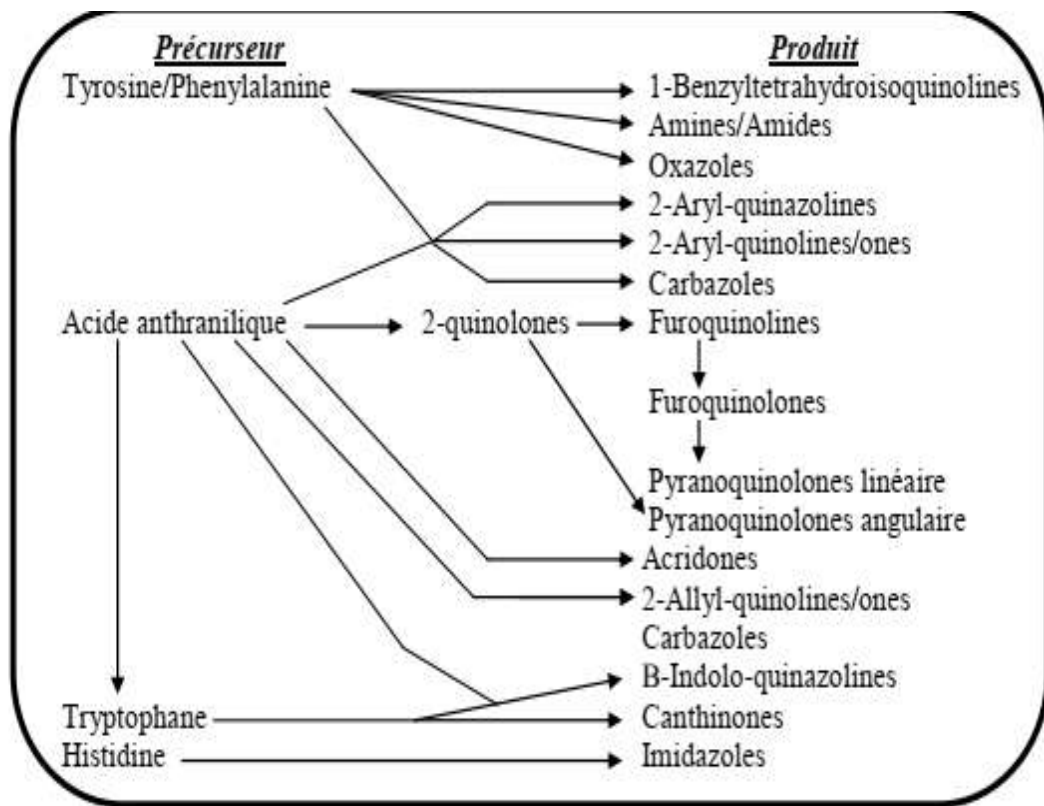


Figure 2: Classification biogénétique des alcaloïdes des Rutacées. (Waterman , 1975).

I.7.2. Huile volatile (0.2-0.4%): (Fleming, 2000)

Le rendement en huile essentielle et le composé majoritaire diffèrent selon le lieu de récolte mais généralement les composés les plus rencontrés sont le 2-nonanone et le 2-un decanone (Mejri et *al.*, 2010, Merghache et *al.*, 2009)

I.7.3. Les Flavonoïdes

Le composant majoritaire est la rutine (2-5%) (Fleming, 2000): Tous les parties de la plante renferment un glucoside, la rutine, (Bonnier, 1999) ou rutoside qui est la vitamine P (Schauenberg et Paris , 1977 ; Dewick , 2002) isomère de la quercitrine, identique à un glucoside qu'on trouve dans le Câprier (Bonnier , 1999)

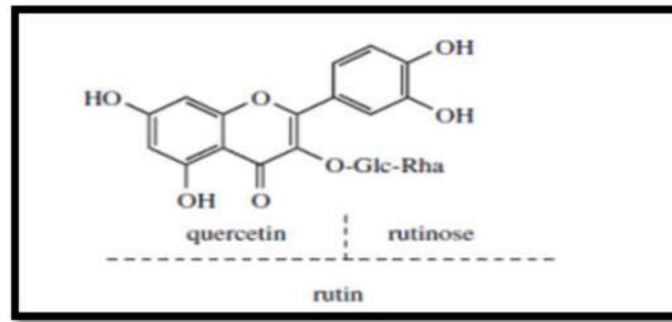


Figure 3: la rutine. (Dewick, 2002)

1.7.4. Les Coumarines (Milesi et *al.*, 2001)

Hydroxy-coumarines: umbelliferone, herniarin, gravelliféron, rutacultin.

Furo-coumarines: bergapten, psoralen, xanthotoxin, chalepensis, isopimpinellin, isoimperatorin, rutarin, rutaretine.

Pyrano-coumarines: parmi eux: xanthyletine.

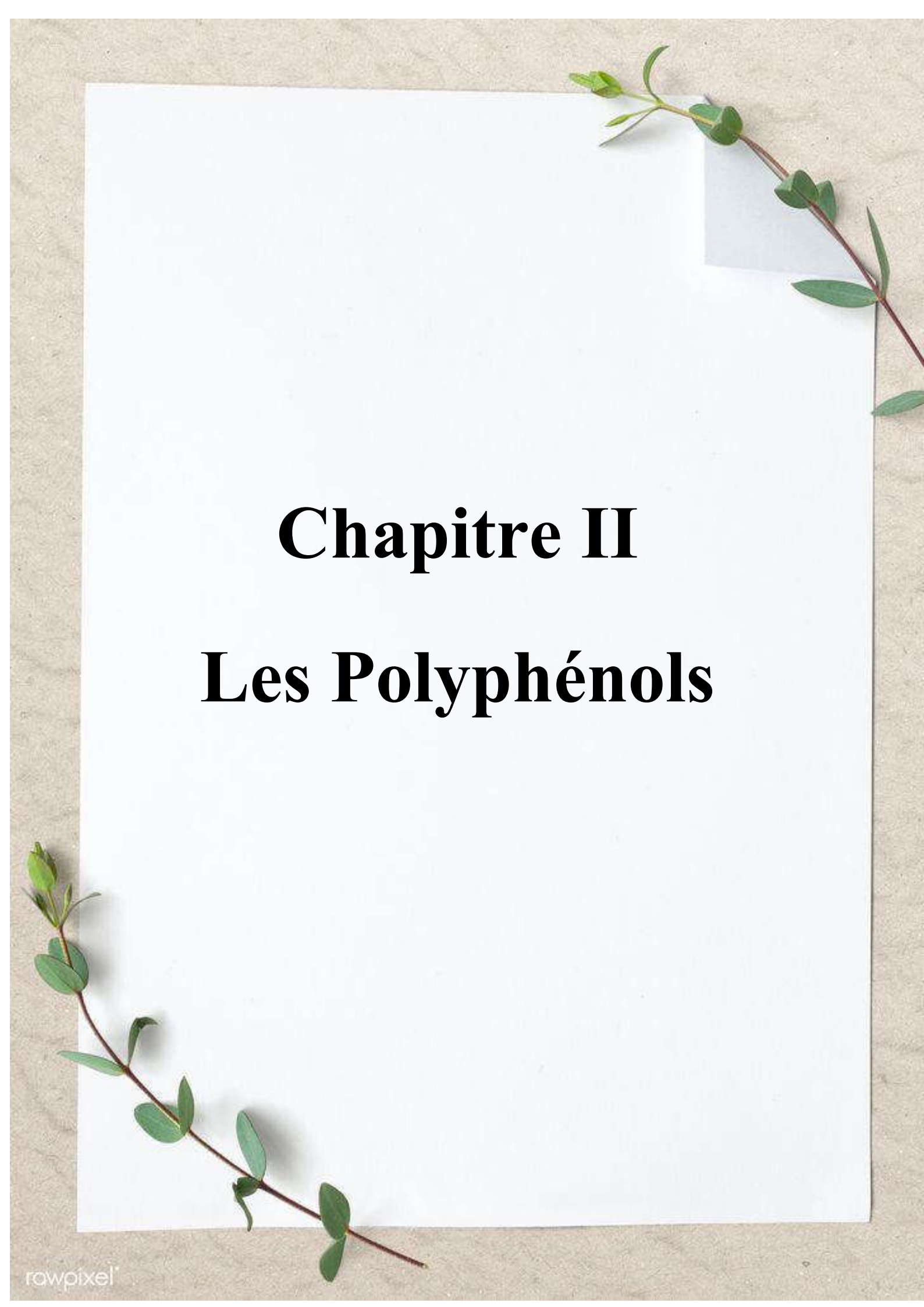
1.7.5. *Lignans* : savinine, helioxanthine. (Fleming, 2000)

I.6. Usage et Toxicité

Ruta chalepensis est une plante ornementale des jardins. Elle repousse les insectes (Le moine, 2001).

Les feuilles fraîches, quoique très amères, sont comestibles, elles sont utilisées pour aromatiser le fromage blanc et dans la préparation d'un beurre aux herbes. Elle aromatise aussi certaines boissons alcoolisées (Bilderback, 2007). Sa sève irrite les peaux sensibles.

Autres activités sont citées par; (Duke et al., 2008). Analgésique; Anti fertilité; Anti-inflammatoire; Antiseptique (contre : Bacillus, Candida, Escherichia, Microsporium, Pseudomonas, Staphylococcus) ; Antispasmodique ; Bactéricide; Candidicide; Cardiotonique; Insectifuge; Molluscicide; Stomachique; Sudorifique; Vermifuge; Vulnéraire ; antipyrétique, antiparasitaire et l'extraits aqueux de la rue a une activité hypotensive par un effet direct sur le système cardiovasculaire.



Chapitre II

Les Polyphénols

II. Les polyphénols

II.1. Définition

Les polyphénols sont synthétisés par les plantes et constituent un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. A ce jour, les scientifiques en ont identifié plus de 8000, allant de molécules simples à des composés hautement complexes. Ils sont regroupés en différentes classes aux noms sibyllins d'acides cinnamiques, d'acides benzoïques, de flavonoïdes, de lignines et de lignanes, de coumarines, de stilbènes et de tanins.

Les polyphénols sont naturellement présents dans notre alimentation sous différentes formes telles que les vitamines A, C ou E, les carotènes et certains minéraux comme le sélénium et le zinc. On les retrouve en plus grandes quantités dans les fruits, les légumes et les céréales, ainsi que dans des boissons telles que le thé, le café et le vin. (Uthurry et al. ,2011).

II.2. Biosynthèse:

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires et sont synthétisés, par des plantes au cours de leur développement normal, en réponse à des infections, des blessures, des rayons ultra-violet (UV) et des insectes. Ces composés phytochimiques provenant de la phénylalanine et la tyrosine sont ubiquitaires dans les plantes (Pereira Nunes et *al.*, 2012) .

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques:

✓ **Celle de l'acide shikimique**, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples ;

✓ **Celle issue de l'acétate/malonate**, qui conduit à des polys β -coesters (poly-acétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy 1,8-anthraquinone ou les naphthoquinones.

II.3. Classification des polyphénols et Structures chimiques

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes. (Clifford , 1999) ;(D'Archivio , 2007).

II.4.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique. (Bruneton , 2008).

II.4.1.1. L'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

La concentration de l'acide hydroxy benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxy-cinnamiques tels que les acides p-coumariques, férulique et sinnapique sont très présents (**Figure 4**). (Macheix et *al.*, 2006).

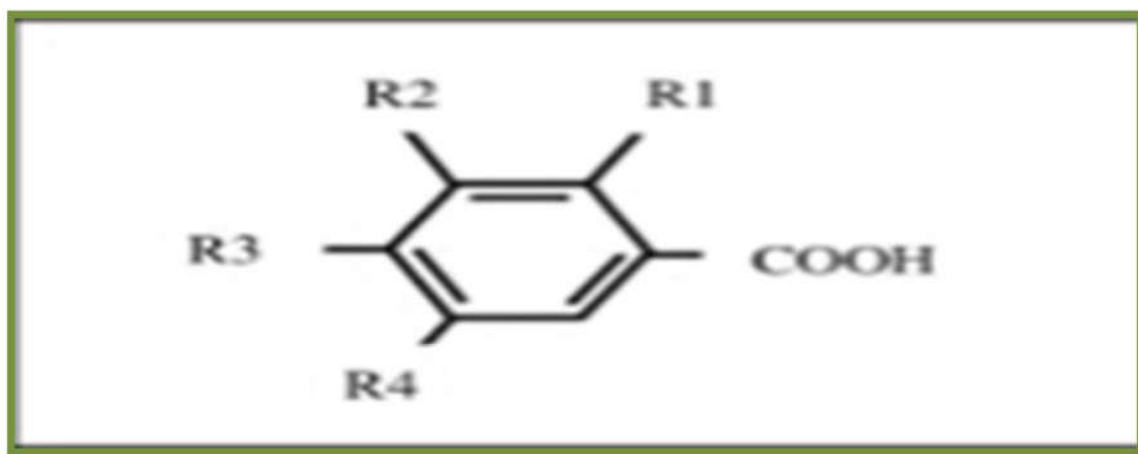


Figure 4: Structure acides hydroxybenzoïques (Bruneton , 2008).

Tableau 1: principaux acides hydroxybenzoïques. (Bruneton , 2008).

R1	R2	R3	R4	acide phénoliques
H	H	H	H	acide benzoïque
H	H	OH	H	acide phydroxybenzoïque
H	OH	OH	H	acide protocatechique
H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
OH	H	H	H	acide salicylique
OH	H	H	OH	acide gentisique

II.4.1.2. L'acide hydroxycinnamique

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (Figure 5). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides féruliques ou sinapique) sont un des éléments important de la réactivité chimique de ces molécules (Macheix et *al.*, 2006).

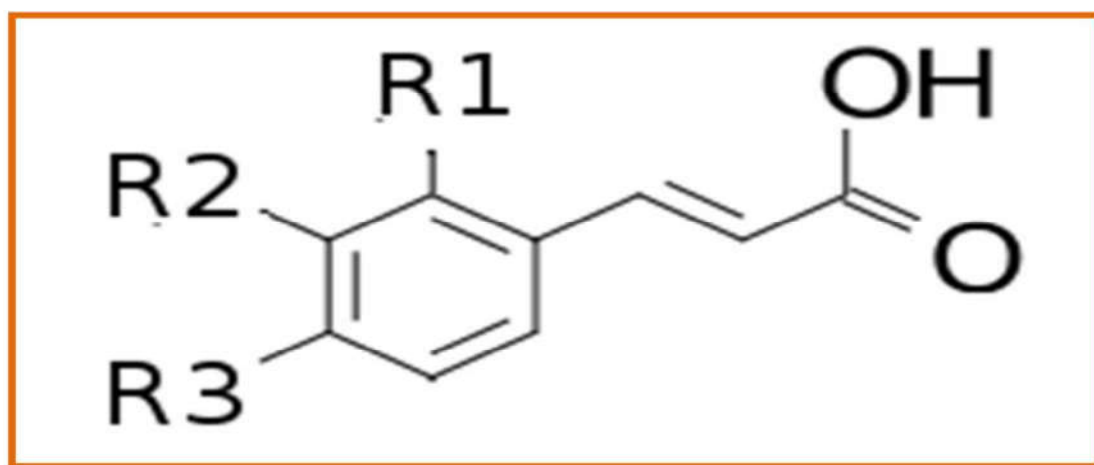
**Figure5 :** structure acide hydroxy cinnamiques.(Chira et al ., 2008)

Tableau 2: quelques exemples de type d'Acide hydroxy cinnamiques. (Chira et al., 2008)

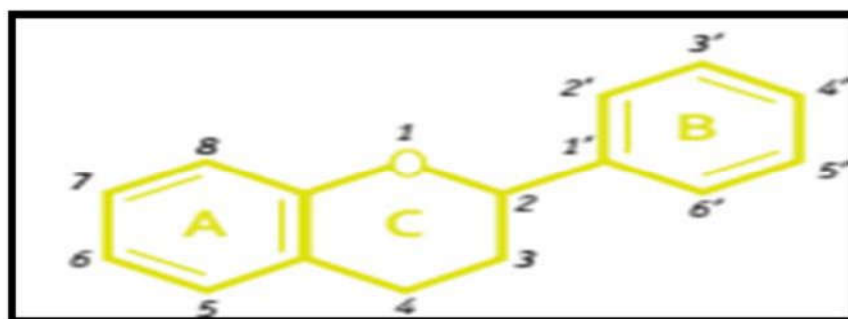
R1	R2	R3	acide phénoliques
H	H	H	acide cinamique
H	OH	H	acide pcoumarique
OH	OH	H	acide caféique
OCH ₃	OH	H	acide férulique
OCH ₃	OH	OCH ₃	acide sinapique

II.4.2.Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturel appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, et aussi dans le miel.

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

**Figure 6:** Squelette de base des flavonoïdes. (Krishna et al ., 2001)

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 6).

II.4.2.1-Les flavanone

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (Figure 7).

Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperétine dans l'orange : un jus d'orange contient entre 200 et 600 mg d'hésperétine/L.

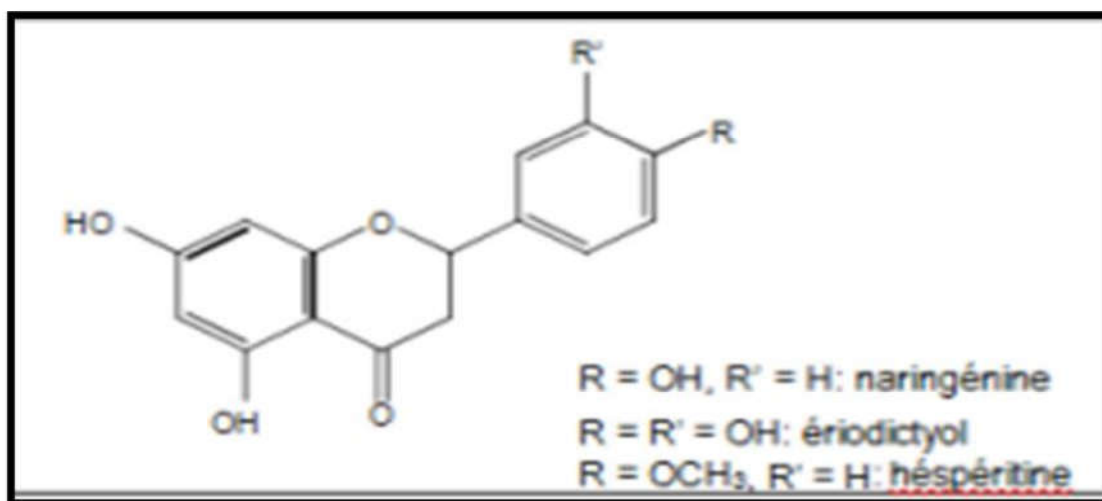


Figure7 : Structure chimique des flavanones. (Crozier, 2003).

II.4.2.2- Les Flavonols:

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides (Figure 8). Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses: D-glucose et L-rhamnose. (Korkina et al., 1997).

Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons (350-1200mg/kg de matière fraîche) (Hertog .,et al., 1992).

Le chou et les baies telles que le cassis (115 mg/kg de matière fraîche) (Hakkinen et al.,1999) .Le thé contient aussi des flavonols à hauteur de 45 mg/L.(Hertog et al .,1993).

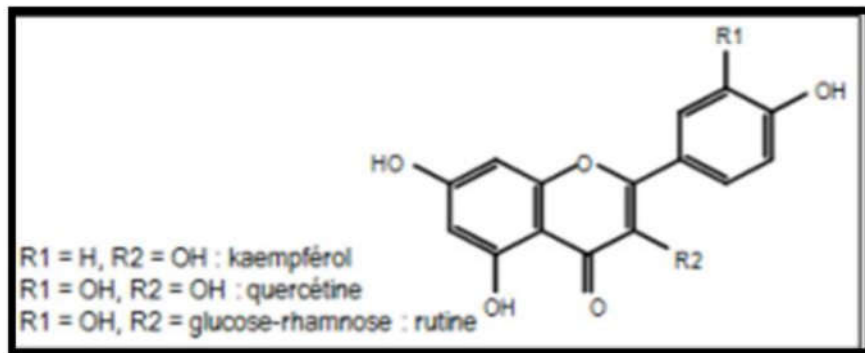


Figure 8: Structures chimiques des flavonols. (Crozier, 2003).

II.4.2.3-Les Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus Complexe (**Figure n° 9**). Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines. De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (épicatéchine gallate, épigallocatéchine, épigallocatéchine gallate).

Les catéchines sont présentes dans le chocolat (jusqu'à 132,4 mg/kg de matière fraîche de chocolat noir), le thé (jusqu'à 120 mg du thé noir de Chine) et dans les fruits comme l'abricot. (Arts et al., 2000)

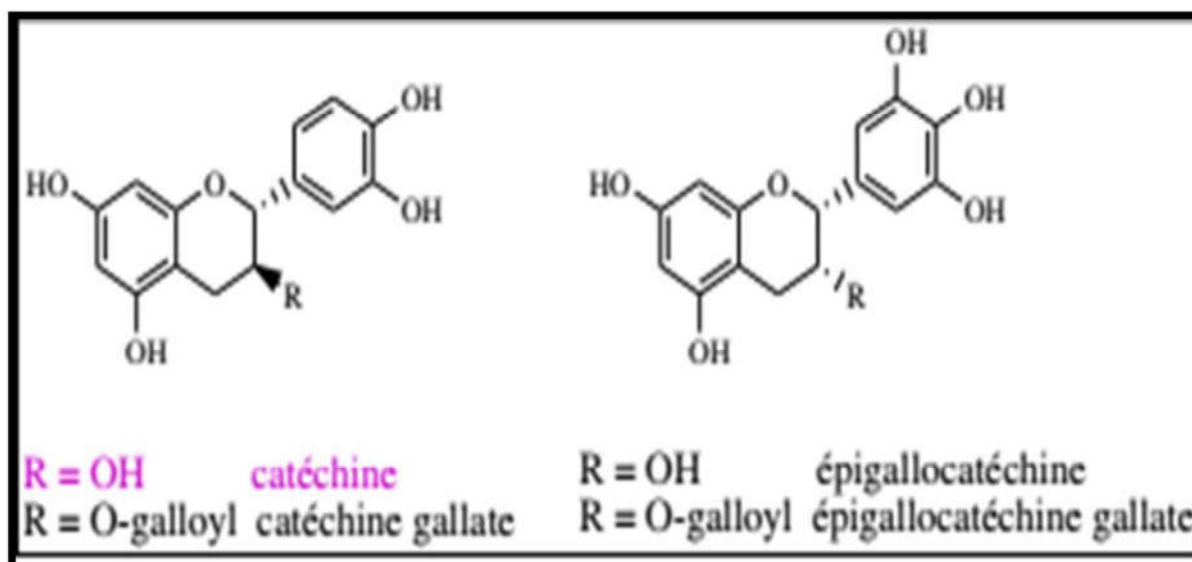


Figure 9: Structures chimiques de certains flavan-3-ols. (Chira et al., 2008).

II.4.2. 4-Anthocyanidines

Ces sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine. (Figure 10) (Vitrac et al., 2005)

Ils sont présents dans le vin rouge (340-420 mg de malvidine 3-O-glucoside/L) (Mazza et al., 1999).

. De nombreux glucosides de cyanidine et deux dérivés de pélagonidine ont aussi été caractérisés dans l'oignon rouge (Fossen et al., 1996).

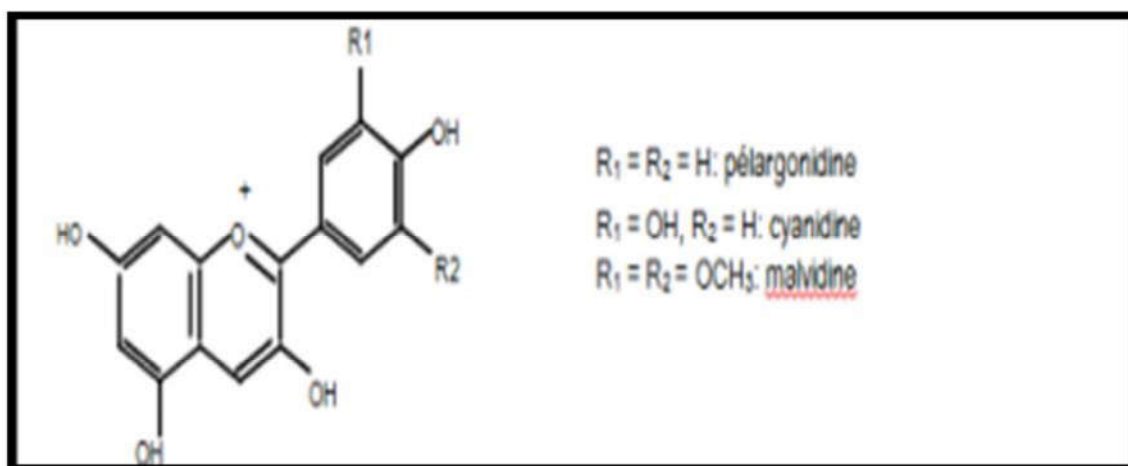


Figure 10: Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes. (Han et al., 2007)

II.3.3. Les tanins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles. (Aguilera-Carbo et al., 2008).

Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Paris et Hurabeillen, 1981), d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Linden et Lorient, 1994)

II.3.3.1. Tanins hydrolysables :

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique. (Cowan, 1999).

Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase). (Ribéreau-Gayon, 1968)

II.3.3.2. Tannins condensés :

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 Bruyne et al., 1999). (En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc...) et de l'amertume du chocolat (Figure 11). (Danglettere, 2007).

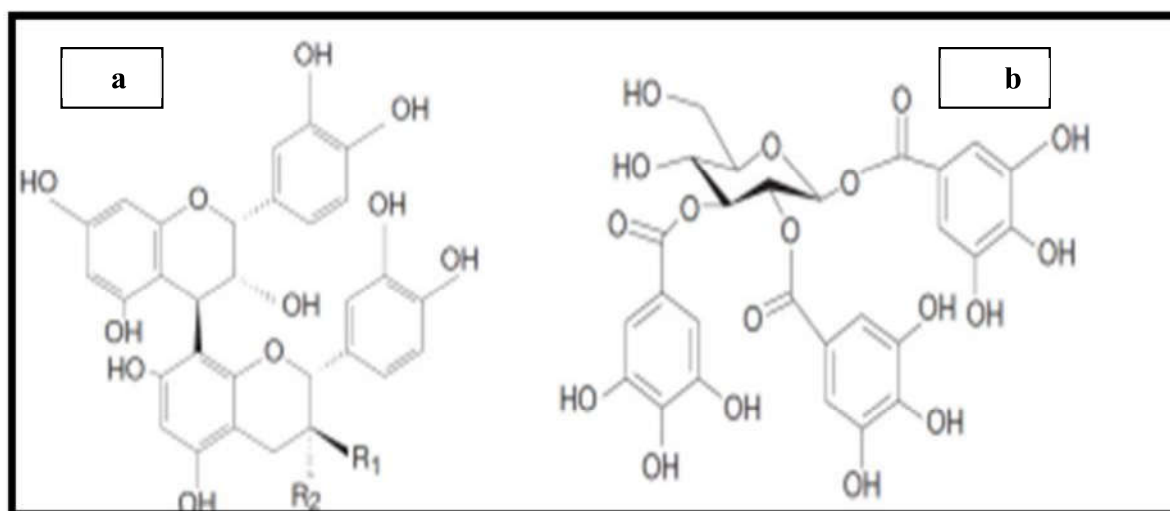


Figure 11: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose). (Derbel et Ghedira 2005).

II.3.4. Alcools phénolique

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe (Figure 12).

Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique. (Micol et al., 2005).

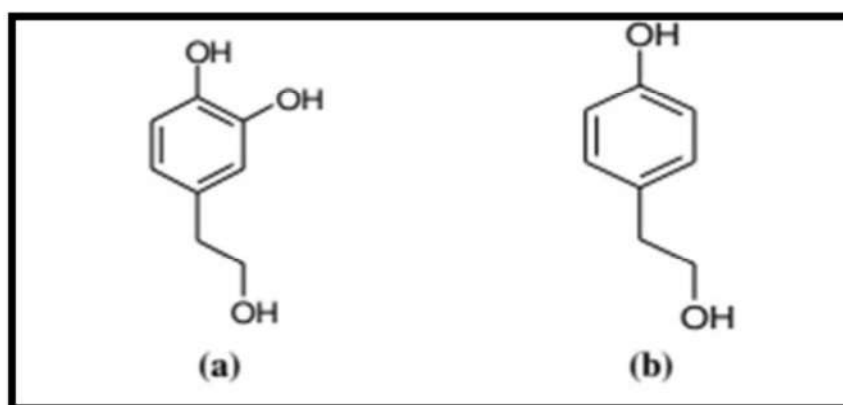


Figure 12: Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b). . (Long ., et al .,2010)

Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (60 à 90 mg/g matière sèche). (Figure 13).

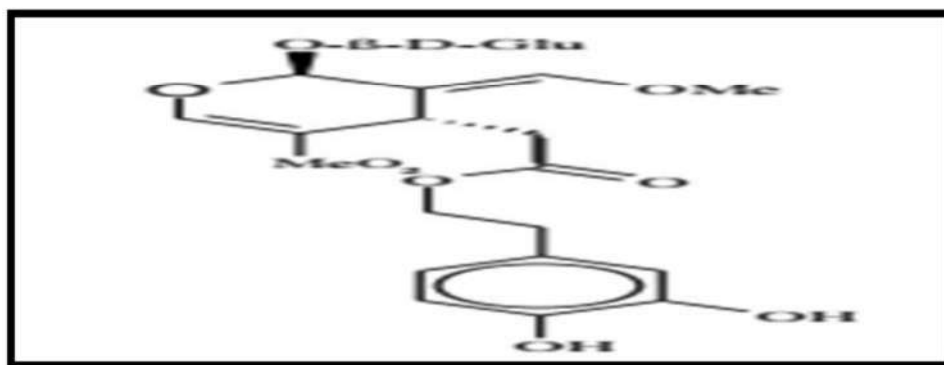


Figure 13: Structures de l'oleuropéine (Briante et al., 2004).

II.3.5. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka, d'où la coumarine, fut isolée pour la première fois en 1820 (Murray, 1978), c'est une substance naturelle aromatique, la coumarine (Figure 14) est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé.

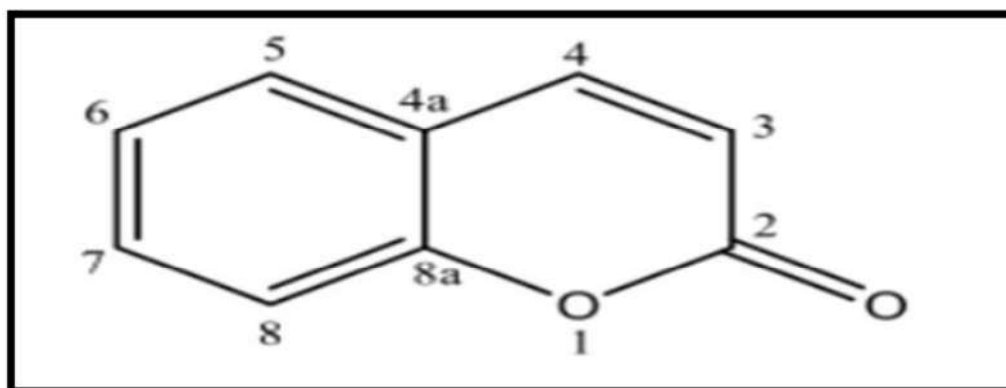


Figure 14: Squelette de base des coumarines.

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration mais aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance des plantes. (Hofmann, 2003).

Le rôle des coumarines dans les plantes est encore obscur, bien que leur distribution semble être en corrélation avec la capacité de protéger contre la maladie ou l'infection, (Feuer, 1979).

II.3.5.1.coumarines simples

Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7 (Figure 15). Quelques exemples de ce type de composés sont reportés dans le Tableau n° 3. (Gerhard, 1988)

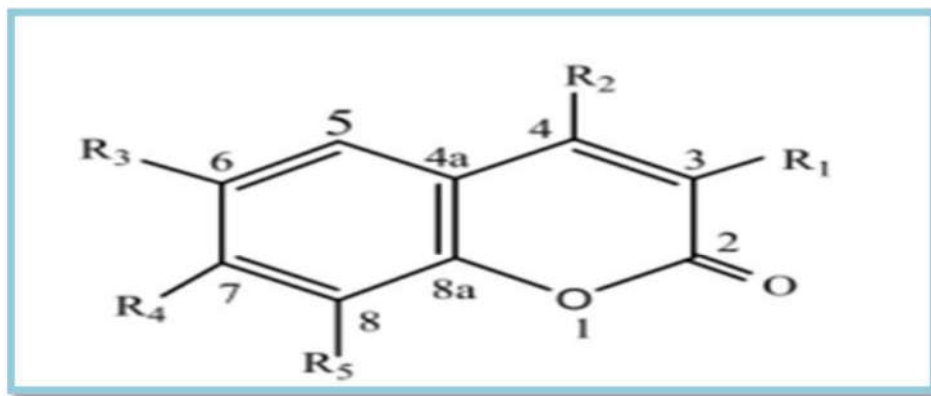


Figure 15: Structure de coumarines simples.

Tableau 3: Quelques exemples de ce type de composés coumarines simples.

Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Coumarine (1)	H	H	H	H	H
Herniarine (2)	H	H	H	OCH ₃	H
4-Méthoxy coumarine (3)	H	OCH ₃	H	H	H
Ombelliférone (4)	H	H	H	OH	H
4-Hydroxy coumarine (5)	H	OH	H	H	H
3-Hydroxy coumarine (6)	OH	H	H	H	H
Esculétol (7)	H	H	OH	OH	H
Scopolétol (8)	H	H	OCH ₃	OH	H
Shikimine (9)	H	H	H	O-Glu	H

II.3.5.2. Coumarines prénylées

Elles renferment des groupements prényles avec ou sans d'autres groupements. Comme la rutacultine (10), l'osthol (11) et la subérosine (12). (Figure 16).

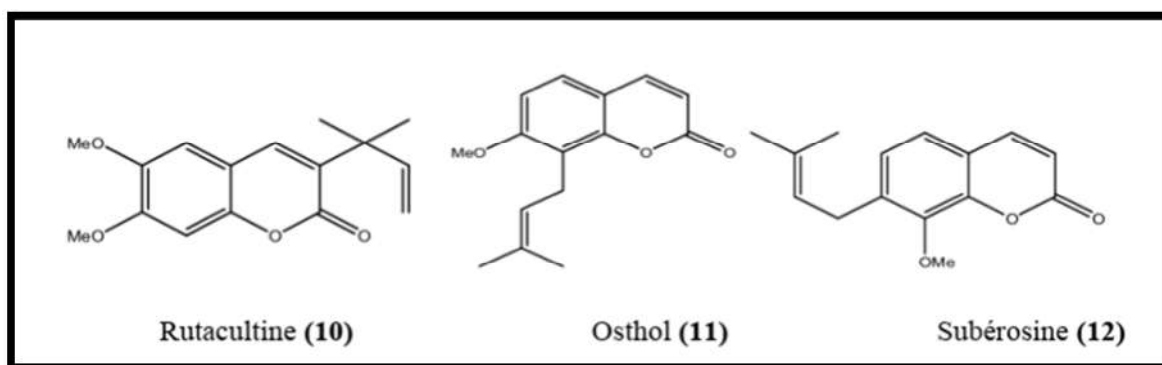


Figure 16: Structures de quelques coumarines prénylées.

II.3.5.3. Les furocoumarines :

Les furocoumarines renferment des types linéaires ou angulaires avec des substituants sur le noyau benzénique ou le noyau pyrone.

Les furocoumarines, parfois appelées furanocoumarines sont une classe de composés organiques produite par différentes plantes.

La structure chimique de furanocoumarines est constituée d'un cycle furane fusionné avec la coumarine.

L'association peut se faire soit dans le prolongement de la coumarine (forme linéaire), comme le psoralène et l'impérorine ; soit sur le côté (forme angulaire) comme l'angélicine (14) et la pimpinelline (15), le cycle furanique peut être oxydé pour donner des dihydrofuranocoumarines angulaires comme lacolumbianétine (16). (Figure n°17).

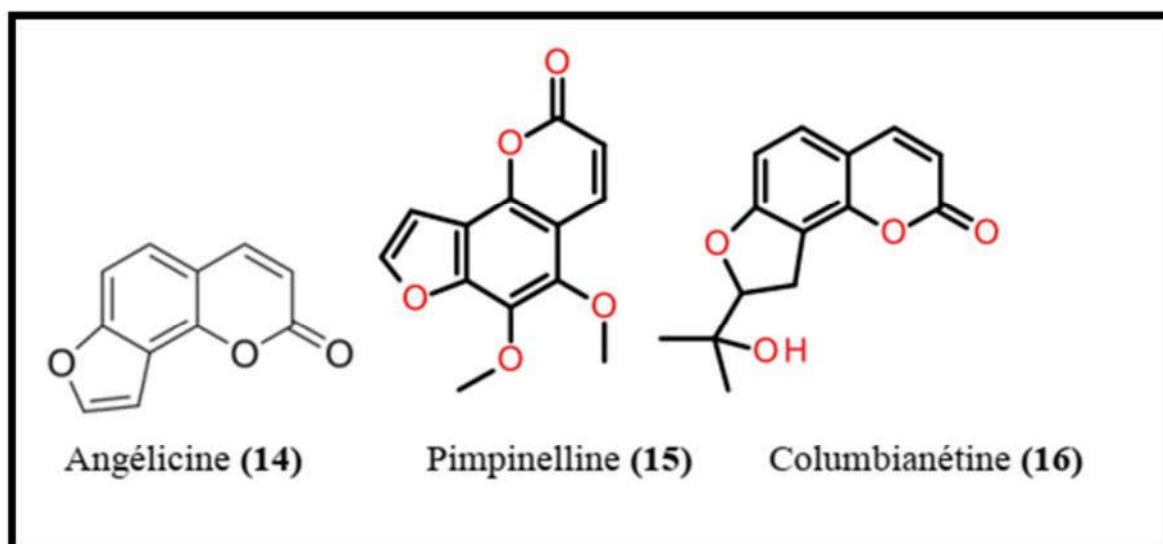


Figure 17: Structures de quelques furocoumarines linéaires et angulaires.

II.3.5.4. Les Pyranocoumarines

Les pyranocoumarines sont de type linéaire ou angulaire avec des substituants sur le cycle comme dans la xanthylétine (18), la séséline (19), la mesuangine (20) et le calophyllolide (21). (Figure 18).

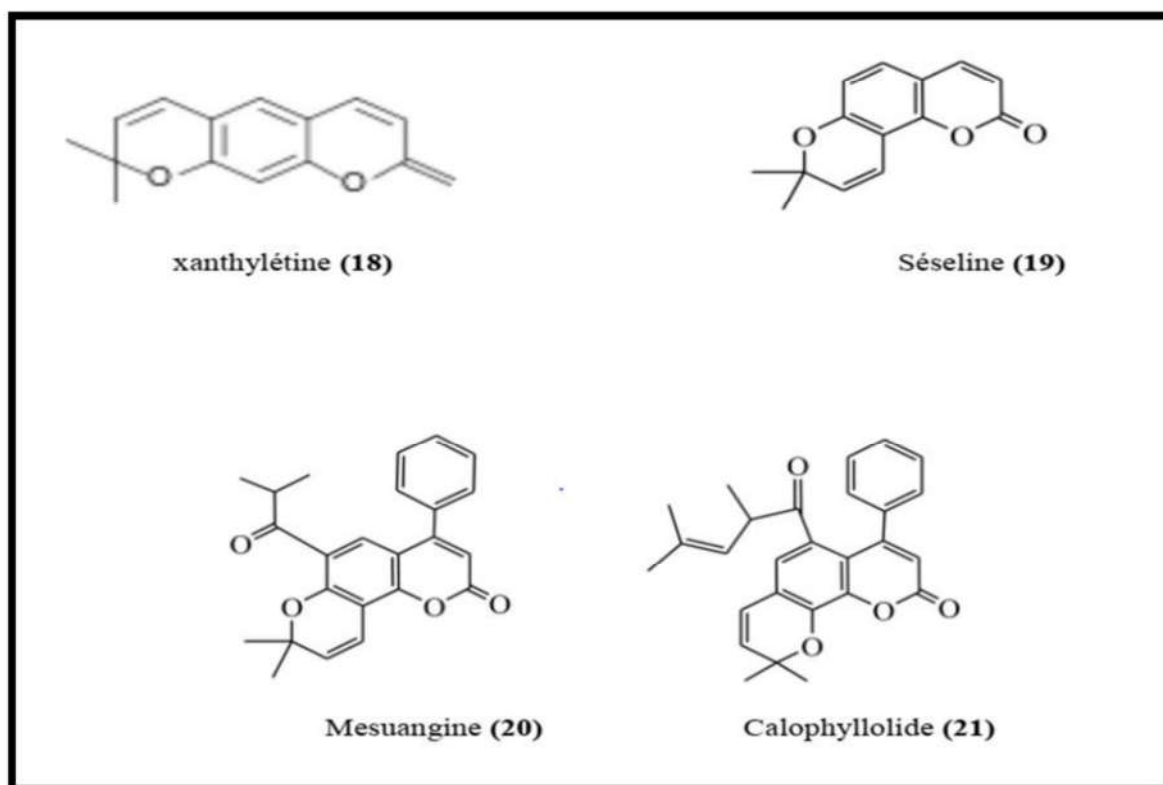


Figure 18: Quelques exemples de pyranocoumarines.

II.3.5.5. Dicoumarines (coumarines dimériques)

Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples comme la daphnorétine(22) et l'edgeworthine (23). (Figure 19).

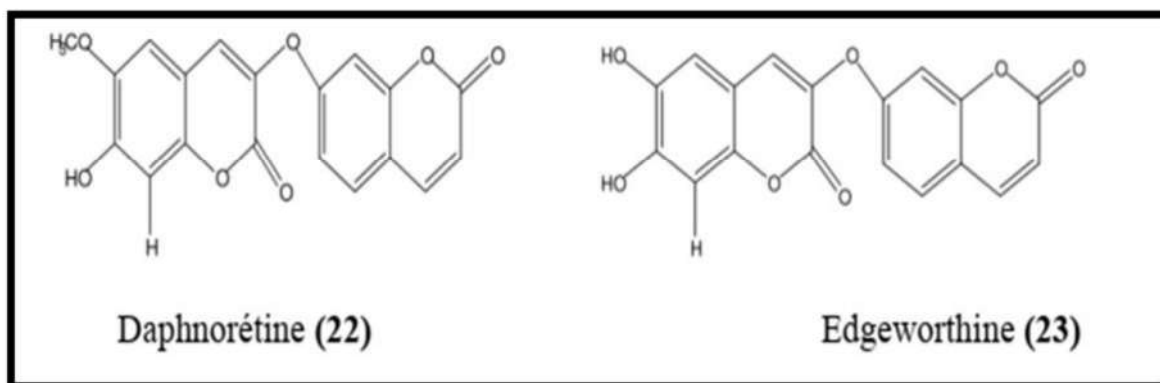


Figure 19: Exemple de dicoumarines.

II.3.5.6. Tricoumarines (coumarines trimériques)

Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques comme la triumbéllatine (24). (Figure 20).

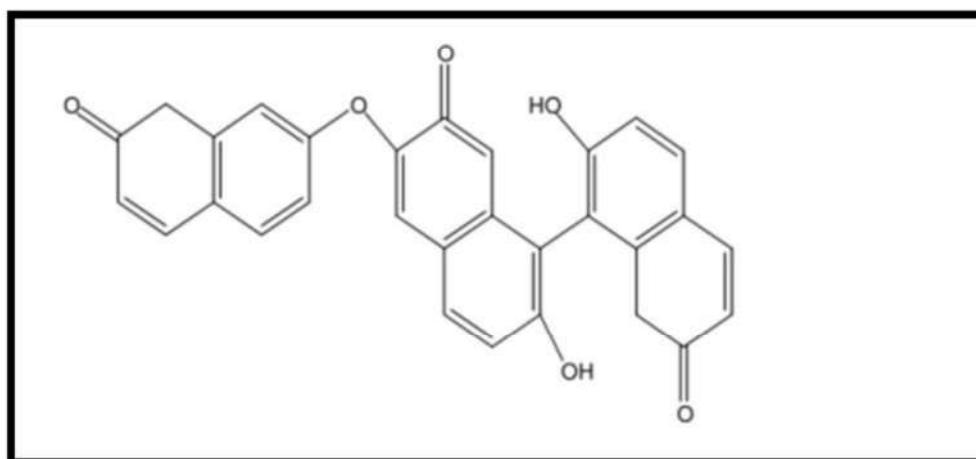


Figure 20: Triumbéllatine.

II.3.6. Les lignanes

Le terme Lignane a été inventé par Haworth en 1936 pour décrire un groupe de dimères de phénylpropanoïdes (Figure 21). Les lignanes sont des composés naturels

dimères dont lesquelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phényl propane (liaison 8-8').

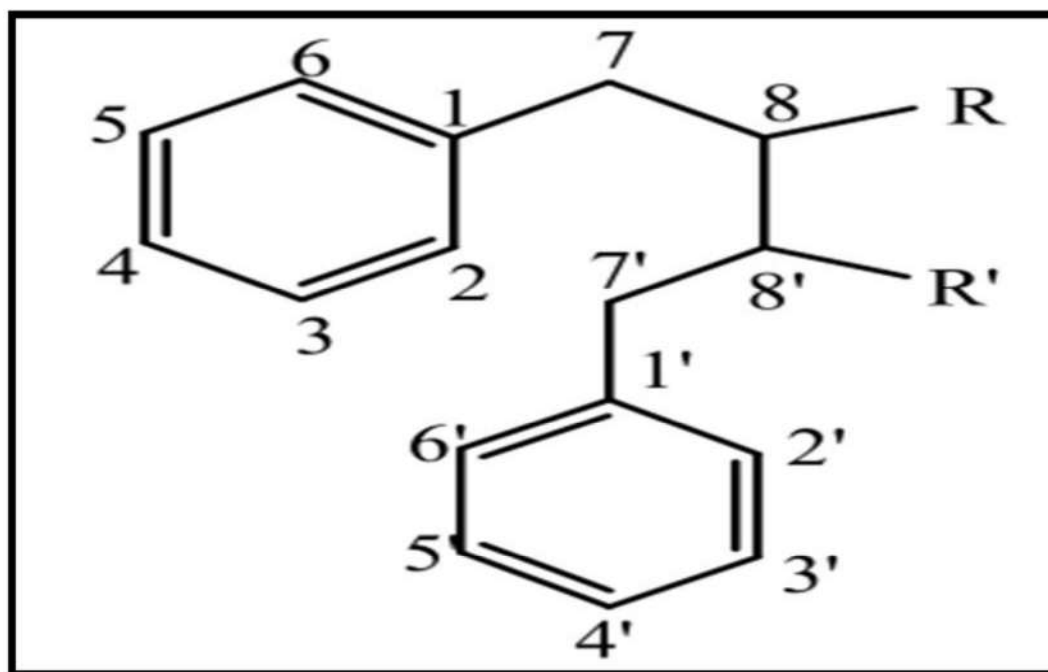


Figure 21: Squelette de base des Lignane.

Les lignanes sont des produits du métabolisme secondaire produit par plusieurs plantes pour servir de molécules de défense contre les prédateurs.

II.4. Localisation des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont omniprésents dans les végétaux, mais leur répartition au niveau tissulaire, cellulaire et subcellulaire n'est pas uniforme. Les composés phénoliques solubles sont présents dans les vacuoles tandis que celles insolubles se trouvent au niveau des parois cellulaires. Ces dernières sont plus ou moins riches en polyphénols selon la localisation de la cellule : les parties charnues du fruit sont pauvres (les polyphénols sont alors principalement contenus dans la vacuole), contrairement aux cellules dont la paroi a atteint le stade supérieur de rigidité (cellules de la peau et des pépins, épicarpe des grains de blé) (Knežević S.V. et al, 2012 ; Macheix et al, 1990).

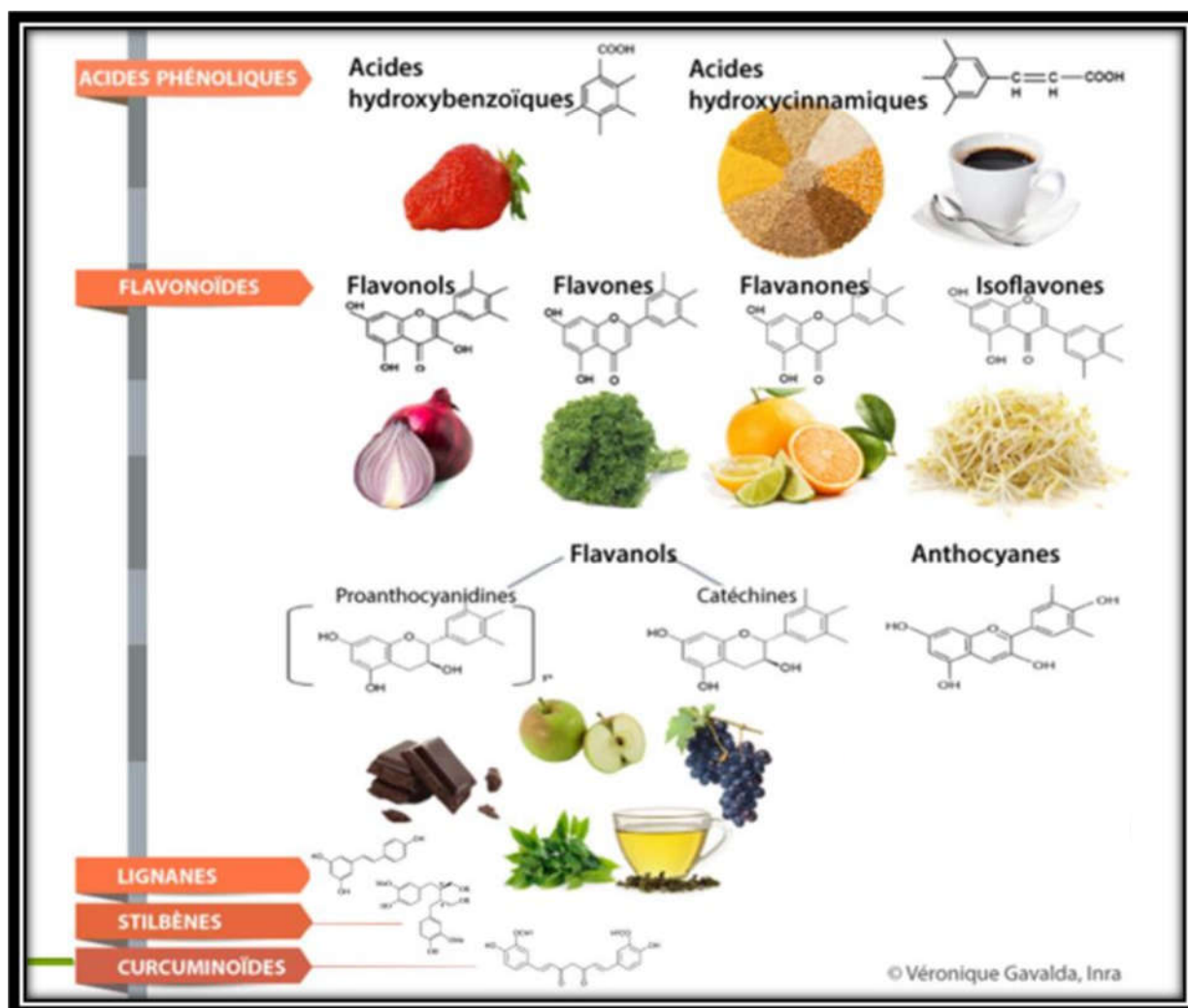


Figure 22: Localisation des composés phénoliques (Claudine Manach, INRA)

II.5. Rôles et propriétés des composés phénoliques

II.5.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration. De plus, ils interviennent dans d'autres processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification. On sait que les polyphénols agissent sur les auxines et les enzymes responsables de leur destruction catabolique, en particulier l'AIA (Acide B-indoyl acétique) oxydase, enzyme ayant un rôle dans la dégradation de l'auxine (Merghem R., 2009).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes... (Moheb et *al.*, 2011).

Les flavonoïdes sont reconnus par les pollinisateurs, par exemple les insectes, les oiseaux et les animaux, ainsi, l'une des propriétés majeures de ces composés est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction.

On peut noter que certains flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Havsteen , 2002).

II.5.2 Dans l'aliment

Dans les aliments, les composés phénoliques peuvent contribuer à l'amertume (principalement les flavanones), l'astringence, la couleur, la flaveur, l'odeur et la stabilité de l'oxydation de l'aliment (Shahidi et Naczk , 2004).

II.5.3 Chez l'homme

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit l'incidence de nombreuses pathologies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les diabètes (Hanhineva, 2010).

Cela peut être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies.

II.6. Effets biologiques des poly phénols

Les polyphénols sont en effet :

- Capables d'abaisser la pression artérielle chez le rat, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires (Martin et Andrantsitohaina , 2002).
- Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des anti- agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antitumoraux (Hanhineva, 2010).
- Ils ont été décrits comme neuroprotecteurs, antiviral, chimio préventive et plus de preuves indiquent que les polyphénols ont une influence sur le métabolisme lipidique et glucidique (Hanhineva, 2010).

II.7. Activités antioxydants des polyphénols

La capacité antioxydante est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols (Navarro et *al.*, 2008).

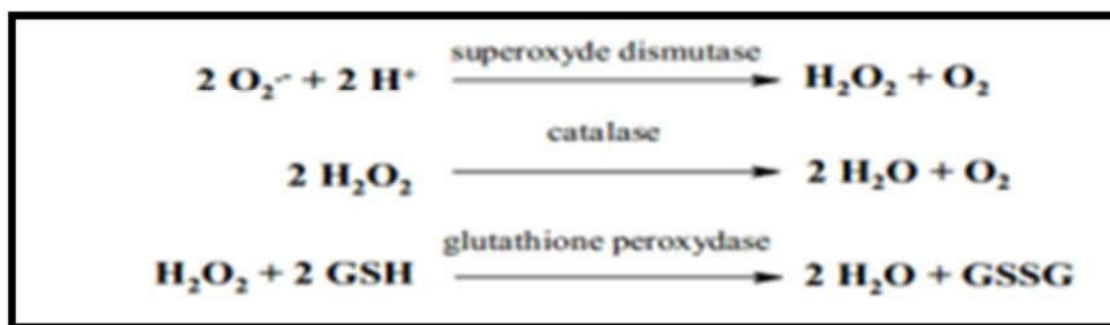
L'action antioxydante d'un composé phénolique peut être issue d'une combinaison d'évènements chimiques, dont l'inhibition enzymatique, la chélation de métaux ou encore la donation d'hydrogène et l'oxydation en un radical stable (Parr et Bolwell 2000).

Des récentes études ont montré l'effet bénéfique d'un apport de 200 mg d'extrait de thé vert, soit 100 mg de polyphénols, retarde efficacement le stress oxydant ainsi que augmente la lipolyse (Kao et *al.*, 2002).

II.7.1. Les antioxydants enzymatiques

Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de glutathion peroxydase (Lehucher-Michel, 2001).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



II.7.2. Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les composés phénoliques, ...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Kohen et Nyska, 2002)

II.7.3. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Lisu., et al., 2003).

Partie Expérimentale





Chapitre III

Matériels et Méthodes

I. Echantillonnage et préparation du Matériels végétales

Le matériel biologique végétale a été récolté à partir des oasis situées à (Zakour , Ganteur), Wilaya de Timimoune pendant du mois de Janvier, 2022 .Nous avons séparé les parties de la plante (les feuille, les tiges, les fleurs) au laboratoire de sciences de la Nature et de la vie , faculté des Sciences et de la technologie, Université d'Adrar, puis séchées à la température ambiante pendant sept jours avant d'être réduite en poudre à l'aide d'un broyeur à lame. La poudre est conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés pour des analyses ultérieures.



Figure 23: Les différentes parties aériennes de *Ruta chalepensis*.

II. Produits chimique utilisés

Tableau 4: produits chimiques utilisés.

Designations	Formules chimique
Méthanol	OHCH ₃
Hexane	C ₆ H ₁₄
Soude	NaOH
Folin-Ciocalteu	
Acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅ H ₂ O
Trichlo-ride d'Aluminium	AlCl ₃

Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃
Catéchine	C ₁₅ H ₁₄ O ₆
Eau distillée	H ₂ O

III. Détermination du taux d'humidité

Principe

La méthode utilisée est connue sous le nom de "dessiccation par évaporation". Les trois échantillons (les feuilles, les tiges, les fleurs) sont séchés à l'étuve à 103±2°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Le taux d'humidité est obtenu par pesée différentielle avant et après le séchage (Bergheul, 2018)

Mode opératoire

- ❖ Après refroidissement dans un dessiccateur durant 20 à 30 min, les vases de tare sont pesés avec leurs couvercles (P1)
- ❖ Dans chaque vase de tare, 2 g de trois échantillons de *Ruta chalepensis* (les feuilles, les tiges, les fleurs) sont introduits, l'ensemble est pesé avec les couvercles fermés (P2)
- ❖ Après un étuvage de 3 h à 103° C avec couvercles inclinés puis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15 min, les vases de tare sont pesés, ensuite ils sont remis à couvercles inclinés dans l'étuve durant 1 h à 103° C
- ❖ Après refroidissement comme précédemment, les vases de tare sont pesés (P3)
- ❖ La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2 mg, si non l'opération est renouvelée

▪ Expression des résultats

Le taux d'humidité dans les trois échantillons à analyser, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Taux d'humidité(\%)} = [(P2-P3) / (P2-P1)] \times 100$$

P1: masse en g de vase de tare

P2: masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P3: masse en g de la prise d'essai après séchage.

A parti du taux d'humidité nous avons pu déterminer le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante:

$$\text{Taux de matière séché\%} = 100 - \text{Taux d'humidité\%}$$

IV. Extraction des polyphénols

L'extraction par macération est l'une des méthodes d'extraction les plus utilisées pour l'obtention des métabolites secondaires des plantes médicinales. Pour cela, nous avons opté pour le protocole décrit par Chaabi et *al.* (2008) en y apportant quelques modifications : 100 g de poudre végétale est mise à macérer individuellement dans 500 ml de mélanges hydro-alcooliques méthanol/eau (70/30:V/V) pendant 24 heures sous agitation à température ambiante.

Les extraits hydro-alcooliques sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre et les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et une troisième extraction avec un même volume des mélanges hydro-alcooliques, d'une durée respective de 24 heures. Les filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota-vapeur à 40°C permettant ainsi d'obtenir des résidus secs qui sont considérés comme étant les extraits bruts (figure 24) (Hadjadj , 2017).

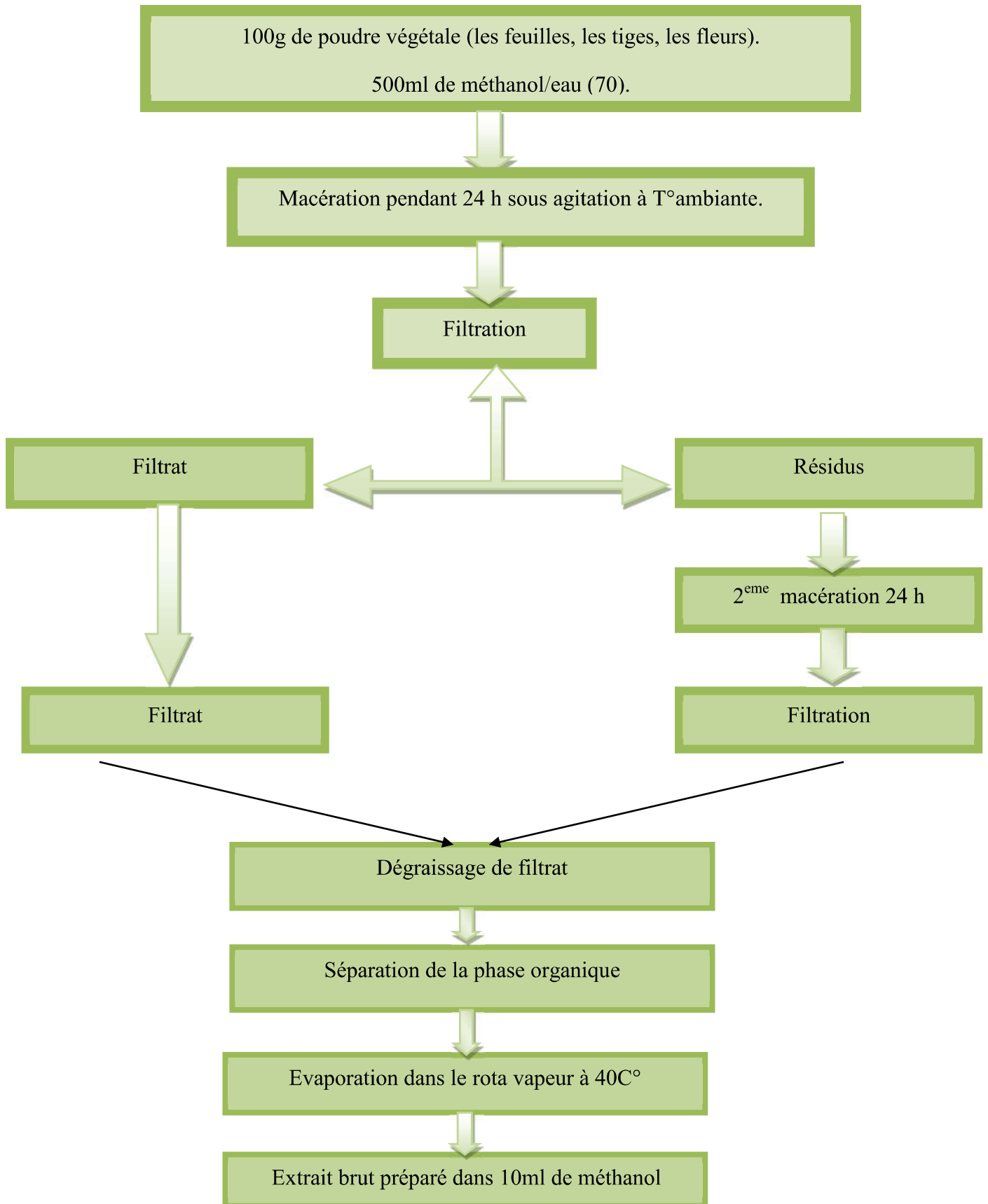


Figure 24: Procédure d'extraction des composés phénoliques du *Ruta chalepensis*.



Figure 25 : Macération poly phénoliques.



Figure 26 : Filtration de l'extrait après macération

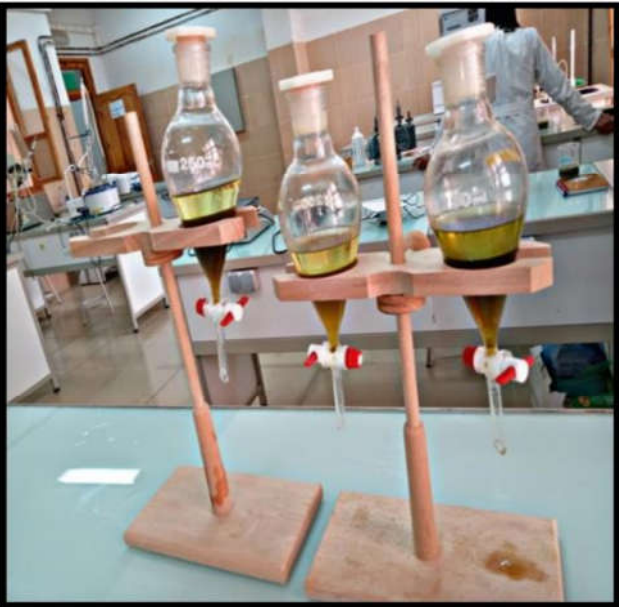


Figure 27 : Dégraissage du filtrat par le n-hexane.



Figure 28: Evaporation par rota vapeur.



Figure 29: Extraits bruts (les feuilles, les tiges, les fleurs).

V. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols est réalisé à l'aide du réactif de « Folin - Ciocalteu » Waterhouse (1999) en présence de Na_2CO_3 .

Il s'agit d'une solution d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) dont la réduction par l'action des polyphénols donne un mélange de complexes de sels de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleue. Cette solution absorbe à une longueur d'onde de 725 nm.

Ainsi, le dosage des PPT se fait par comparaison de l'absorbance de la solution étudiée par rapport à celle obtenue par un étalon qui est l'acide gallique.

D'abord une courbe d'étalonnage a été réalisée. Pour cela 500 mg d'acide gallique sont dilués dans 10 ml d'éthanol puis le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Des solutions diluées de concentrations connues en acide gallique ont été préparées (2.5, 2, 1.5, 1, 0.5).

Le dosage des PPT de chacun des échantillons se fait par comparaison de leur absorbance à celle de la courbe d'étalonnage.

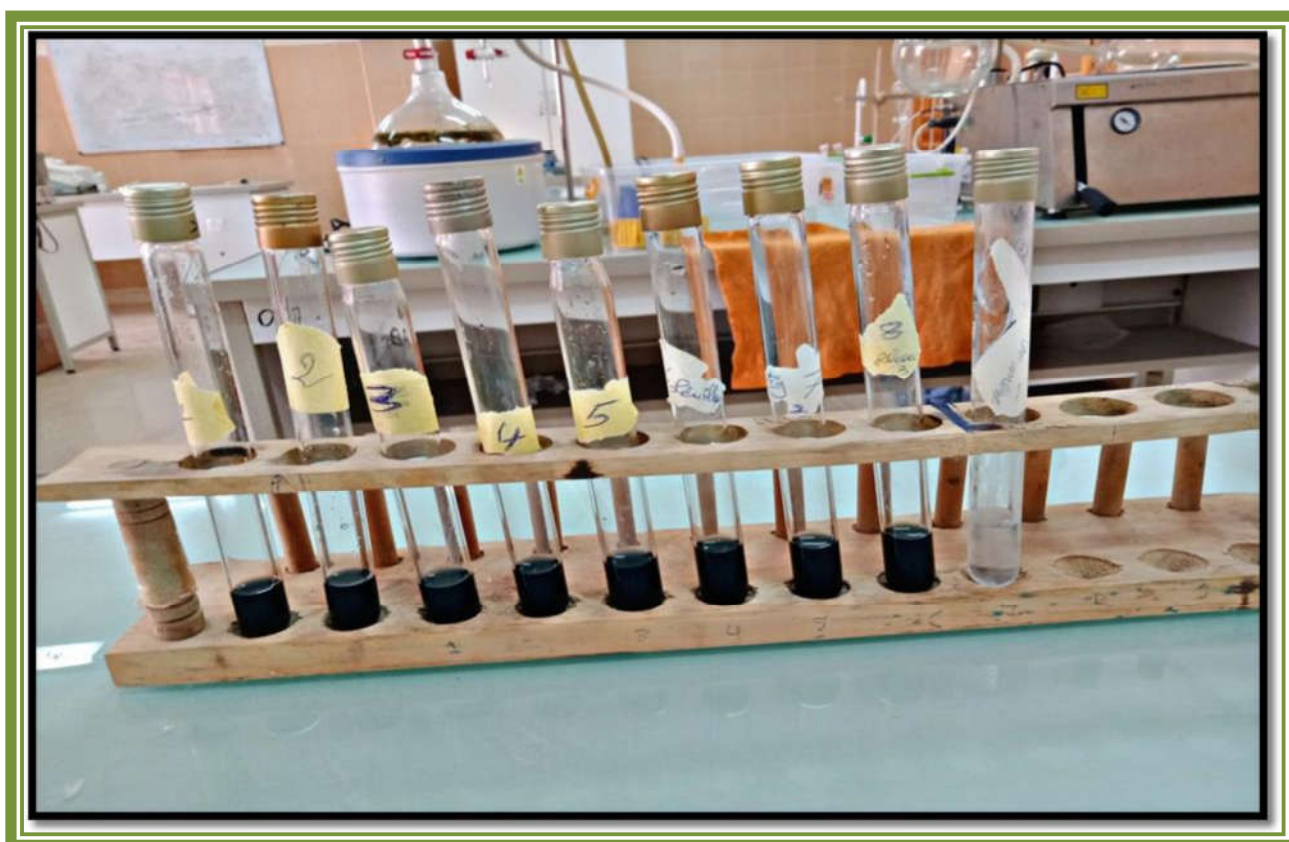


Figure 30 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

VI. Dosage des flavonoïdes

Pour le dosage des flavonoïdes totaux, la méthode utilisée est celle développée par Zhishen (1999) puis par Chen (2011) avec quelques modifications.

D'abord, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine. Des solutions de l'ordre de **0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1mg/ml** ont été préparées. Les réactifs utilisés sont : le nitrite de sodium (NaNO_2 , 5%), le chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10%) et l'hydroxyde de sodium (NaOH , 1N).

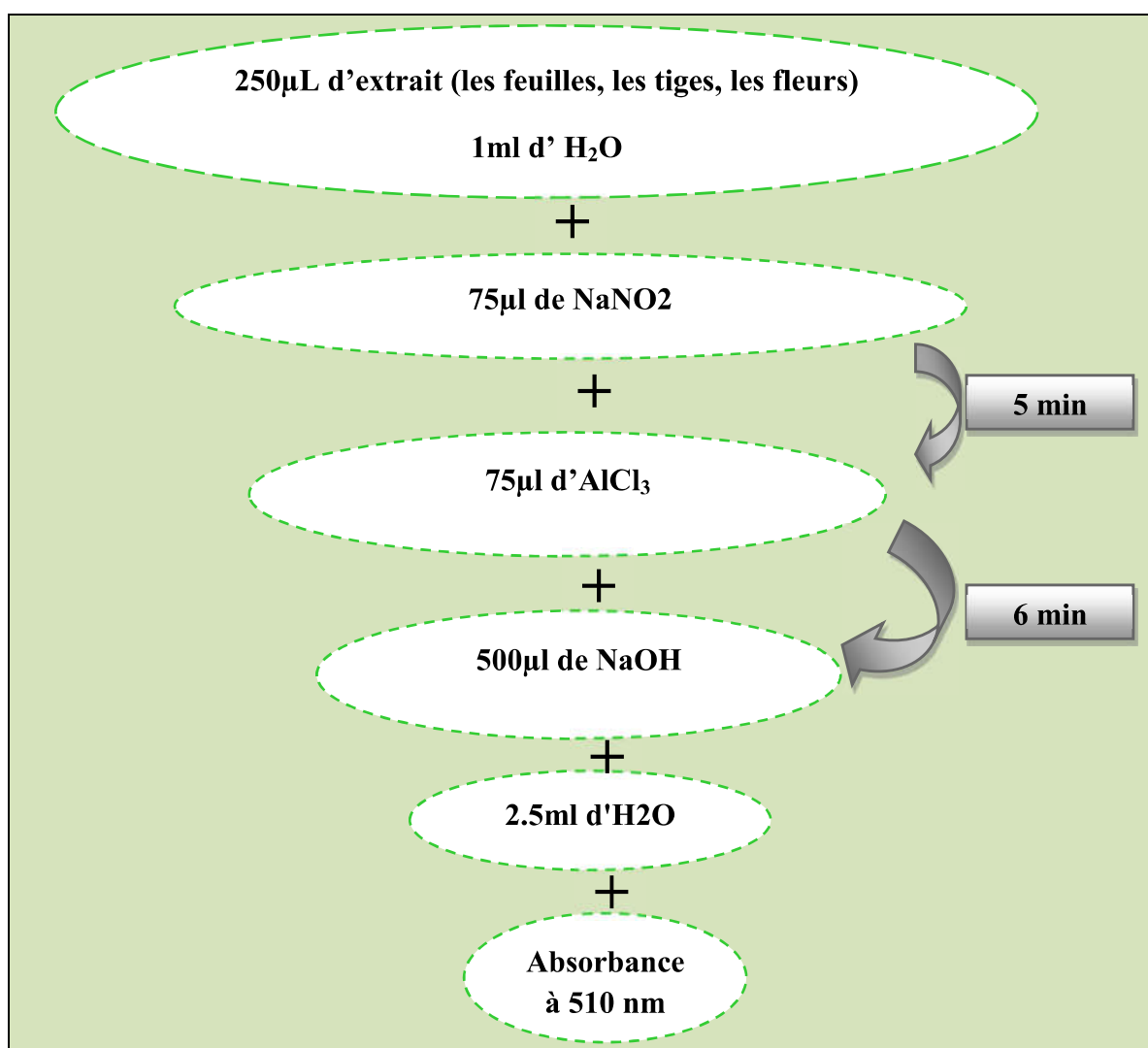


Figure 30: Diagramme de dosage des flavonoïdes totaux.



Figure 31: Gamme de l'étalonnage de la catéchine.



Figure 32: Les extraits méthanoïques de flavonoïdes à dose.

VII. Détermination de l'activité anti radicalaire des extraits par la méthode (DPPH).

L'activité antioxydant d'extraits bruts de *Ruta chalepensis* vis à vis le radical DPPH a été évaluée par le spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par sous passage de la couleur violette à la couleur jaune mesure à 517nm.

Cette décoloration représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir anti radicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (Molyneux, 2004).

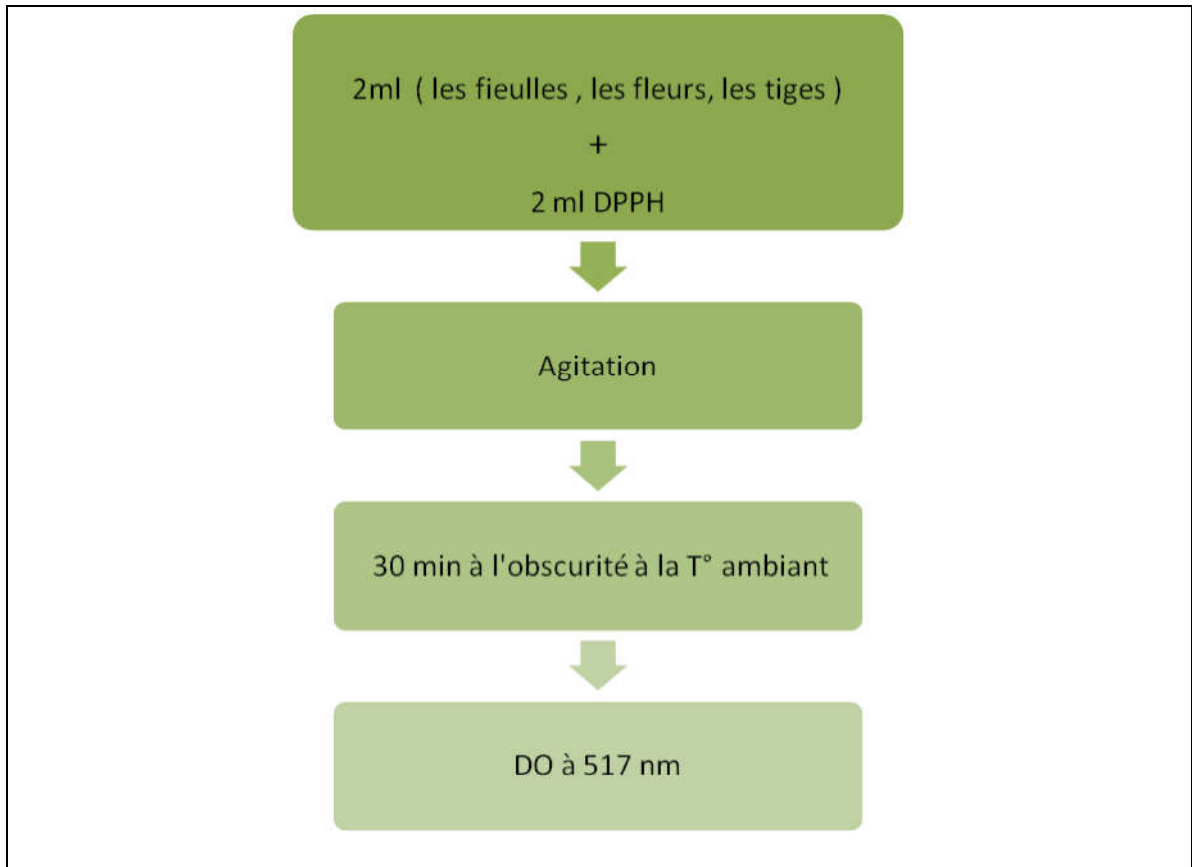


Figure 33: Diagramme de dosage d'activité anti radicalaire DPPH



Chapitre IV

Résultats et Discussion

I. Taux d'humidité:

Nos résultats ont révélé un taux moyen d'humidité de feuille 15%, tige et fleur 10%. A partir de cette valeur on peut déterminer le taux des matières sèches (MS) qui a été estimée à (feuille 85%, tige 90%, fleur 90%).

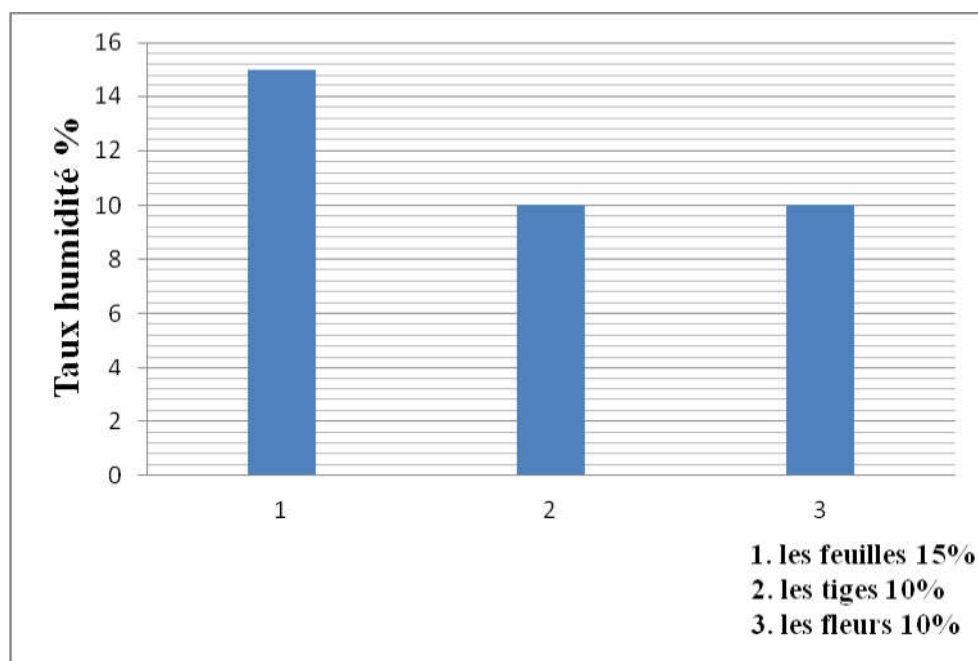


Figure 34: Taux d'humidité pour différentes parties de la plante.

L'apparition de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser.

Tableau 5: Teneur en eau (%) de la plante *Ruta chalepensis* de différentes régions (Attou, 2011) (Bergheul, 2018)

	Adrar	Mostaganem	Ain Timouchent
Feuilles	15	78.08	77.18
Fleurs	10	-	78.15
Tiges	10	29	62.14

Selon le tableau au-dessus nous constatons que :

L'espèce *Ruta chalepensis* de la région d'Adrar est plus pauvre en eau contrairement aux mêmes espèces de *Ruta* des régions du nord et cela est dû aux conditions climatiques qui caractérisent la zone saharienne.

II. Rendement d'extraction:

Nous pouvons déterminer le rendement d'extraction (R) de différentes parties de la plante : feuilles ; tiges et fleurs) selon l'équation suivante

$$R(\%) = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

P₁ : Poids du ballon après évaporation

P₂ : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide)

P₃ : Poids de la poudre végétale de départ

R : Rendement

Tableau 6: Rendement d'extraction des parties aériennes de la plante

Partie aérienne	% en extrait brut
Les feuilles	30
Les tiges	16
Les fleurs	40

Les résultats obtenus montrent que le rendement en extrait brut de la partie aérienne de notre plante est de : les feuilles 30%, les tiges 16%, les fleurs 40%.

Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus par (Attou ,2011) qui sont de l'ordre de 13,52 % pour les feuilles 6,05% pour les tiges 23.76% pour les fleurs.

Selon une étude mener par (Mansour el-said *et al.* , 1990) sur la même espèce, le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière est de 3.75% cette rendement est nettement inférieure à celui obtenu dans notre étude. Cela est peut-être dû aux conditions climatiques et à l'utilisation de soxhlet où la température élevée pendant plusieurs heures qui peut dégrader certains constituants sensibles (tels les polyphénols...) Andersen et Markham, 2006), ce qui n'est pas le cas dans notre étude où l'extraction est réalisée à froid par simple macération.

III. Teneur de polyphénols

La concentration de polyphénols de l'extrait a été déterminée par l'équation linéaire suivant : $Abs = 0.4c + 1.1$. Après le calcul, la teneur en polyphénols trouve et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG /g MS).

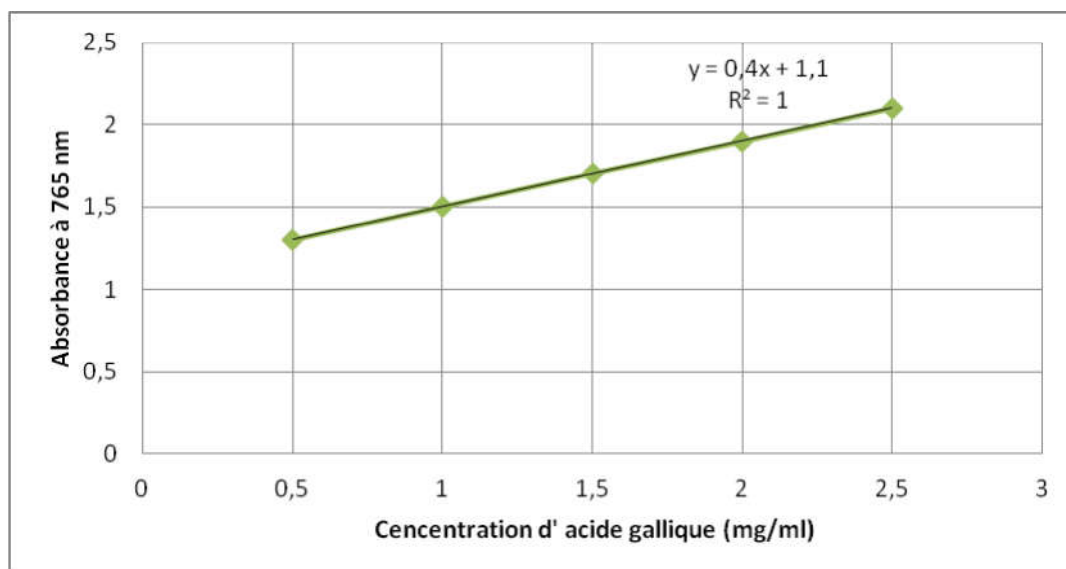


Figure 35: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Notre plante *Ruta chalepensis* contient une teneur en polyphénol estimé à 11,76 mg EAG/g pour les feuilles, 11,1 mg EAG/g pour les tiges et les fleurs.

Ces résultats sont plus proches à ceux obtenus par Ghazghazi et al. (2013) ont montré que la teneur des polyphénols dans les feuilles est de 12,70mg EAG/g de matière sèche.

Bettaieb et al. (2012) ont montré que la teneur en phénols totaux de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* obtenu à partir d'un extrait méthanoïque est de l'ordre de 13,7 mg EAG/g de matière sèche,

Le profil polyphenolique peut varier sous l'influence de divers facteurs tels que la variété, le climat, le degré de maturation, la température et le technique et le solvant d'extraction....etc Manallah, (2012).

Les polyphénols sont connus par leur pouvoir antioxydant et leurs vertus biologiques. Ils contribuent à la prévention des maladies dégénératives et

cardiovasculaires ; ils participent à la régénération de certains antioxydant tel que la vitamine E. Amellal,(2008).

IV. Teneur des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes de chaque fraction a été alors déterminée grâce à l'équation linéaire suivant : $Abs = 4.695c + 0.1841$. Après les calculs, la teneur de flavonoïde trouvé est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière séché (mg CE/gMS)

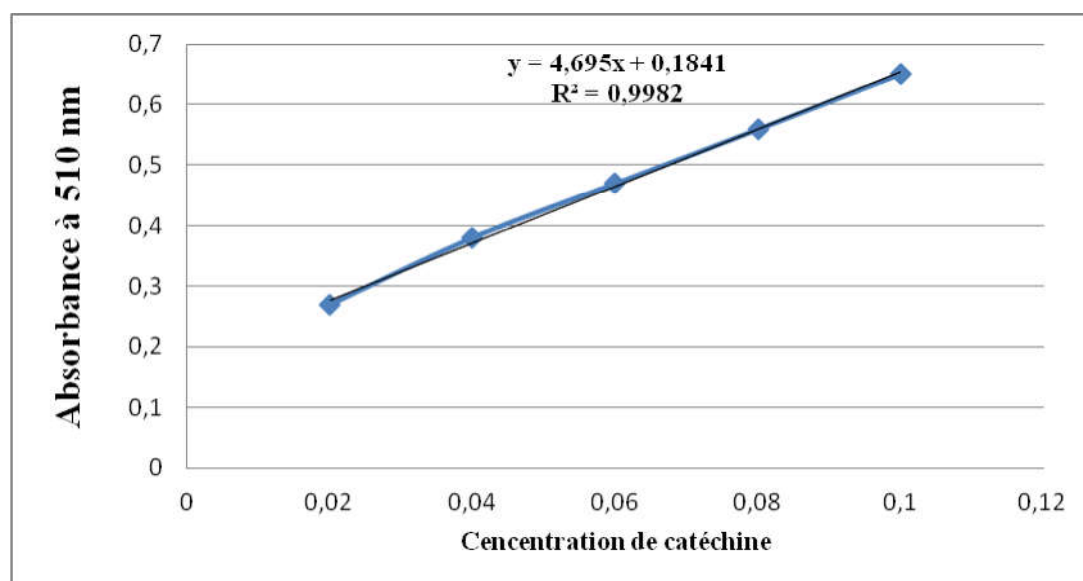


Figure 36: Courbe d'étalonnage de catéchine

La *Ruta chalepensis* contient une teneur en flavonoïde estimé à 11,74 mg EAG/g d'extrait dans les feuilles, 11, 09 mg EAG/g d'extrait des tiges des fleurs.

Ces résultats sont confirmés par (Khlifi D., et al. 2013), qui ont démontré que le teneur en flavonoïdes de la partie aérienne de l'extrait méthanolique de l'ordre de $12,78 \pm 0,08$ mg EAG/g de MS, tandis que les plus faibles teneurs sont remarquées dans l'extrait méthanolique des feuilles de Bergheul (2018) ($0,04 \pm 0,03$) mg EAG/g MS.

V. Activité anti radicalaire DPPH

Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée.

Les profils d'activités anti-radicalaires des extraits bruts de différentes parties de la plante sont représentés dans les figures suivantes :

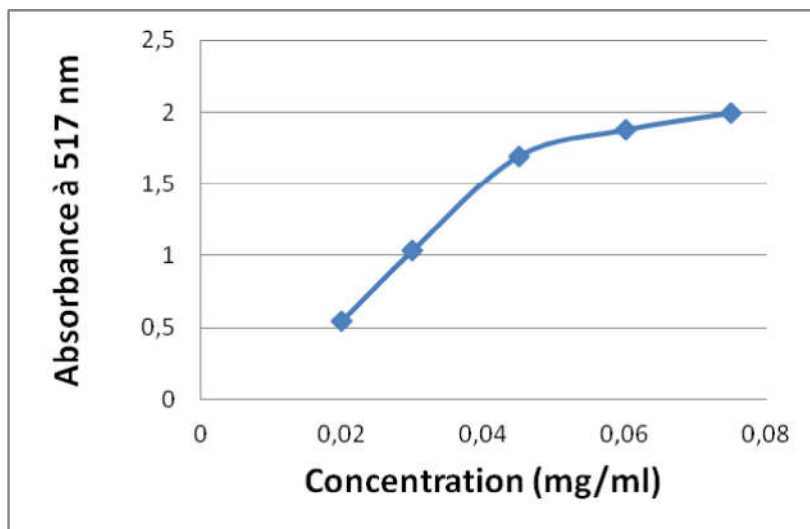


Figure37 : Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des feuilles

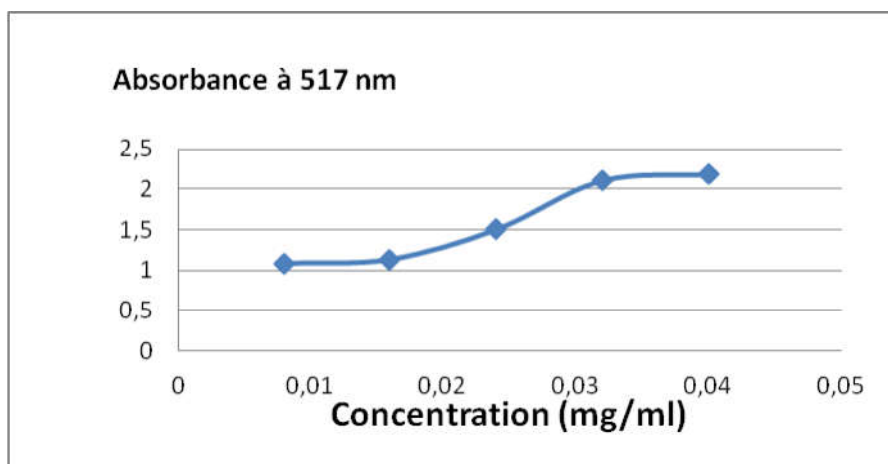


Figure 38: Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des tiges

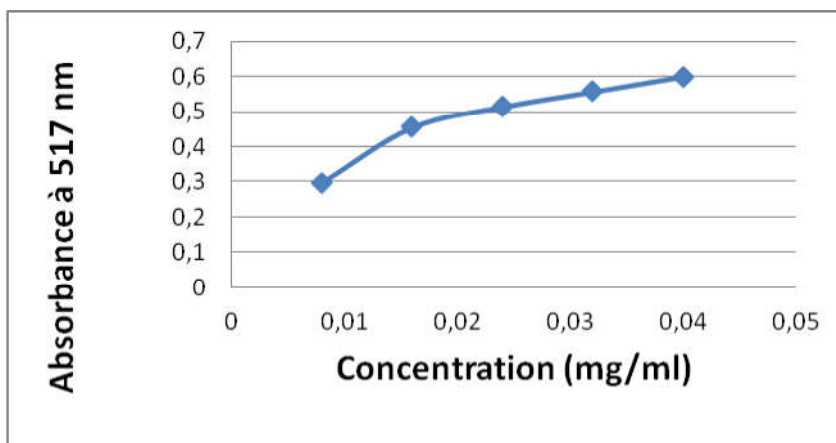


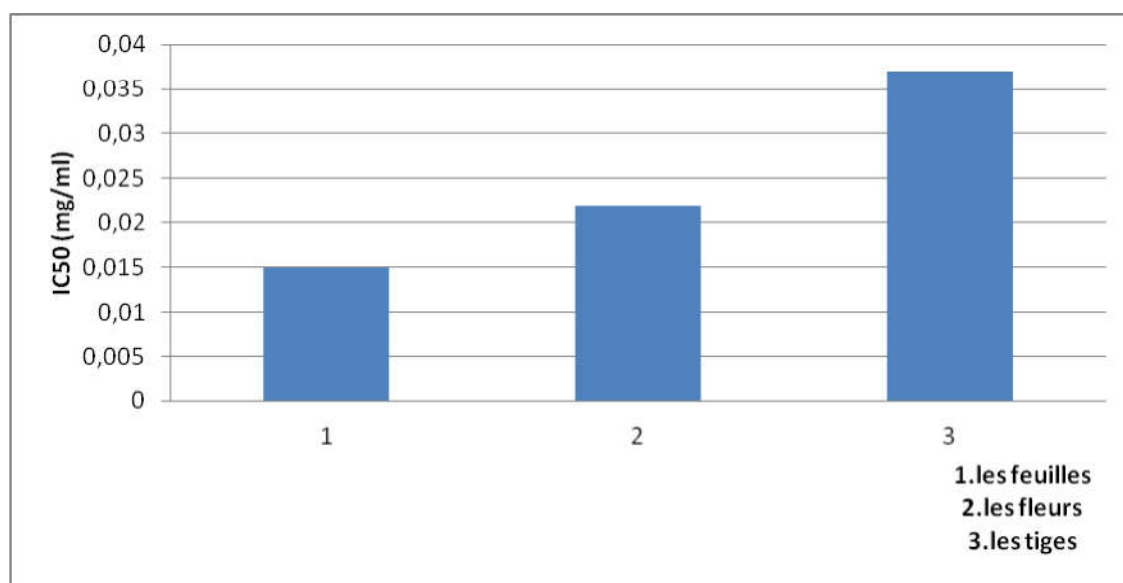
Figure39 : Absorbance du radical libre DPPH des extraits bruts des fleurs

Le pouvoir antioxydant de la partie aérienne (feuilles ; tiges et fleurs) est déterminé à partir d'IC50 : C'est la concentration du substrat qui cause une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH.

La valeur IC50 est inversement proportionnelle à la concentration de l'extrait teste. Selon Kadri et al. (2011), une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydant plus élevée.

Tableau 7: Valeurs des IC50

Extraits	Les feuilles	Les fleurs	Les tiges
IC50 (mg/ml)	0.015	0.022	0.037

**Figure 40**: Les valeurs IC50 des parties aériennes de *Ruta chalepensis*

notre résultats montrent que les feuilles de *R.chalepensis* possède un pouvoir antioxydant très important (0,015 mg/ml), par rapport aux fleurs (0,022mg/ml) et aux tiges (0,037mg/ml).

Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus par Ghazghazi et *al.*, (2013) sur l'activité antioxydant de *Ruta chalepensis* qui révélé un pouvoir antioxydant remarquable dont IC50 des feuilles sont estimée à 35 µg/ml.

De même, les études d'Ouerghemm et *al.*, (2016) réalisées sur l'extrait méthanolique des fleurs de *R. chalepensis* de deux provenances différentes (sauvages et cultivées), ont révélé que le potentiel antioxydant est assez important dans la partie aérienne avec un IC50 de l'ordre de 23,73µg/ml pour les fleurs sauvages et 28,48µg/ml pour les fleurs cultivées.

Selon une étude de Bergheul (2018) sur l'activité antioxydant de la même espèce montre que l'IC50 des feuilles est de 0.0042mg/ml et IC50 des tiges est de 0.0104mg/ml.

Conclusion Générale

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Le dépistage d'agents bioactifs à partir de ces plantes est l'un des axes le plus intensif dans la recherche des produits naturels

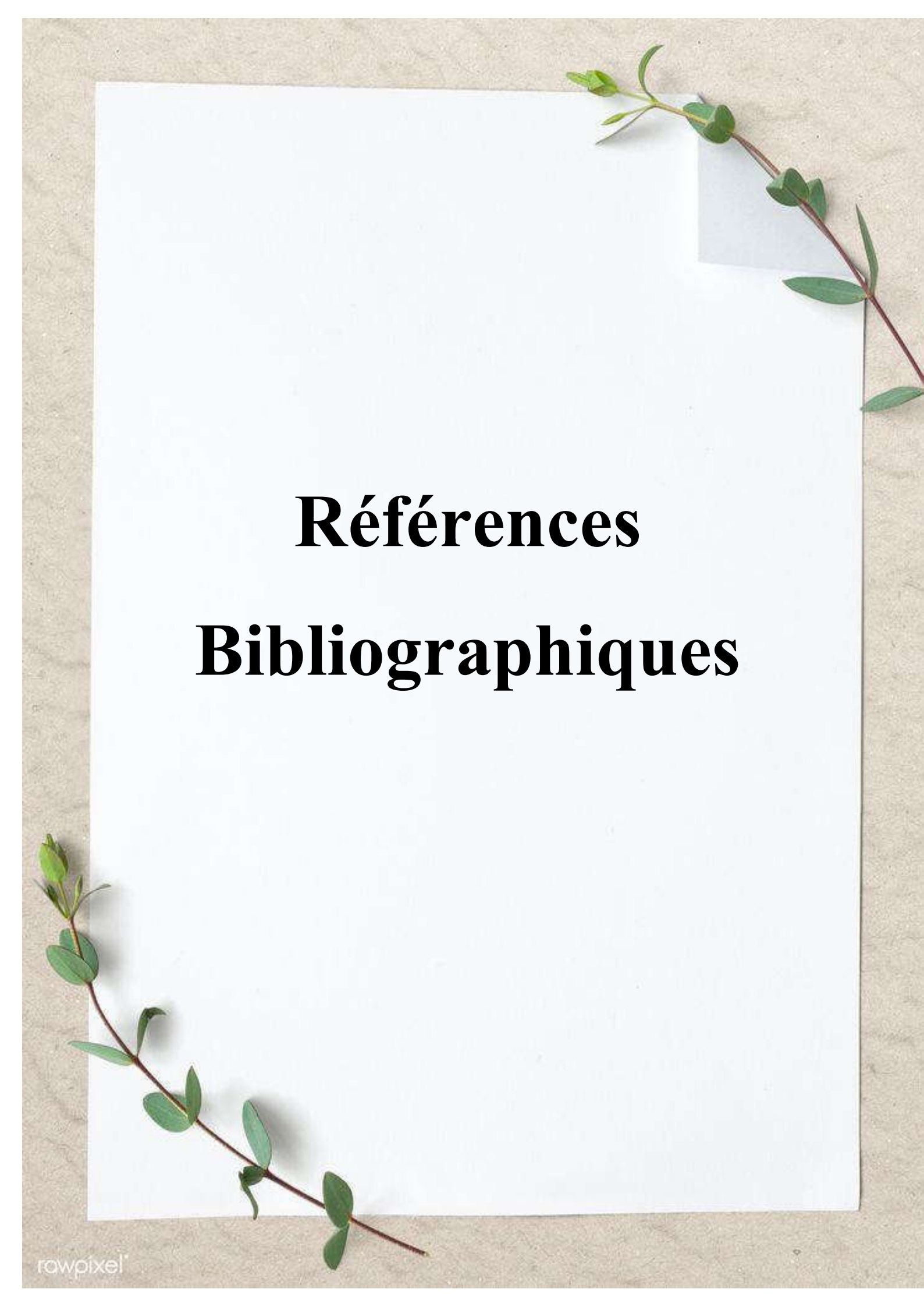
Aujourd'hui, la plante médicinale *Ruta chalepensis*, espèce spontanée, très abondante en Algérie et parmi les plantes largement utilisées en médecine traditionnelle.

L'évaluation du contenu des polyphénols totaux des flavonoïdes de trois parties de la plante *Ruta chalepensis* en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode d' $AlCl_3$ respectivement, révèle la présence des quantités moyennement importantes des polyphénols et des flavonoïdes.

Le potentiel anti radicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH montrent que l'extrait méthanoïque des feuilles possède une bonne activité anti radicalaire contrairement aux extraits des fleurs et des tiges

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense et aussi varié selon leur existence (région) dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Faire une étude biochimique sur la plant de *Ruta chalepensis*
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments anti radicalaires à base de cette plante, doués des activités biologiques.



Références

Bibliographiques

Référence

- **Abderrazak Allaeddine .,Guendouz Abdelali (2019)** Inventaire sur les plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies respiratoires dans la région de Mila Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila
- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008)**. Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 189-199.
- **Altioek E., Baycin D., Bayraktar O., Ulku S. (2008)**. Isolation of polyphénols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorbtion on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*342–348.
- **Andersen YM and Markham KR. Flavonoids , (2006)**: chemistry, biochemistry, and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, FL, p. 553-616.
- **Artajo L.S., Romero M.P., Morello J.R., Motilva M.J. (2006)**. Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds: evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 6079–6088.
- **Atto 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 en vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie .Option : « Produits naturels : Activités biologiques et synthèses». *Universite ABOU BEKR BELKAID (TLEMCEN)*.
- **Awika J. M., Rooney L. W. et Waniska R. D. (2004)**. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 293-301.
- **Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000)**. Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1746-1751.
- **Baba iassa F, (1999)** : Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA, 243 – 244
- **Bendif H. (2017)**. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajugaiva(L.)*

Schreb., *Teucriumpolium*L., *Thymus munbyanus*subsp. *Coloratus* (Boiss. &Reut.)
Greuter & Burdet et *Rosmarinuseriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de Doctorat.
L'Ecole normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie, (p24-28).

- **Bergheul S , (2018) :** Etude de l'activité antimicrobienne et bioinsecticide de *Ruta chalepensis* L. , *R . angustifolia* Pers .et *haplophyllum* , *tuberculatum* (Forsk.) A.Juss .vis _à_ vis de quelques biogrisseurs de la culture de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Université Mostaganem.
- **Bettaieb A., Moujahed, N., Ksouri, R., (2012).** Secondary compounds characterization in some autochthonous species from a North-Eastern region of Tunisia. Options méditerranéennes: New approaches for grassland research in a context of climate and socio-economic changes Series A. Séminaires Méditerranéens n° 102, Samsun (Turkey).
- **Bilderback L., 2007:** Spices and Herbs; Ed: ALPHA BOOKS, 177-178.
- **Boizot, N ., Charpentier, J.P.(2006) :** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82
- **Bonnier G.,(1999) :** La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3, 205 – 206
- **Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier e.;(2001):** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science, p: 839-851. 16. BRUNETON J. ; 1987 ; Elément de phytochim
- **Briante R., Patumib M., Febbraro F. et Nuccia R. (2004).** Production of highly purified hydroxytyrosol from *Olea europaea* leaf extract biotransformed by hyperthermophilic β -glucosidase. *Journal of Biotechnology*. 67-77.
- **Brunton J. ;(1999) :** Flavonoïdes, Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes médicinales; Ed 3: TEC et DOC (PARIS) ; p: 310-340

- **Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. et Vlietink A. (1999).** Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematic and Ecology*. 445- 459.
- **Buccelato F. (1981).** Orange blossom. *Perfumer and Flavorist*. 31-34.
- **Chaabi M., Beghidja N., Benayache S., Lobstein A.,(2008) -** Activity-guided isolation of antioxidant principles from *Limoniastrum feei* (Girard) Blatt. *Z. Naturfo. C.*, 801- 807.
- **Chien M., Morozova I., Shi S. and Huitao Sh. (2004).**The genomic sequence of the accidental pathogen *legionellapneumophila*. Vol (305).
- **Chiou A., Kalogeropolous N., Salta F., Efstathiou P., Andri Kopolous N.K. (2009).** Panfrying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: oxidative stability and fate of microconstituents. *Food Science and Technology*. 1090–1097
- **Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Ed :Springer*. 75-82.
- **Chowdhury P., Viraraghavan T. (2009).** Sonochemical degradation of chlorinated organic compounds, phenolic compounds and organic dyes – a review. *Science of the Total Environment*. 2474–2492
- **Claudine Manach** human Nutrition unit , UMR 1019 Clermont_feerand, Les poluphénol et leurs propriétés. INRA,
- **Clifford M.N. (1999).** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea *Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida.* : 393-397.
- **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 564-582.
- **Crozier A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants” Diet and Health”*. *Ed. Goldberg*. pp: 27- 48.
- **Crozier A., Clifford M.N. et Ashihara H.,** Plant Secondary Metabolites; Ed: Oxford BLACKWELL; p: 1–24, 102-105 *is Thrombolysis*, 35–44.
- **Crozier,A.,Del Rio, D.,Clifford, M.N.(2010).**Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular Aspects of Medicine*, : 446–46

- **D'archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità.* :348-361.
- **Debbache, N., Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem*, 112: 303–309
- **Derbel S., Ghedira K. (2005).** Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie.* 28-34
- **.Dewick P.M.:(2002);** Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach; Ed 2: JOHN WILEY & SONS; p: 291- 398
- **DOERPER S.; 2008 ;** Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens L.* par une approche de génie métabolique ; Thèse de Nancy – Université, INRA ; p : 12 - 34.
- **Duke A.J., Duke P.A.K. et Duce J.L. ;(2008) ;** DUKE’S HANDBOOK of MedicinalPlants of the Bible, Ed: CRC PRESS; p: 394 – 397.

- **Eriksson L., Johansson E. et coll. (2000).** Design of Experiments -Principles andApplications. *Umetrics Academy.prunastri, and Neofuscella pulla. Pharmaceutical Biology,* 247-252
- **Fakhfakh N., Zouari, S., Zouari ,M., Loussayef, C., Zouari, N. (2012).** Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis L.* (Rutacea).*J. Medicinal Plants Research*, 6(2012)593.
- **Feuer, G.,(1979),** “The metabolism and biological actions of coumarins”, *Prog. Med. Chem*, 10,85-158
- **Fleming T (2000):** PDR for Herbal Medicines; Ed: MEDICAL ECONOMICS COMPANY.
- **Foster S. et Tyler V.E.,(1999):** A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies; Ed 4: TYLER’S HONEST HERBAL, HAWORTH HERBAL PRESS, 325-326.
- **Gerhard, L.,(1988),** Métabolisme des végétaux; physiologie et biochimie, 5eme Edition,Allemand.

- **Ghazghazia,H., Chediab, A., Abderrazakb, M., Brahima, H.,(2013).** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim.-Vol 25, N° 73– juillet 2013 (4ème Journée GEDIV).*
- **Goupy P., Dufour C., Loonis M., Dangles O. (2003).** Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 615–622.
- **Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of medicine.* Vol. 27: 1-93.

- **Hadjadj Soumia , (2017).** Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien ; université kasdi_ merbah . Ourgla
- **Hakkinen S.H., Karenlampi S.O., Heinonen I.M., Mykkanen H.M., Torronen A.R.. (1999).** Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempfer in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*227- 2279.
- **Hanhineva K , Törrönen R, Bondia-Pons I, Pekkinen J, Kolehmainen M, Mykkänen H and Poutanen H. (2010).** Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.;* 1365-1402
- **Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research.* 07- 13.
- **Havsteen B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoïds. *Pharmacology and Therapeutics* 67-202
- **Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992).** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2379- 2383.
- **Hertog M.G.L., Hollman P.C.H, Van de Putte B. (1993).** Content potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1242-1246.

- **Hofmann, L., (2003)**, Thèse de doctorat: Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, strasbourg, France.
- **Kadri, A., Zarai, A., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak million., Gdoura, R., 2011.** Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare L.* essential oil from Tunisia. *Journal of Biotechnology*, 10, 3908-391
- **Kao H.Y., Hiipakko r.A., Liao S., 2002:** Modulation of of endocrine system and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology*, 3980-3987.
- **Kartal N., Sokmen M., Tepe B.D., Polissiou M., Sokmen A., (2007) :** Investigation of the antioxydant properties of *Ferula orientals L.* using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry* 584-589
- **Khan M.K., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier A.S., Dangles O., Chemat F. (2010).**Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis L.*) peel. *Food Chemistry*. 851–858.*Sonochemistry*. S157 S161
- **Khelifi, D., Sghaier, R.M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., Bouajila, J., (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisiaherba-alba*, *Ruta chalpensis L.* and *Peganum harmala L.* *Food and Chemical .Toxicology*, 202–208
- **Kimura T., Sakamoyo T., Leveque J.M., Sohmiya H., Fujita M., Ikeda S., Ando T.(1996).** Standardization of ultrasonic power for sonochemical reaction. *Ultrasonics*
- **Kohen R. et Nyska A.,(2002):** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol.* 620-650.
- **Lalas S., Aggelousis G., Gortzi O., Dourtoglou V., Tsaknis J. (2007).** Protection of traditional Greek foods using a plant extract. *Italian Journal of Food Science*. 279
- **Lauk L.,(2000) :** Antimycotic activity
- **Lehout Roumeissa ., Laib Maya (2015)** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante

médicinale : *Artemisia herba alba* Asso Université des Frères Mentouri
Constantine

- **Lazic Z.R. (2004).** Design of Experiments in Chemical Engineering. *Wiley*. 620
- **Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O., (2001) :** Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med* 1076-108
- **Le moine E., 2001 :** Les plantes aromatiques et médicinales; Ed : MOLIERE (Paris),
- **Linden et Lorient D. (1994).** Pigments et arômes .In : Biochimie agro industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. *Ed : Masson*. 338-340.
- **Lisu. W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Ming-Jiuan, W., 2003:** Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 60-66.
- **Long H.S., Tilney P.M. et Van Wyk B.-E. (2010).** The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany*. 167-420
- **Mansour El Said S., (1990);** Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine; *Journal of Ethnopharmacology* 28; Ed: ELSEVIER SCIENTIFIC; p: 305-3012
- **Macheix JJ., Fleuriet A., Chritian JA. (2006).** Composés phénoliques dans la plante- structure, biosynthèse, répartition et rôles In « les polyphénols en agroalimentaire ». Édition Lavoisier : 1-27.
- **Martin S et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* 304-315.
- **Martínez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. 147-161
- **Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert (1999).** Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 4009-40017
- **Mejri J., Abderrabba M. et Mejri M., (2010):** Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L.: Influence of drying, hydrodistillation duration and plant parts; *Industrial Crops and Products* 32, Ed: ELSEVIER, 671- 673.

- **Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 107-133.
- **Merghache S., Hamza M. et Tabti B., (2009) :** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie ; Afrique Science 67- 81.
- **Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. et Estepa A. (2005).** The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research.*: 12 9-136.
- **Milesi S. Massot B., Gontier E., Bourgaud F. et Guckert A., (2001):** *Ruta graveolens L.*: a promising species for the production of furanocoumarins; Plant Science 189- 199.
- **Mioulane P., (2004) :** Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins ; Larousse ; Ed : PROTEA, 7-50
- **Moheb A., Ibrahim R.K., Roy R., Sarhan F. (2011).** Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry* 2294- 2307
- **Molyneux P., 2004:** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Song Klama Karin J.Sci. Technol.* 211-219.
- **Murray, R. D. H., (1978),** naturally occurring plants coumarines, *Progress in the chemistry of organic natural products*, 200, Ed. Wien-Springer-Verlag, New York.
- **Navarro J-M., Flores P., Garrido C. et Martinez V.,(2008) :** Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry.*66-73.
- **O'Brien T.P., McCully M.E. (1981).** The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods. *Terमारcarphi Pty Ltd., Melbourne, Australia.*, 357 pp.
- **Oliva A., Kumudini M., David E., Amber L., (2003);** Natural fungicides from *Ruta graveolens L.* leaves, including an quinolone alkaloid; Journal of Agricultural and Food Chemistry p: 890- 896: Spices and Herbs; Ed: ALPHA BOOKS, 177-178

- **Ouerghemmi, I., Rebey, I. B., Rahali, F/Z., Bourgou, S., Pistelli, L., Ksouri, R., Marzouk, B., Tounsi, M.S.(2016).** Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of food and drug analysis* xx

- **Papoti V.T., Tsimidou M.Z. (2009).** Looking through the qualities of a fluorimetric assay for the total phenol content estimation in virgin olive oil, olive fruit or leaf polar extract. *Food Chemistry*. 246–252.
- **Parr A-J. et Bolwell P-G., (2000):** Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 985-1012.
- **Paris M., Hurabeillen M. (1981).** Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. *Ed: Masson*. 210-21
- **Pereira Nunes X, Souza Silva F., Alneida J.R.G. et al., (2012).** Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère edition Venketeshwer Rao. Pp 1-20

- **Queiroz-Monici K-S., Costa G-E-A., Da-Silva N., Reis S-M-P-M. et De-Oliveira A-C., 2005 :** Bifidogenic effect of dietary fiber and resistant starch from leguminous on the intestinal microbiota of rats. *Nutrition*, 602-609.
- **Recueil des normes françaises : Analyse Sensorielle. (2002).** *Editions AFNOR, Paris*.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod. Paris*. 173–201
- **Schauenberg p. et Paris F., (1977) :** Guide des plantes médicinales ; Ed3 : DELECHAUX & NIESTLE, 106-119
- **Sitec-lab seppal,** Indice de Folin/Polyphenols totaux, Montauban, France.
- **Spiro M., Selwood R.M. (1984).** The kinetics and mechanism of caffeine infusion from coffee: the effect of particle size. *Journal of Science Food and Agriculture*. 915–924

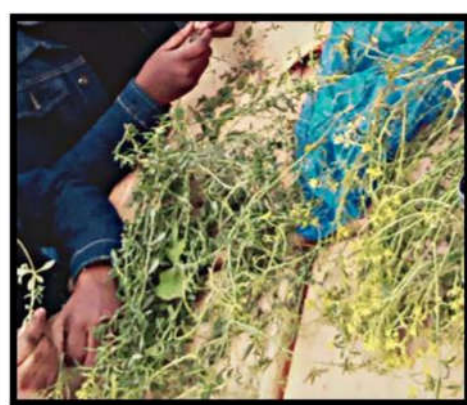
- **SVOBODA K. et SVOBODA T.; (2000);** Secretary structures of aromatic and medicinal plants;Ed: MICROSCOPIX PUBLICATIONS; p: 7-12
- **Takhtajan A., (2009):** Flowering Plants; Ed 2: SPRINGER; p: - 41, 375.
- **Tsimidou M., Papadopolus G., Boskou D. (1992).** Phenolic compounds and stability of virgin olive oil part 1. *Food Chemistry*
- **Ulubelen A. et Terem B., (1988):** Alkaloids and Coumarins from roots of *Ruta chalepensis*; *Pargamon Journals, Phytochemistry* 650-65
- **Uthurry C.A., Hevia D., Gomez-Cordoves C. (2011) Role of honey polyphenols in health.** *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* : 141-159.
- **Vitrac X., Bornet A., Vanderlinede R. (2005).** Determination of stilbenes (Delta-viniferin, trans-astirgin, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol in niferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 5664-5669.
- **Waterman P. G.,(1975):** Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and Systematic Significance, *Biochemical Systematics and Ecology* 3; Ed: PERGAMON PRESS, 149-180
- **Wiert C., 2006:** Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: WORLD SCIENTIFIC, 401 - 416.
- **Wichlt M. et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. *Edition: 2ème TEC & DOC.* 200–201.
- **Yoon J. (2007).** Application of experimental design and optimization to PFC model calibration in uniaxial compression simulations. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences.* 871-889.
- **Zeghad N.(2009)** Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . *Thèse de magister.* Université Mentouri Constantine

Annexe

Annexe :



Ruta chalepensis (Zakour. Timimoun)



Triage de matière végétale



Ultraconic



Spectrophotométrie