

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi  
Faculté des Sciences Exacte et sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences de la nature et de la vie

N° D'ordre :.....

Série :.....

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
Magister**

Option : Biochimie des produits naturels d'origine végétale

**Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.: Point de vue phytochimique et pharmacologique**

Présentée Par : Chaibeddra Zineb

Soutenu le : 22 /07/2014

Devant le jury composé de :

Président :	Pr. Senoussi M.Mourad	professeur à l'univ. Oum El Bouaghi
Rapporteur :	Pr. Zellagui Amar	professeur à l'univ. Oum El Bouaghi
Examineurs :	Pr. Akkal Salah	professeur à l'univ. Constantine 1
	Dr. Djeddi Samah	MCA à l'univ. Annaba

Année Universitaire : 2013-2014

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi  
Faculté des Sciences Exacte et sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences de la nature et de la vie

N° D'ordre :.....

Série :.....

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
Magister**

Option : Biochimie des produits naturels d'origine végétale

**Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.: Point de vue phytochimique et pharmacologique**

**Présentée Par : Chaibeddra Zineb**

**Soutenu le : 22 /07/2014**

**Devant le jury composé de :**

<b>Président :</b>	<b>Pr. Senoussi M.Mourad</b>	<b>professeur à l'univ. Oum El Bouaghi</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>Pr. Zellagui Amar</b>	<b>professeur à l'univ. Oum El Bouaghi</b>
<b>Examineurs :</b>	<b>Pr. Akkal Salah</b>	<b>professeur à l'univ. Constantine 1</b>
	<b>Dr. Djeddi Samah</b>	<b>MCA à l'univ. Annaba</b>

*Année Universitaire : 2013-2014*

## Dédicace

Merci Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Rahim ».

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère Mériama

A mon père Abed Rahim, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Que Dieu les garde et les protège

A mes adorables sœurs Aicha et Somaya

A mes frères Mohamed, Isaac, Jacob et Loukmane

A mon amour, mon mari Hassen

A ma tante Saliha

A tous mes collègues de la promotion du magister

A tous ceux qui me sont chères

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

Je dédie ce travail

## REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Je tiens tout d'abord à remercier monsieur l'encadreur du mémoire, Monsieur le Professeur **Zallagui Amar**. Recevez ici mes sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous m'avez accordés tout le long de ce travail. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Mes remerciements vont aussi aux membres du jury :

Président : Pr. Senoussi M.Mourad, professeur à l'univ. Oum El Bouaghi.

Examineurs : Pr. Akkal Salah, professeur à l'univ. Constantine 1 et Dr. Djeddi Samah, MCA à l'univ. Annaba.

Ce travail a été réalisé au labo biomolécule végétale et amélioration des plantes sous la direction du professeur Senoussi M.Mourad.

Recevez mes plus vifs remerciements pour apporter la correction de ce modeste travail.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

## Sommaire

INTRODUCTION.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I. ASPECT BOTANIQUE</b>	
I. Plantes médicinales .....	3
I.1. Famille Rutacée.....	3
I.1.1. Caractères botaniques .....	3
I.1.1.1. Appareil végétatif .....	3
I.1.1.2. Particularité anatomiques.....	4
I.1.2. Plantes utilitaires des Rutaceae .....	4
I.2. Genre <i>Ruta</i> .....	4
I.2.1. Applications en phytothérapie .....	5
I.3. Espèce <i>Ruta montana</i> L.....	5
I.3.1. Description botanique .....	6
I.3.2. Habitat .....	6
I.3.3. Systématique .....	6
I.3.4. Activité pharmacologique du <i>Ruta montana</i> L.....	7
I.4. Espèce <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	8
I.4.1. Description botanique.....	8
I.4.2. Habitat.....	8
I.4.3. Systématique .....	9
I.4.4. Usages traditionnels.....	9
<b>Chapitre II. Métabolites Secondaires</b>	
II. Métabolites Secondaires.....	10
II.1. Huiles essentielles .....	10
II.1.1. Définition.....	10
II.1.2. Composition chimique .....	10
II.1.3. La biogénèse de quelques familles de produits naturels.....	11
II.1.4. Localisation et lieu de synthèse .....	13
II.1.5. Facteurs de variabilité .....	13
II.1.6. Utilisation des huiles essentielles.....	14
II.1.6.1. Utilisation pharmacologique .....	14
II.1.6.2. Rôle physiologique.....	17

II.1.7. Propriétés physiques.....	18
II.1.8. Toxicité des huiles essentielles .....	18
II.1.9. Huiles essentielles du genre <i>Ruta</i> .....	18
II.2. Coumarines .....	19
II.2.1. Généralité.....	19
II.2.2. Structure chimique, classification .....	20
II.2.3. Etude de la voie de Biosynthèse des coumarines.....	22
II.2.3.1. Biosynthèse des coumarines simples .....	22
II.2.3.2. Biosynthèse des coumarines furanocoumarines .....	24
II.2.4. Intérêt pharmacologique des coumarines .....	26
II.2.5. Coumarines isolés du genre <i>Ruta</i> .....	27
II.3. Alcaloïdes .....	28
II.3.1. Généralité .....	28
II.3.2. Composition chimique .....	29
II.3.3. Propriété physico-chimique .....	30
II.3.4. Localisation, état naturel et rôle biologique .....	31
II.3.5. Utilisation .....	31
II.3.6. Alcaloïdes isolés du genre <i>Ruta</i> .....	31

### **Chapitre III. Rappels sur les activités étudiées**

III. Rappels sur les activités étudiées .....	33
III.1. Stress oxydant.....	33
III.1.1. Définition .....	33
III.1.2. Radicaux libres .....	33
III.1.3. Principaux radicaux libres .....	33
III.1.4. Sources de production des radicaux libres .....	34
III.1.5. Antioxydants.....	35
III.1.6. Antioxydants naturels .....	35
III.1.7. Cibles des radicaux libres de l'oxygène.....	36
III.1.8. Maladies liées au stress oxydant.....	36
III.2. Activité antibactérienne .....	37
III.2.1. Définition des antibiotiques.....	37
III.2.2. Classification et mécanismes d'action .....	37

## DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

### Chapitre I : MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel végétal.....	39
I.2. Etude phytochimique.....	39
I.2.1.Extraction des principes actifs .....	39
I.2.1.1.Extraction des alcaloïdes.....	39
I.2.1.2.Extraction des coumarines .....	41
I.2.1.3.Extraction des huiles essentielles .....	43
I.2.2. Dosage des flavonoïdes .....	43
I.2.3.Dosage des composés phénoliques.....	44
I.2.4. Analyses chromatographiques .....	45
I.2.4.1.Chromatographie sur couche mince .....	45
I.2.4.2.Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse .....	46
I.3.Activité biologique .....	47
I.3.1. Activité anti-oxydante .....	47
I.3.2. Activité antibactérienne .....	48

### Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion.....	50
II.1. Rendement des extractions .....	50
II.2. Teneur en flavonoïdes .....	53
II.3. Teneur en polyphénols .....	54
II.4.Analyses chromatographiques .....	55
II.4.1. Chromatographie sur couche mince des coumarines des deux plantes.....	55
II.4.2.Résultat de la Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse des huiles essentielles .....	58
II.5. Activité anti-oxydante .....	63
II.6.Activité antibactérienne .....	70
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	72
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	74
ANNEXES.....	86

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n° 1:</b> Plantes utilitaires alimentaires et médicinales de la famille des Rutaceae.....	4
<b>Tableau n° 2 :</b> Usages traditionnels de <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	9
<b>Tableau n°3:</b> Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique.....	15
<b>Tableau n°4 :</b> les produits majoritaires des huiles essentielles de quelque plantes du genre <i>Ruta</i> .....	19
<b>Tableau n°5:</b> Les quatre principaux sous-types de coumarine. Les principales caractéristiques structurales et des exemples de chaque sous-type de coumarine.....	21
<b>Tableau n°6 :</b> Quelques exemples sur l'activité biologique des coumarines.....	26.
<b>Tableau n°7 :</b> quelques coumarines isolées du genre <i>Ruta</i> .....	28
<b>Tableau n°8 :</b> Exemples d'alcaloïdes et principaux types structuraux.....	29
<b>Tableau n° 9:</b> quelques alcaloïdes isolés du genre <i>Ruta</i> .....	32
<b>Tableau n° 10:</b> Principaux radicaux libres.....	34
<b>Tableau n° 11:</b> les études effectuées entre <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. aux différents points.....	39
<b>Tableau n°12:</b> les systèmes solvant utilisé.....	46
<b>Tableau n°13 :</b> les souches microbiennes utilisées.....	49
<b>Tableau n° 14:</b> Teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique de <i>Ruta montana</i> L.et de <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	53
<b>Tableau n° 15 :</b> Teneur en polyphénols d'extrait méthanolique de <i>Ruta montana</i> L.et de <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	54
<b>Tableau n°16 :</b> les taches coumariniques séparées de la partie aérienne des deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	55
<b>Tableau n° 17 :</b> composition des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. avant floraison...	58
<b>Tableau n°18 :</b> composition des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. pendant floraison...	60
<b>Tableau n°19:</b> Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait coumarinique de la plante de <i>Ruta montana</i> L.....	71
<b>Tableau n°20 :</b> rendement d'extrait méthanolique.....	86
<b>Tableau n°21 :</b> rendement d'extrait alcaloïdiques.....	86
<b>Tableau n°22 :</b> rendement d'extrait coumariniques.....	86
<b>Tableau n°23 :</b> rendement des huiles essentielles.....	86

<b>Tableau n°24</b> : les composés majoritaires des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. communs entre les deux phases.....	86
<b>Tableau n°25</b> : L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.	87
<b>Tableau n°26</b> : L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.	87
<b>Tableau n°27</b> : L'activité anti-oxydante des trois huiles essentielles pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	87

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure n° 1</b> : Les composés chimiques présents dans diverses huiles essentielles.....	11
<b>Figure n° 2</b> : Biogénèse des constituants chimiques des huiles essentielles.....	12
<b>Figure n° 3</b> : Biosynthèse des terpènes.....	13
<b>Figure n° 4</b> : des structures chimiques des composés de coumarine.....	19
<b>Figure n° 5</b> : La numérotation du noyau coumarinique.....	20
<b>Figure n° 6</b> : Exemples de dérivés coumariniques d'origine végétale.....	20
<b>Figure n° 7</b> : Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des coumarines simples et l'Umbélliférone.....	23
<b>Figure n° 8</b> : Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des furanocoumarines.....	25
<b>Figure n° 9</b> : Protocole d'extraction des alcaloïdes.....	40
<b>Figure n° 10</b> : Protocole d'extraction des coumarines.....	42
<b>Figure n° 11</b> : Montage d'hydrodistillation.....	43
<b>Figure n° 12</b> : Forme libre et réduite du DPPH.....	48
<b>Figure n° 13</b> : rendement d'extrait méthanolique.....	50
<b>Figure n° 14</b> : rendement d'extrait alcaloïdiques.....	51
<b>Figure n° 15</b> : rendement d'extrait coumariniques.....	52
<b>Figure n° 16</b> : rendement des huiles essentielles.....	52
<b>Figure n° 17</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	53
<b>Figure n° 18</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	54

<b>Figure n° 19 :</b> composés chimiques des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. avant la floraison.....	60
<b>Figure n° 20 :</b> composés chimiques des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. pendant la floraison.....	62
<b>Figure n° 21:</b> les composés majoritaires des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> L. communs entre les deux phases.....	63
<b>Figure n° 22 :</b> L'activité anti-oxydante des huiles essentielles avant la floraison du <i>Ruta montana</i> L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	64
<b>Figure n° 23 :</b> L'activité anti-oxydante d'huiles essentielles pendant floraison du <i>Ruta montana</i> L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	65
<b>Figure n° 24 :</b> L'activité anti-oxydante d'huiles essentielles pendant floraison du <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	65
<b>Figure n° 25 :</b> L'activité anti-oxydante des trois huiles essentielles pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	66
<b>Figure n° 26:</b> L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique du <i>Ruta montana</i> L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	66
<b>Figure n° 27 :</b> L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique du <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	67
<b>Figure n° 28 :</b> L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	68
<b>Figure n° 29:</b> L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique du <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	68
<b>Figure n° 30 :</b> L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique et du <i>Ruta montana</i> L. et de la vitamine C contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	69
<b>Figure n° 31 :</b> L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique pour les deux plantes <i>Ruta montana</i> L. et <i>Ruta tuberculata</i> Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.....	70

## LISTE DES PHOTOS

<b>Photo n° 1 :</b> <i>Ruta montana</i> L.....	5
<b>Photo n° 2 :</b> <i>Ruta tuberculata</i> Forsk.....	8

**Photo n° 3** : Chromatogramme sur couche des coumarines totales de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. (droite) et *Ruta tuberculata* Forsk. (gauche), par la phase mobile : n-Hexane/chloroforme/ méthanol: 7 :4 :0.25.....56

**Photo n° 4** : Chromatogramme des coumarines totales de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. (droite) et *Ruta tuberculata* Forsk (gauche), par phase mobile : n-Hexane/diethyl éther : 1 : 3.....57

## LISTE DES ABREVIATIONS

AlCl<sub>3</sub> : Trichlorure d'aluminium

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %

GC /MS : Gas Chromatography/Mass Spectroscopy

HCl : Acide chlorhydrique

MeOH : Méthanol

µl : Microlitre

CHCl<sub>3</sub> : Chloroforme

PEH : poids de l'huile essentielle extraite en g

PP : poids de la plante traitée en g

R : rendement

TR : temps de rétention

A<sub>C</sub> : Absorbance du contrôle après 5mn.

A<sub>E</sub> : Absorbance de l'essai après 5mn

µg EAG/mg : µg d'équivalent de l'acide gallique par mg d'extrait

µg EQ/mg : µg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait

EMe : l'extrait methanolique

*R.tuberculata* : *Ruta tuberculata* Forsk

*R.montana* : *Ruta montana* L.

R<sub>f</sub> : rapport frontal

HERM : les huiles essentielles du *Ruta montana* L.

HERT : les huiles essentielles du *Ruta tuberculata* Forsk

HEAF : les huiles essentielles avant la floraison

HEPF : les huiles essentielles pendant la floraison



# Introduction

A 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, chez l'homme sont très anciennes et ont toujours été faites de façon empirique (Svoboda *et al.*, 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 ; Kar, 2007).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 80% 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 médicale. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine a toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (Kar, 2007).

Les espèces de *Ruta* sont des sources de diverses classes de produits naturels tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles, les coumarines, les phénols, les lignanes, saponines et les triterpènes, qui ont des activités biologiques, notamment antifongiques, antioxydants, phytotoxiques, avortées et anti-inflammatoires (Mohr, 1982; Juan, 1984; Raghav *et al.*, 2006; Kuzovkina *et al.*, 2009; Mejrib *et al.*, 2010).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-oxydante par le test du DPPH et antibactérienne par la méthode de diffusion en gélosé et l'analyse chimique des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse des deux plantes médicinales *Rutamontana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes, les huiles essentielles, les coumarines, les alcaloïdes, le stress oxydant ainsi que sur l'activité antibactérienne.

Dans la deuxième partie, nous développerons dans le premier chapitre les matériels et les méthodes analytiques utilisés pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes, l'analyse par GCMS des huiles essentielles et par CCM des coumarines, l'activité anti-oxydante et finalement l'activité antibactérienne. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

## I. Plantes médicinales :

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Une définition des plantes médicinales devrait inclure les cas suivants :

- (a) plantes ou parties de plantes à usage médicinal dans des préparations galéniques (décoction, infusion, etc.) comme l'écorce de bourdaine.
- (b) plantes utilisées pour l'extraction de substances pures soit pour usage médicinal direct ou pour l'hémi-synthèse de composés médicinaux (par exemple hémi-synthèse d'hormones sexuelles à partir de la diosgénine obtenue de tubercules de *Dioscorea*).
- (c) aliments, épices et plantes de parfumerie à usage médicinal, comme le gingembre.
- (d) plantes microscopiques (champignons, actinomycètes) employées pour l'isolement de produits pharmaceutiques, en particulier d'antibiotiques. On peut citer l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) ou *Streptomyce griseus*.
- (e) plantes à fibres, comme le coton, le lin, le jute, utilisées pour la préparation de pansements chirurgicaux (Sofowora, 2010).

### I.1. Famille Rutaceae:

La famille des Rutaceae comprend environ 1 500 espèces de répartition cosmopolite, mais néanmoins essentiellement tropicales et subtropicales. Celles-ci sont regroupées en 155 genres, dont les plus importants sont : *Zanthoxylum*, *Melicope*, *Agathosma*, *Boronia*, *Citrus*, *Ruta* (Botineau, 2010).

#### I.1.1. Caractères botaniques

##### I.1.1.1. Appareil végétatif :

Ce sont des arbres et des arbustes, parfois lianoïdes. Plus rarement des herbes (*Dictamnus*). Les plantes sont parfois épineuses. Les feuilles, non stipulées, souvent persistantes ou coriaces, sont habituellement alternes, opposées chez le jaborandi, rarement verticillées, composées-imparipennées à trifoliées, parfois unifoliées (*Citrus*), parfois pennatiséquées (*Ruta*), ou composées palmées. Le limbe est marqué de points translucides,

surtout sur les bords. Le rachis et le pétiole des feuilles unifoliées sont parfois ailes et articulés (Botineau, 2010).

### I.1.1.2. Particularité anatomiques:

L'appareil sécréteur à l'huile essentielle est spécifique, constitué de poches dites schizolysigènes, c'est-à-dire qui résultent d'une part d'une disjonction des cellules et d'autre part de la lyse des cloisons faisant face à la cavité créée. Ces poches, très superficielles, d'origine épidermique et libèrent leur contenu à la moindre pression. A côté, existent des cellules sécrétrices volumineuses à huile essentielles et oléorésines (Botineau, 2010).

### I.1.2.Plantes utilitaires des Rutaceae:

Le tableau ci-dessous qui représente quelques plantes utilitaires alimentaires et médicinales des Rutaceae

**Tableau n°1** : Plantes utilitaires alimentaires et médicinales de la famille des Rutaceae (Spichiger *et al.*, 2004).

	Plantes	Exemples
Alimentaires	- <i>Citrus aurantium</i> (= <i>Citrus bigaradia</i> = <i>Citrus vulgaris</i> ) - <i>Fortunella japonica</i>	-Orange amer, bigaradier  -Kumquat
Médicinales	- <i>Citrus sinensis</i> , <i>Citrus medica</i> - <i>Ruta graveolens</i>	-Antispasmodique, antiseptique -Stupéfiant, antiseptique, emménagogue,abordif

### I.2.Genre *Ruta* :

« *Rue* » est la francisation de *Ruta* nom générique de ce genre, désignant ces plantes en latin et en grec (rutê). Il provient peut-être de grec *ritos*, qui coule, en allusion à ces vertus emménagogues (Couplan ,2012).<sup>1</sup> Les plantes du genre *Ruta* sont herbacées vivaces,

originaires de la région Méditerranée. Elles sont maintenant cultivées dans de nombreuses régions du monde. Elles ont un feuillage bleu-vert et fleurs jaunes. Elles ont une odeur qu'est considérée comme répugnante (**Armando, 2005**). Elles sont représentées en Algérie par ces espèces : *R. montana* L., *R. chalepensis*, *R. angustifolia*, *R. latifolia*, *R. graveolens* (**Quezel et Santa, 1963**) et *R. tuberculata* (**Ozenda, 1991**).

### I.2.1. Applications en phytothérapie :

Les plantes de genre *Ruta* sont utilisées pour favoriser la menstruation, comme contraceptif, contre l'hypertension, pour traiter l'hystérie, soulager les symptômes de Hangover, contre les maux d'oreille et maux de tête, un antiseptique pour la peau et produits anti-moustiques, appliqué extérieurement en cataplasme contre les douleurs rhumatismales.

La rutine, un composé isolé de la rue, est un flavonoïde, qui a été suggéré avoir les propriétés antioxydantes et à réduire les niveaux de triacylglycérol. Aussi les plantes de ce genre ont des propriétés antifongiques et insecticides, et contiennent des flavonoïdes qui possèdent une activité antibactérienne et des effets cytotoxiques (**Armando, 2005**).

### I.3. Espèce *Ruta montana* L.



Photo n°1 : *Ruta montana* L. (19 juin 2007 par Daniel Mathieu).

### I.3.1. Description botanique :

Rue sauvage, rue des montagnes, *Ruta montana* L. اورمة, plante aromatique, médicinale et à valeur magique (**Premare, 1999**). Plante de 20-40 cm, glauque, glabre, glanduleuse dans le haut ; feuilles oblongues dans leur pourtour, finement découpées en segments linéaires-obtus, le terminal un peu plus large ; fleurs jaunes, petites ; bractées et sépales lancéolées en alène, longuement acuminées ; pétales spatulées, entières, ondulées, non ciliés ; grappe fructifère dense, droite, à pédicelles plus courts que la capsule ; capsule petite, subglobuleuse, déprimée, à 4 lobes arrondis (**Coste, 1937**). L'odeur forte et pénétrante qu'exhale cette espèce de rue annonce des propriétés énergétiques. Elle pourrait être employée comme vermifuge emménagogue, bien qu'elle ne soit pas encore admise dans la matière médicale (**Roques, 1809 ; Roques, 1835**).

### I.3.2. Habitat :

Lieux arides de la région méditerranéenne ; Provence, Languedoc, Roussillon. Espagne et Portugal, Italie septentrionale, Grèce, Turquie ; Asie Mineure et Caucase ; Afrique septentrionale (**Coste, 1937 ; Seidemann, 2005**).

### I.3.3. Systématique :

Voilà la systématique de la première plante médicinale *Ruta montana* L. selon **Quezel et Santa, 1963**.

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Super division	Spermatophyta (plantes à graine)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Sous division	Angiospermae

Classe	Magnoliopsida (dicotylédons)
Sous classe	Rosidae
Super ordre	Rutanae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta montana</i> L.

#### I.3.4. Activité pharmacologique du *Ruta montana* L. :

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

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

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

**I.4.Espèce *Ruta tuberculata* Forsk. :**

**Photo n°2 :** *Ruta tuberculata* Forsk. par Jean-Claude Thiaudière, 2012.

**I.4.1.Description botanique :**

*Rue tuberculée. Ruta tuberculata.* Forskal. Les points tuberculeux dont la plupart des organes de cette plante sont chargés, la distinguent particulièrement du *Ruta linearifolia* et du *Ruta sessilifolia*. Il nous resterait à savoir si les filaments des ses étamines sont velus à leur base comme dans ces dernières. Forskal, qui le premier nous l'a fait connaître, n'en dit rien. Ses tiges sont droites, diffuses, hautes d'un pied, presque herbacées, vertes ou rougeâtres, rudes, chargées de points saillants, garnies de feuilles alternes, sessiles, très-simples, linéaires, lancéolées, vertes, quelquefois rougeâtres, longues d'un pouce, ponctuées et pileuses à leur face supérieure, tuberculées en dessous, planes, un peu roulées à leurs bords, rétrécies en pétiole à leur base. Les fleurs forment de petits corymbes terminaux médiocrement rameux, dichotomes, chaque fleur pédiculée, une solitaire et sessile dans chaque dichotomie. Les pétales sont jaunes, concaves, ondulées; l'ovaire chargé de tubercules; la capsule également tuberculée, à cinq lobes, à cinq loges, souvent deux semences dans chaque loge (**Lamarck et Poiret, 1804**).

**I.4.2.Habitat**

Cette plante croît dans les lieux déserts de l'Arabie (**Lamarck et Poiret, 1804**).

**I.4.3. Systématique :**

Voilà la systématique de la première plante médicinale *Ruta tuberculata* Forskal. selon **Quezel et Santa, 1963**.

Famille	Rutaceae
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta tuberculata</i> Forsk.

**I.4.4. Usages traditionnels:**

Son odeur est la même que celle du *Ruta graveolens*. Les Arabes en expriment le suc dans l'eau, et s'en lavent la tête pour faire croître leurs cheveux les rendre plus longs: quelques tribus du désert y attachent un grand prix (**Lamarck et Poiret, 1804**). En Algérie : *Ruta tuberculata* Forsk. est appelée Fidjel à El Goléa et Ouargla et connue Mzabia à Béni Abbès (**Maiza et al., 1993**).

**Tableau n° 2 :** Usages traditionnels de *Ruta tuberculata* Forsk. (**Maiza et al., 1993**).

Nom scientifique	El Goléa	Béni Abbès	Ouargla
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk.	courbatures, myalgies, stérilité, dysménorrhée	spasmes digestifs, algies articulaires, vertiges	piqûre de scorpions

**II. Métabolites Secondaires :**

Une des singularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la plante, est mal connu. Le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal : ce sont des métabolites secondaires (**Guignard, 2000**), c'est-à-dire de voies biochimiques qui ne sont pas impliquées dans la synthèse de composés cellulaires essentiels mais qui synthétisent des molécules plus complexes qui permettent des fonctions annexes. Ces fonctions sont, par exemple, l'attraction de pollinisateurs ou la résistance aux animaux nuisibles et aux pathogènes. Dans bien des cas, ces métabolites secondaires ont des propriétés pharmacologiques spécifiques et puissantes chez l'homme. Des exemples bien connus sont : la caféine, la nicotine, la morphine et la cocaïne (**Primrose, 2004**).

**II.1. Huiles essentielles :****II.1.1. Définition :**

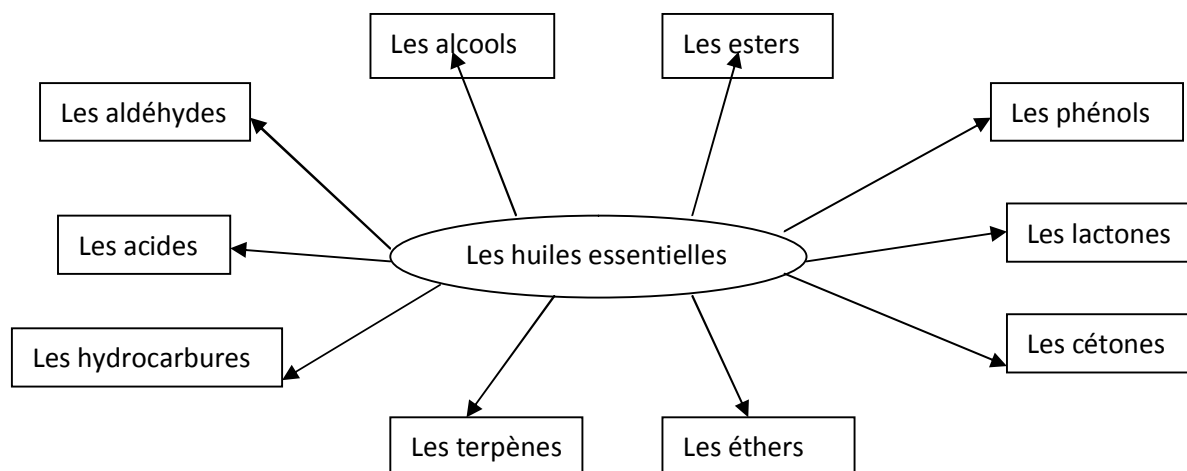
La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro distillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Hernandez Ochoa, 2005**).

**II.1.2. Composition chimique :**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes. La complexité vient du nombre important de composés qui la constitue (huiles poly-moléculaires dans la majorité des cas) : on peut compter jusqu'à plusieurs centaines de composants.

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un **squelette hydrocarboné**, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou **plusieurs sites fonctionnels** semblables ou différents : terpènes (ex : limonène, camphre), alcools (ex : linalol, géraniol), cétone (thuyone, carvone), phénols (ex :

thymol, carvacrol), aldéhydes (ex : aldéhyde cinnamique), éthers (ex : eucalyptol)...  
(Degryse, 2008).



**Figure n° 1:** Les composés chimiques présents dans diverses huiles essentielles (Mukhopadyay, 2009)

### II.1. 3. La biogénèse de quelques familles de produits naturels :

Tout comme les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en familles. Les principales familles des produits naturels qui se retrouvent comme constituant chimique des huiles essentielles sont les terpènes et les phénylpropanes (composés aromatiques). Les composés de la dégradation d'acides gras et les composés de la dégradation des terpènes sont aussi fréquemment retrouvés dans les huiles essentielles. Tous ces produits émanent de la photosynthèse comme le montre la figure 1. L'acide pyruvique, produit du métabolisme des sucres, se transforme en acétyl coenzyme A. La condensation ramifiée de trois molécules de cette coenzyme donne l'acide mévalonique. Cet acide se transforme en deux unités d'isoprènes pyrophosphates (IPP), précurseurs des terpènes. Une autre voie métabolique, la condensation linéaire d'unités d'acétyl coenzyme A, donne les acides gras et les acétogénines comme le  $\beta$ -thujaplicine (Garneau, 2001).

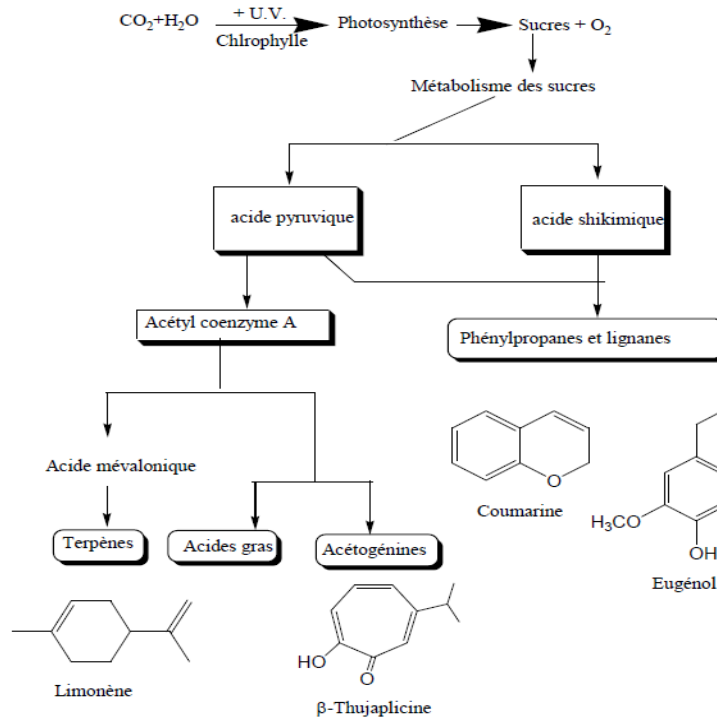


Figure n° 2: Biogénèse des constituants chimiques des huiles essentielles (Garneau, 2001).

Les terpènes étant des constituants caractéristiques et importants de la plupart des plantes à l'huile essentielle, nous avons indiqué la biosynthèse de cette famille de produits naturels à la figure 2 (4). L'acide mévalonique, métabolite important dans la biosynthèse des terpènes se transforme en deux unités de pyrophosphate d'isopentényle, IPP, et de pyrophosphate de  $\beta,\beta$ -diméthylallyle. La combinaison de ces deux pyrophosphates produit le pyrophosphate de géranyle (GPP) qui se transforme en géraniol et autres monoterpènes. La synthèse des autres terpènes s'effectue à la suite de condensations d'autres unités d'IPP (Garneau, 2001).

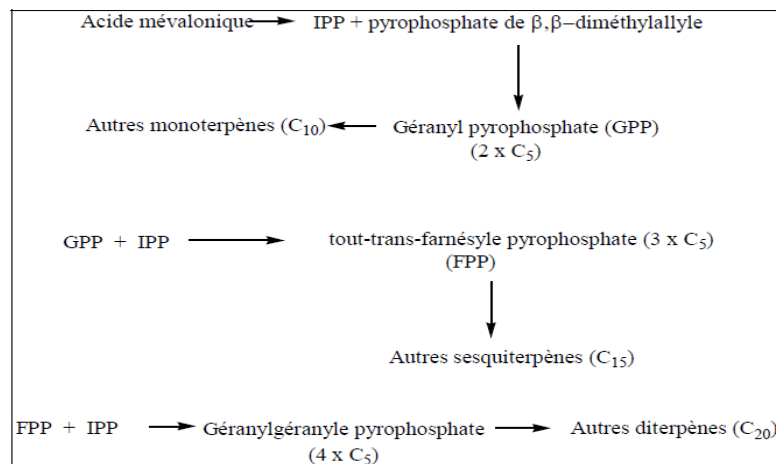


Figure n° 3. Biosynthèse des terpènes (Garneau, 2001).

### II.1.4. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante. Il peut s'agir de l'**écorce** (ex : citron, orange, bergamote), de **graines** (ex : cardamome, coriandre, fenouil), de **feuille** (ex : eucalyptus, mélisse), de **racines** (ex : angélique, vétiver), de **fleur** (ex : ylang-ylang, camomille), de **bois** (ex : bois de cèdre, santal)... (Degryse, 2008).

Il est bien connu que la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Il existe trois types de structures sécrétrices dans les plantes:

- 1) Les poils glandulaires épidermiques : les plantes possédant ces poils font partie des familles des Lamiacées, des Géraniacées, des Verbénacées, entre autres. À titre d'exemple, les feuilles de sauge officinale (*Salvia officinalis*) contiennent ce type de glandes.
- 2) Les poches sphériques schizogènes : les glandes de type poche se retrouvent chez des plantes des familles des Astéracées, Hypéricacées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées et autres. Un bel exemple de ce type est l'*Eucalyptus globulus*.
- 3) Les canaux glandulaires lysigènes : on retrouve des canaux glandulaires dans tous les bois résineux et en particulier chez les Abiétacées et les Cupressacées; le pin maritime en est un exemple. Les familles suivantes contiennent aussi des espèces avec ce type de glande : les Apiacées (les fruits), les Dipterocarpacees, les Burséracées et les *Anacardiacees* (Garneau, 2001).

### II.1.5. Facteurs de variabilité :

Différents facteurs font varier la composition des huiles essentielles :

**Partie du végétal d'où est extraite l'huile essentielle** : certaines plantes peuvent produire plusieurs huiles essentielles différentes selon les parties distillées.

**Chémotype** : une plante, de même variété botanique, élabore des huiles essentielles de composition biochimique différente (donc de propriétés différentes) en fonction de son origine (pays, climat, altitude, sol, saison,..)

**Origine géographique, mode de culture** : les produits doivent être issus soit de cueillette sauvage, soit de culture biologique, soit de cultures traditionnelles contrôlées.

**Mode d'extraction :** extraction par distillation, extraction aux solvants volatils, extraction par expression à froid, et extraction au CO<sub>2</sub> supercritique (**Degryse, 2008**).

### **II.1.6.Utilisation des l'huiles essentielles :**

#### **II.1.6.1.Utilisation pharmacologique :**

Leurs propriétés pharmacologiques leur confèrent une utilisation médicale. Les huiles essentielles ont en effet :

Un pouvoir antiseptique : contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures.

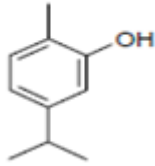
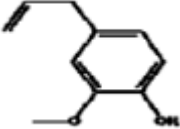
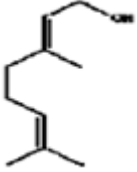
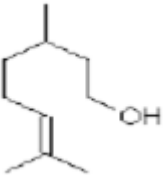
Des propriétés spasmolytiques et sédatives : certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et troubles psychosomatiques divers est également notée.

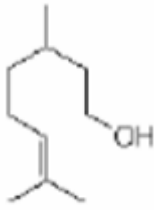
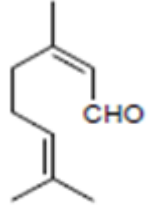
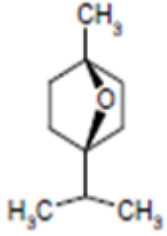
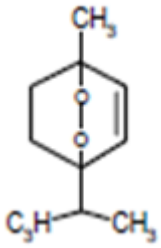
Des propriétés irritantes : de nombreux crèmes, pommades à bases d'huiles essentielles, sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires. En effet, par voie externe, certaines huiles essentielles augmente la microcirculation, induite une sensation de chaleur et dans certains cas une légères anesthésie locale.

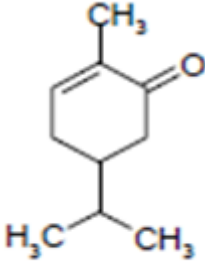
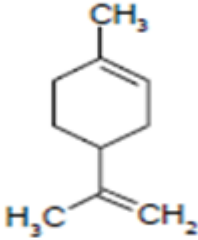
Ces huiles essentielles constituent également le support de l'« aromathérapie » : traitement des maladies par des essences de plantes (**Couderc, 2001**).

Gatte fossé qui, dès 1939 affirmait, après trente ans d'essais : « médecins et chimistes seront surpris de la multitude de corps odorants utilisables en médecine et de la grande variété de leurs fonctions chimiques. « en dehors des propriétés microbicides et antiseptiques, les huiles essentielles des aromates et des épices possèdent des propriétés antitoxiques, antivirus, une action énergétique puissante et un pouvoir cicatrisant incontesté. ». Les recherches les plus récentes démontrent que les huiles essentielles peuvent être d'une activité thérapeutique remarquable et polyvalente, compte tenu de ce qu'elles renferment des vitamines, des antibiotiques, des hormones, des antiseptiques, ainsi que d'autres substances actives (**Bardeau, 2009**).

**Tableau n°3:** Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique (Hernandez Ochoa, 2005).

Composés aromatiques	Formules développées	Propriétés
Phénols	<p>Exemples</p>  <p>Carvacrol</p>  <p>Eugénol</p>	<p>Stimulantes, toniques, Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, anti- virale, antiparasitaires irritantes</p>
Alcools terpéniques	<p>Exemples :</p>  <p>Géraniol</p>  <p>Citronellol</p>	<p>Anti-inflammatoire Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, anti- virale ,neurotoniques</p>

<p>Aldéhydes terpéniques</p>	<p>Exemples :</p>  <p>Citronellal</p>  <p>Citral</p>	<p>Antifongiques, Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde insecticide</p>
<p>Ether-oxides, péroxydes</p>	<p>Exemple :</p>  <p>Cinéole</p>  <p>Ascaridole</p>	<p>Antibactériens Antifongiques Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique(par la liaison -O-O-)</p>

Cétones	Exemple :  Carvone	Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptique
Hydrocarbures Aliphatiques, sesquiterpènes	Exemple :  Limonene	Fongistatique Bactériostatique Insecticides Nematicide Herbicide

### II.1.6.2. Rôle physiologique

Les huiles essentielles sont non seulement à l'origine du parfum et du goût de ces plantes (**Hopkins, 2003**). Ils ont certainement un rôle dans les plantes: il s'agit d'une sécrétion en réaction à l'environnement qui induit une augmentation de la biosynthèse de certains composants pour protéger la plante (inhibition de la germination en hiver par exemple ou protection contre des parasites, des insectes ou les herbivores) ou en favoriser la fécondation en attirant certains insectes (**Milpied, 2009**).

**II.1.7. Propriétés physiques :**

Liquide à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Très rarement colorées, ce sont « des liquides d'odeur et de saveur généralement forte ». Elles sont peu miscibles à l'eau, voire non miscibles. En revanche, elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (**Couderc, 2001**).

**II.1.8. Toxicité des huiles essentielles**

La toxicité des huiles essentielles varie selon leur composition, la plante source, le terrain où elle est cultivée (le chimiotype), la période de l'année où la plante est récoltée, sa voie d'administration (orale, cutanée ou aérienne), par l'état de l'individu qui est exposé et par les substances qui peuvent lui être associées. Cependant des groupes internationaux impliqués en santé publique travaillent pour évaluer la toxicité de certains composants d'huiles essentielles et en déterminent le NOAEL ; leurs études visent à fixer des normes pour assurer la sécurité d'emploi des produits (**Milpied, 2009**).

**II.1.9. Huiles essentielles du genre *Ruta* :**

Beaucoup d'études ont été effectuées sur les huiles essentielles et leurs compositions chimiques des plantes du genre *Ruta* par GC/MS. Le tableau ci-dessous résume les études antérieures sur les huiles essentielles du *Ruta*.

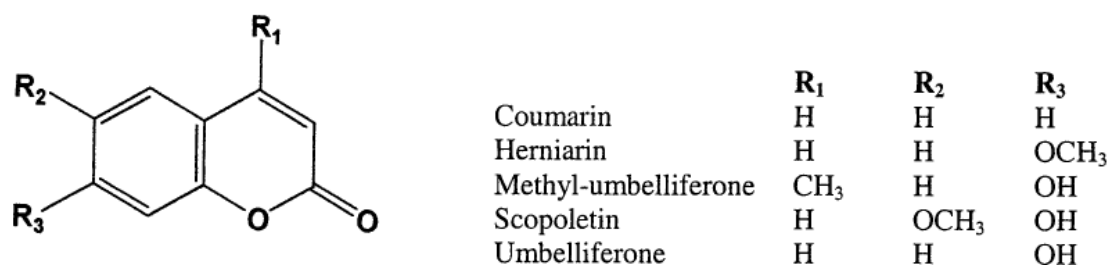
**Tableau n°4** : les produits majoritaires des huiles essentielles de quelques plantes du genre *Ruta*.

Espèce	Produits majoritaire	références
<i>Ruta graveolens</i> L.	un sesquiterpénique geijerene 67%	<b>(Kuzovkina et al.,2009)</b>
<i>Ruta graveolens</i> L.	Undécan-2-one (46.8%) et nonan-2-one (18.8%)	<b>(De Feo et al.,2002)</b>
<i>Ruta chalepensis</i>	2-undécanone (77.18%), 2-décanone (8.96%) et 2-dodécanone (2.37%)	<b>(Mejri et al,2010)</b>
<i>Ruta Montana</i> L.	2-Undécanone (60.19%), le 2-Nonanone (08.63%), Monoéthylhexyl phtalate (6.46%) Decanone (06.26%), le 2-Acetoxytridecane (3.38%), et du 2-tridécanol (3.37 %).	<b>(Zellagui et al., 2011)</b>

## II.2.Coumarines

### II.2.1.Généralité

Coumarines tirent leur nom de «Coumarou», nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd., *Fabaceae*), d'où fut isolée, en 1820, la coumarine. Les coumarines sont des 2*H*-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydro-*Z*-cinnamiques **(Bruneton, 1999)**.



**Figure n° 4** : des structures chimiques des composés de coumarine **(Ojala, 2001)**.

## II.2.2. Structure chimique, classification

En dehors de quelques rares cas, dont la coumarine elle-même, toutes les coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6, 7-di et 6, 7, 8- trihydroxylées. Les hydroxyles de ces coumarines simples peuvent être méthylés ou, cela n'est pas rare, l'un d'eux peut être engagé dans une liaison hétérosidique. La skimmine (7-*O*-glucosyl-ombelliférone), l'esculoside et la cichoriine (respectivement 6- et 7-*O*-glucosyl-esculétol), la scopoline et le fraxoside (glucosides du scopolétol et du fraxétol) sont particulièrement fréquents (Bruneton, 1999).

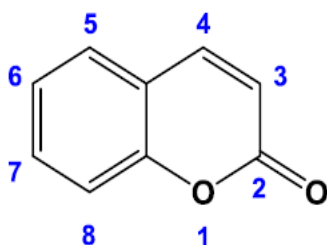


Figure n° 5 : La numérotation du noyau coumarinique (Hemmer, 2010).

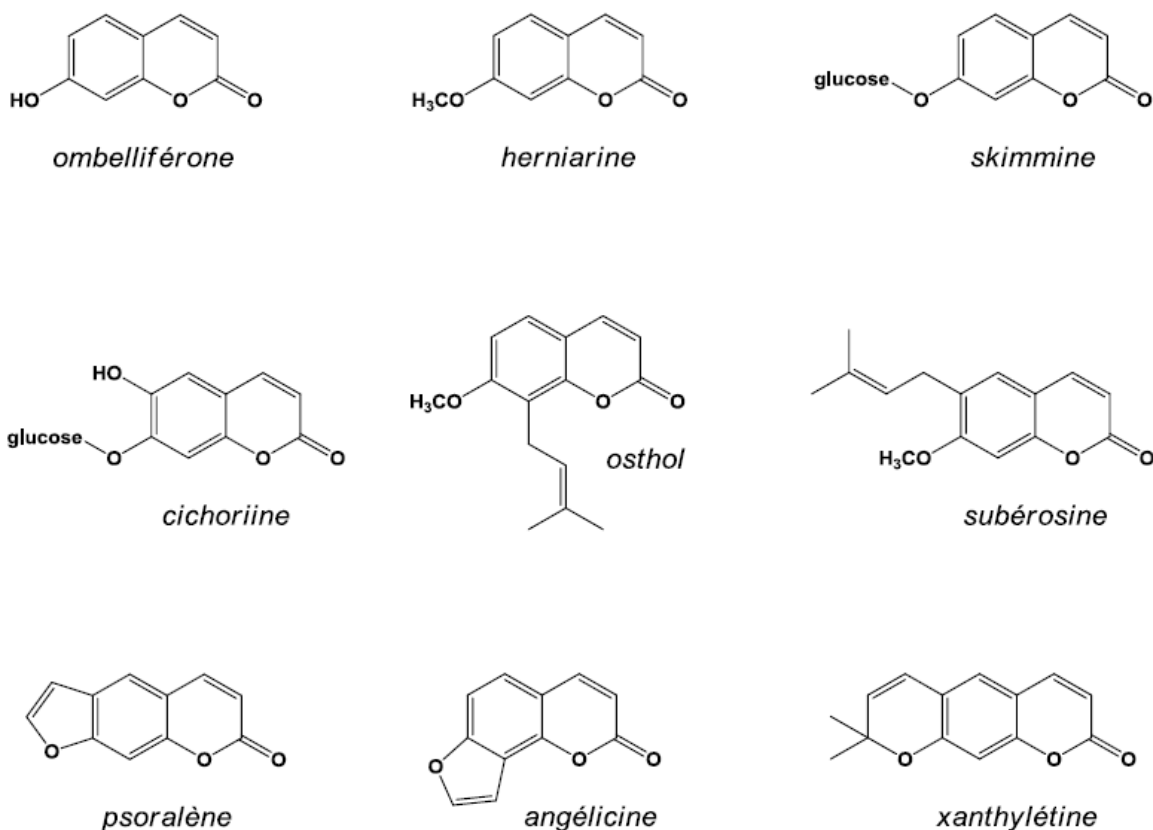
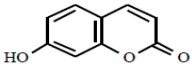
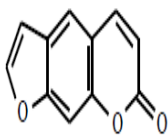
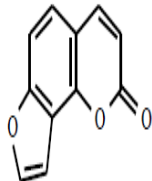
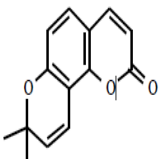
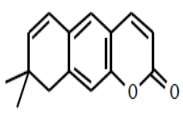
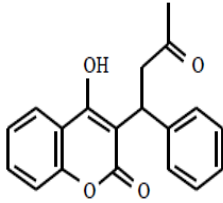


Figure n°6 : exemples de dérivés coumariniques d'origine végétale (Hemmer, 2010).

Il ya quatre principales coumarine sous-types: les coumarines simples, Furanocoumarines, pyranocoumarins et les coumarines pyrone-substitués. Les coumarines simples (par exemple la coumarine, 7hydroxycoumarine et 6,7-dihydroxycoumarine), sont l'hydroxyle, alkyle alcoxylé et dérivés de la molécule mère, la coumarine, avec leurs glycosides. Furanocoumarines consistent en un cycle à cinq chaînons furanne attaché au noyau coumarine, linéaire ou divisée en types angulaires par substitution à l'une ou l'autre des positions restantes benzoid (**Ojala, 2001**).Pyranocoumarines sont analogues aux furanocoumarines, mais contiennent un cycle à six chaînons. Coumarines substitués dans le noyau pyrone comprennent la 4-hydroxycoumarine (**Jain et Joshi, 2012**).

**Tableau n° 5:** Les quatre principaux sous-types de coumarine. Les principales caractéristiques structurelles et des exemples de chaque sous-type de coumarine (**Lacy et O’Kennedy, 2004**)

Classification	Propriétés	Exemples
coumarines simples	Hydroxylé, alcoxylé ou alkylée au noyau benzénique	 7-hydroxycoumarine
Furanocoumarines	Cycle furane à 5 chaînons attaché au noyau benzène. Linéaires ou angulaires	 Psoralen  Angelicin
Pyranocoumarines	Cycle pyrane à 6 chaînons attaché au noyau benzène. Linéaires ou angulaires	 Seselin  Xanthyletin

Coumarines substitués dans le noyau pyrone	La substitution sur le noyau pyrone, souvent à la position 3-C ou 4-C	 Warfarin
--	---	---

### II.2.3. Etude de la voie de Biosynthèse des coumarines :

#### II.2.3.1. Biosynthèse des coumarines simples :

La formation de la phénylalanine à partir de l'acide chorismique implique un réarrangement de claisen catalysé par l'enzyme chorismate mutase. La conversion de la phénylalanine en acide cinnamique par la phénylalanine ammonialyase (PAL) marque l'entrée dans la voie des phénylpropanoïdes (Lièvre, 2004).

La voie exacte des coumarines à partir d'acides cinnamiques spécifiques est quasi inconnue, bien que la cinnamate-2-hydroxylase ait été proposée comme une étape enzymatique clé.

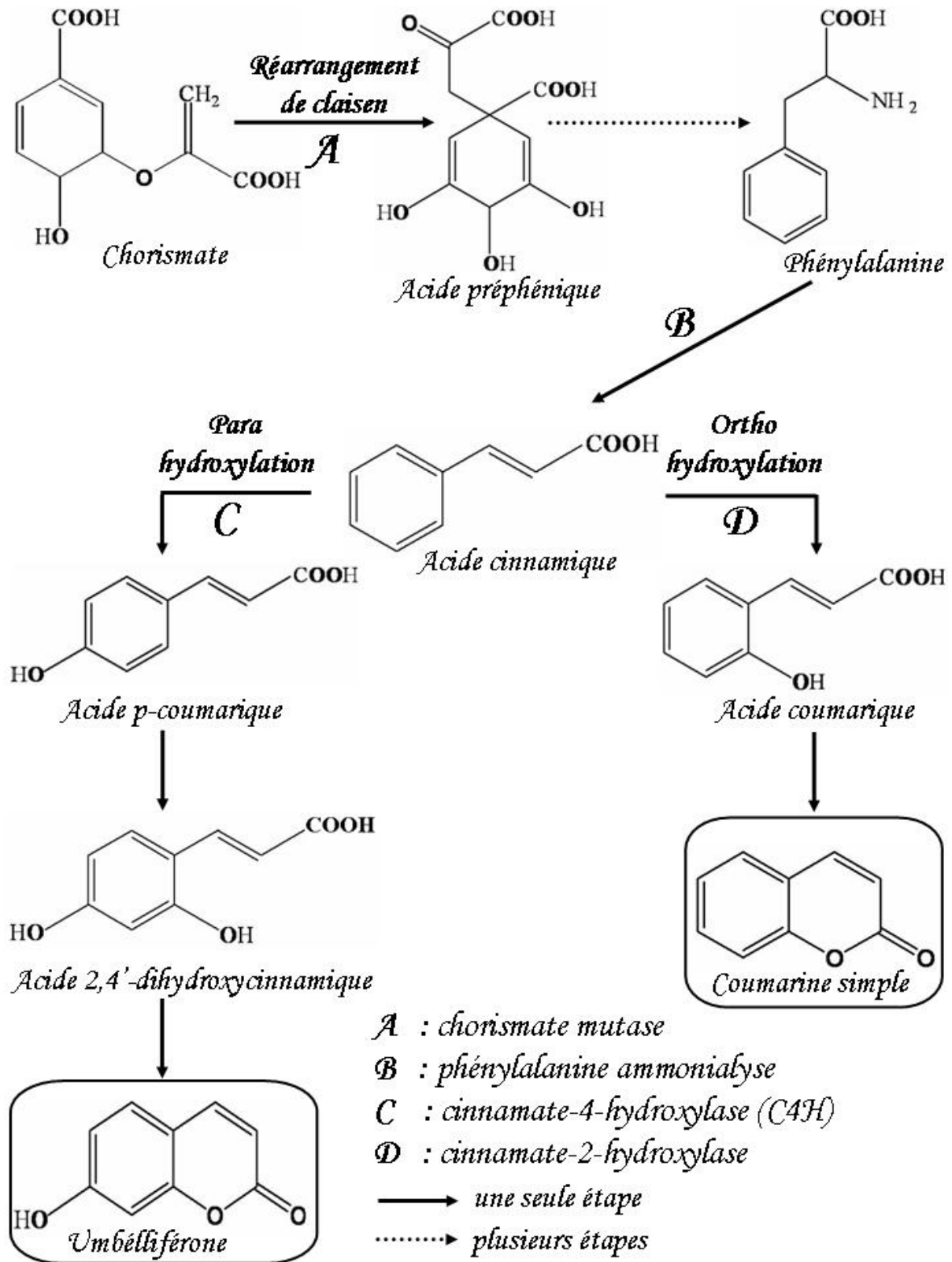


Figure n° 7: Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des coumarines simples et l'Umbelliférone (Lièvre, 2004).

### II.2.3.2. Biosynthèse des coumarines furanocoumarines :

La voie des furanocoumarines est présente chez un petit nombre d'espèces végétales (Lièvre, 2004). La première étape propre de la voie de biosynthèse est proposée comme étant une para-hydroxylation de l'acide p-coumarique qui conduit à l'Umbelliférone (Bourgaud *et al.*, 2006). Certains auteurs suggèrent que cette réaction est catalysée par une enzyme de la famille des cytochromes P450 (C4H) (une enzyme « clé » dans la voie des phénylpropanoïdes). La production de dérivés de la 7-*O*-prenyl Umbelliférone ne se fait que dans certaines conditions d'élicitations comme a été décrit par Hamerski et ses collaborateurs en 1990. Il a été démontré que la prénylation de l'Umbelliférone pour former la diméthylsubérosine était due à une activité enzymatique (Hehn, 2007). L'étape suivante est la synthèse de la diméthylsubérosine par ajout d'une unité isoprénique (IPP) catalysée par la diméthylallylpyrophosphatase (Prenyltransferase). L'étape suivante conduisant à la cyclisation de la diméthylsubérosine en (+) marmésine, puis sa conversion en psoralène est prise en charge par des cytochromes P450 (Lièvre, 2004). L'utilisation de marmésine radio marquée a permis de suivre l'apparition de psoralène en présence de NADPH (l'enzyme responsable de la réaction est stéréo sélective) (Bourgaud *et al.*, 2006; Hehn, 2007). L'hydroxylation en position 5 et 8 du psoralène génère la formation de xathotoxole et de Bergaptole, cette double hydroxylation séquentielle est nécessaire pour permettre la formation du 5-8 dihydroxypsoralène, précurseur non méthoxylé d'un produit mineur de la voie de biosynthèse : l'isopimpinelline. La méthylation du Bergaptole et de xathotoxole est catalysée par des méthyltransférases, pour finalement donner la Xanthotoxine et le Bergaptène. (Hehn, 2007).

La figure suivante rassemble les voies de biosynthèse possible conduisant aux furanocoumarines linéaires et Angulaire.

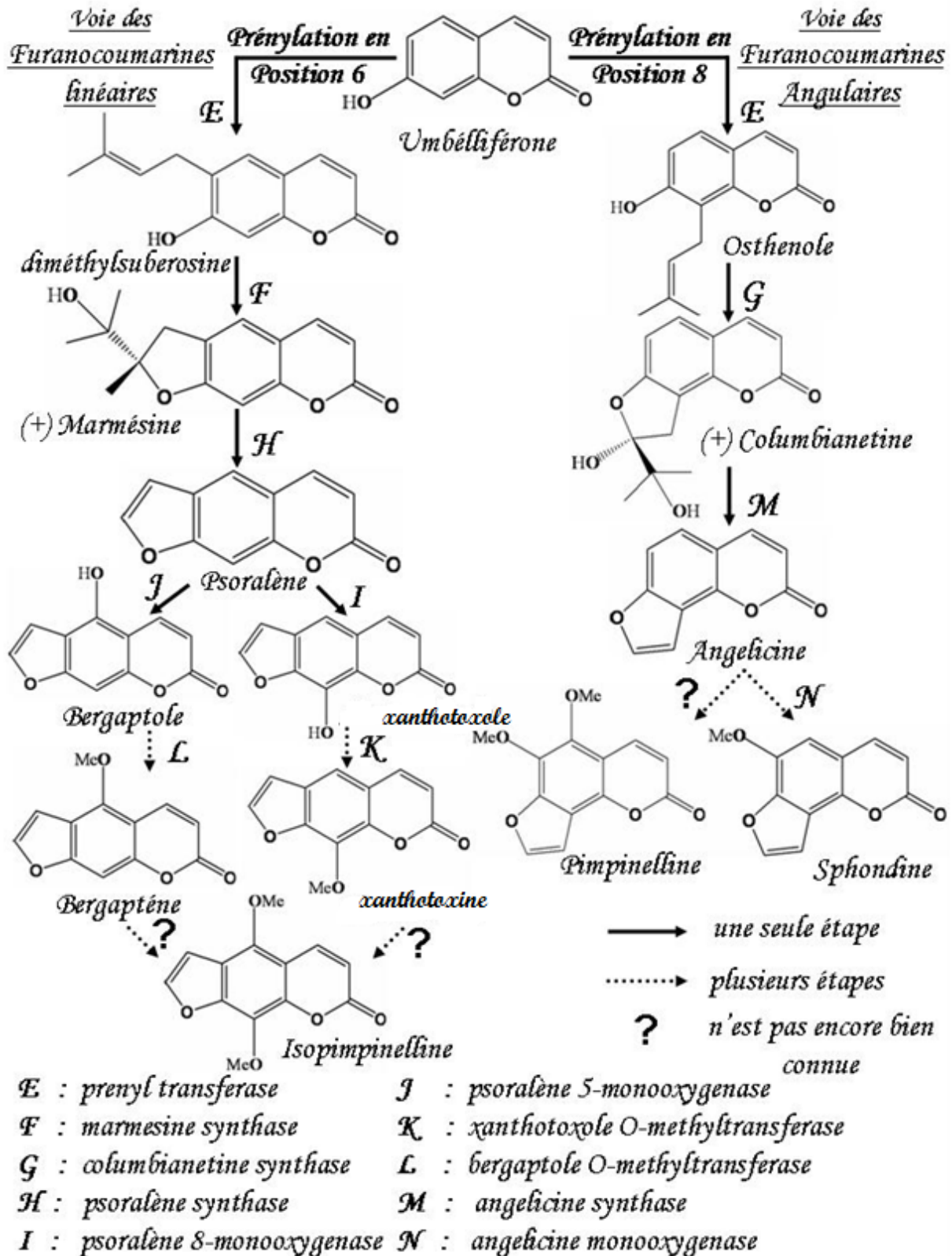


Figure n°8: Schéma récapitulatif des voies de biosynthèse des furanocoumarines (Lièvre, 2004).

### II.2.4. Intérêt pharmacologique des coumarines :

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrone (**Barnard et al., 2002**). Les coumarines simples contribuent généralement à fluidifier le sang par leur activité veinotonique et vasculoprotecteur, c'est le cas de l'esculoside du Marronnier d'Inde, ou anticoagulate du dicoumarol produit par le Mélilot (*Melilotus officinalis*). L'intérêt des furanocoumarines a été signalé dans le cas du traitement des spasmes néphrétiques, de l'angine de poitrine (khelline de l'*Ammi visnaga*). La capacité que possèdent diverses structures furanocoumariniques à provoquer une hyperpigmentation cutanée transitoire est bien connue. Ces propriétés photodynamisantes sont mises à profit dans le traitement des manifestations du vitiligo, du psoriasis et d'autres affections dermatologiques. Elles peuvent aussi être utiles dans les cures de bronzage (crèmes à base de psoralène, Bergaptène). La visnadine, une pyranocoumarine, est douée de propriétés vasodilatatrices coronariennes et présentée comme ayant une action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale (**Hemmer, 2010**).

Le tableau suivant rassemble quelques exemples sur l'activité biologique des coumarines.

**Tableau n°6 :** Quelques exemples sur l'activité biologique des coumarines.

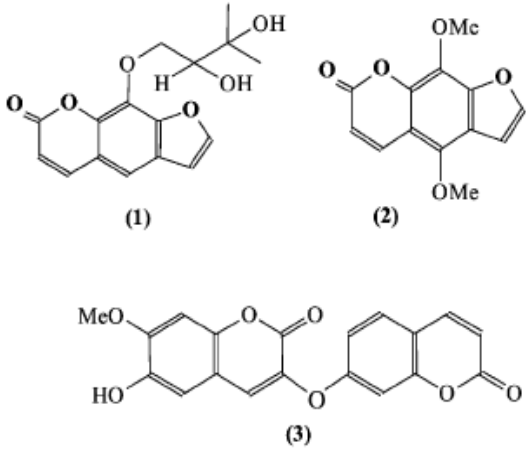
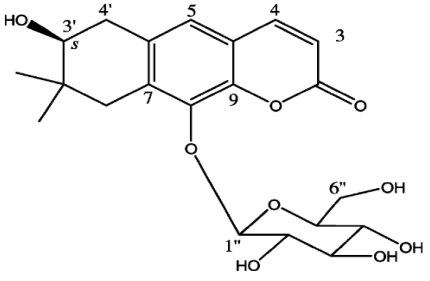
L'activité	Coumarines	Information	Références
anti-inflammatoire	Angelicine Athamantine Bergaptène Herniarine Impératorine Ledebouviellole Psoralène Scopoletine	Cette activité dépend de la nature des substituants des coumarines, Plus intéressant, les coumarines peuvent posséder des effets pro inflammatoires : Le Psoralène et Impératorine à une basse dose possèdent une activité <b>anti-inflammatoire</b> , mais à une forte dose a un effet <b>pro inflammatoire</b> .	<b>(Rouxel, 1989)</b>
Antimicrobienne	Angalicine Cichoriine	ils montrent que le <b>groupe hydroxyle libre</b> en	<b>(Rouxel, 1989)</b>

	Ciichoriine acétate Herniarine Umbelliprenine	<b>position 6</b> des coumarines est très important pour l' <b>activité antifongique</b> , tandis que le même libre en <b>position 7</b> est important pour l' <b>activité antibactérienne</b> .	
Phototoxicité	Athamantine Bergaptène Isopimpinelline Peucedanine Psoralène Umbélliférone Xanthotoxine	Les Psoralènes, furanocoumarines typiques sont des photosensibilisateurs dans la gamme de 320-380 nm, une gamme où les acides nucléiques et les protéines cellulaires montrent les bandes d'adsorption faible.	(Crépy, 2006)
Cytotoxicité	Niffcoumarine Paepalantine Seseline 5-methoxy Seseline Suberosin Xanthyletine Xanthoxyletine	Cette activité baser sur les substituant <b>ortho-dihydroxy</b> , en plus le groupe phényle avoir un rôle très important dans cette activité.	(Kostova, 2005)
Inhibiteurs de HIV	(+)-Calanolide A (-)-Calanolide B Cordatolite A Cordatolite B Coriandrine Imperatorine Suksdorfine	Quelques coumarines inhibent différents stages du cycle de réplication de HIV.	(Kostova <i>et al.</i> , 2006 ; Spino, <i>et al.</i> , 1998 ; Singh <i>et al.</i> , 2005)

### II.2.5.Coumarines isolés du genre *Ruta* :

Le tableau ci-dessous présente quelques coumarines isolées des plantes du genre *Ruta*.

Tableau n°7 : quelques coumarines isolées du genre *Ruta*

Espèce	Molécules coumarinique	références
<i>Ruta montana</i> L.	Heraclenol (1) isopimpinellin (2) rutamontine (3) 	(kabouche <i>et al.</i> , 2003)
<i>Ruta corsica</i>	39( <i>S</i> )-hydroxy-29,29-dimethyl- dihydropyranocoumarin-8- $\beta$ -D- glucopyranosyl appelé corsicarin 	(Bertrand <i>et al.</i> , 2004)

### II.3.Alcaloïdes

#### II.3.1.Généralité


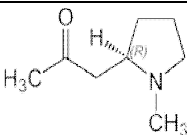

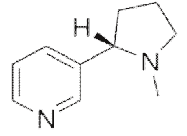

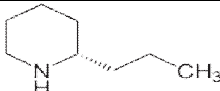
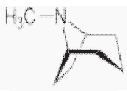
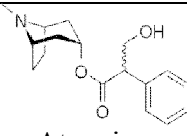

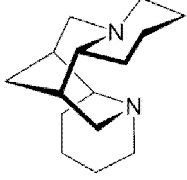
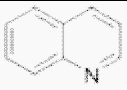
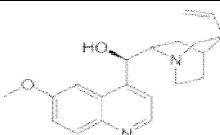
Le premier alcaloïde identifié (en 1806) fut la morphine, qui provient du pavot (*Papaver somniferum*). Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azoté, basiques donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (appelés réactifs des alcaloïdes) et doués a faible dose, de propriétés physiologiques marquées. Sur le plan chimique ils constituent un groupe très hétérogène, possédant

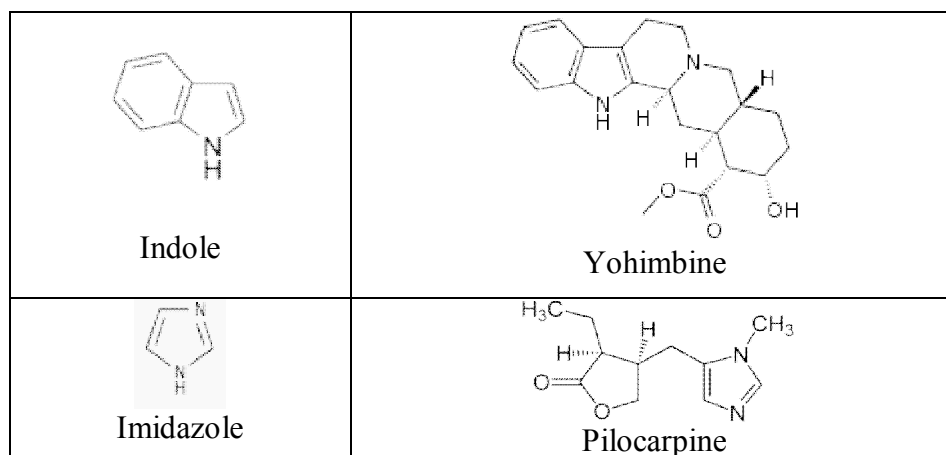
cependant quelques propriétés physico-chimiques communes. Ils portent tous la terminaison « ine » (Raven *et al.*, 2000).

### II.3.2. Composition chimique

La constitution chimique des alcaloïdes est extrêmement variée ; le seul point commun est la présence d'un azote qui confère à la molécule un caractère basique plus ou moins prononcés. La majorité présente un azote inclus dans un hétérocycle : ce sont *les alcaloïdes vrais* que l'on classe suivant la nature de leur cycle. Les alcaloïdes qui ne possèdent pas d'azote intracyclique ont une structure proche des amines et sont appelés *protoalcaloïdes* (Guinard, 2000).

**Tableau n°8 : Exemples d'alcaloïdes et principaux types structuraux (Guinard, 2000).**

Noyau caractéristique	Exemples
 Pyrrolidine	 Hygrine
 Pyridine	 Nicotine
 Pipéridine	 Coniine
 Tropane	 Atropine
 Quinolizidine	 Sparféine
 Quinoléine	 Quinine



### II.3.3. Propriété physico-chimique

La masse moléculaire des alcaloïdes est généralement faible et dépasse rarement 1 000. La plupart sont des solides cristallisés. L'amertume est un caractère quasi constant qu'il n'est cependant pas recommandé de vérifier en raison de la toxicité des produits. Les alcaloïdes sont, en général, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants dits « organiques » (alcools, acétone, chloroforme, oxyde d'éthyle, etc.) tandis que leurs sels ont des caractères de solubilité inverses. La couleur dépend du spectre d'absorption de la lumière, lié à la structure moléculaire : beaucoup absorbent les rayonnements dans le proche ultraviolet (U.V.) L'existence d'atomes de carbone asymétriques dans leur structure confère à la plupart des alcaloïdes un pouvoir rotatoire, parfois élevé et caractéristique, par déviation du plan de la lumière polarisée. La plupart des alcaloïdes sont basiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent fixer un proton (ion  $H^+$ ) sur un atome d'azote. Cette propriété est à l'origine de la formation des sels avec les acides. En outre, les alcaloïdes possèdent, comme toute molécule organique, des spectres d'absorption dans l'infrarouge (I.R.), de résonance magnétique nucléaire (R.M.N.), et de masse en relation avec leur structure et, d'ailleurs, mis à contribution pour l'établissement de celle-ci. Ils servent également à des fins d'identification (**Poisson, 2013**).

En règle générale les alcaloïdes et leurs sels précipitent ou sont déplacés par les sels métalliques, les teintures végétales (celles qui contiennent du tanin), les alcalis, les carbonates alcalins solubles (**Mautrait et Raoult, 2009**).

### II.3.4. Localisation, état naturel et rôle biologique

Globalement on a recensé quelque 10.000 alcaloïdes dans à peu près 20% des plantes à fleurs, essentiellement des dicotylédones herbacées. Une plante renferme rarement un seul alcaloïde ; en général on a un mélange d'alcaloïdes de constitution plus ou moins apparentée où l'un d'entre eux domine. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tannins (**Hopkins, 2003**).

Le rôle biologique des alcaloïdes est essentiellement celui de *phagodéterrants* : leur amertume et leur toxicité repoussent les herbivores (**Guinard, 2000**).

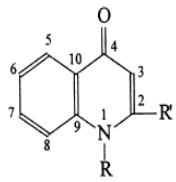
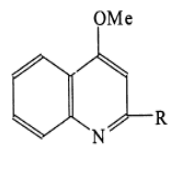
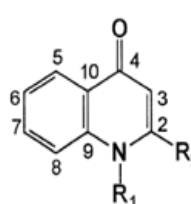
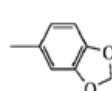
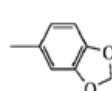
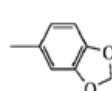
### II.3.5. Utilisation :

Le mot « alcaloïde » est pratiquement synonyme du mot « drogue » ; 10 des 12 drogues qui ont pour origine une plante et qui sont commercialement les plus importantes sont des alcaloïdes. Les alcaloïdes provoquent, chez l'homme, diverses réponses physiologiques parce qu'ils interfèrent avec les neurotransmetteurs. A forte dose la plupart des alcaloïdes sont très toxiques, par contre à faible dose, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. De préhistoire jusqu'à nos jours, les alcaloïdes ou des extraits qui ont renferment ont été utilisés comme médicaments, relaxants musculaires, analgésiques, tranquillisants et psychotropes (**Hopkins, 2003**).

### II.3.6. Alcaloïdes isolés du genre *Ruta* :

On a cité dans le tableau ci-dessous quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Ruta*.

Tableau n° 9 : quelques alcaloïdes isolés du genre *Ruta*.

Espèce	Molécules alcaloïdiques	Références																														
<i>Ruta montana</i> L.	<p>1-méthyl-4-méthoxy-2-quinolone et evolitrine</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <p>1 R = H ; R' = (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub> - CO - CH<sub>3</sub>  <small>1' - 7'      8'   9'</small></p> <p>2 R = (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub> - CO - CH<sub>3</sub>  <small>1' - 7'      8'   9'</small></p> <p>3 R = Me ; R' = (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub> - CO - CH<sub>3</sub>  <small>1' - 7'      8'   9'</small></p> <p>4 R = Me; R' = (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub> - CO - CH<sub>3</sub>  <small>1' - 8'      9'   10'</small></p>	<b>(Touati <i>et al.</i>,2000)</b>																														
<i>Ruta graveolens</i>	<p>2-alkyl-4-(1H)-quinolone</p> <div style="text-align: center;">  </div> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;"><i>R</i><sup>1</sup></td> <td style="text-align: center;"><i>R</i><sup>2</sup></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">Me</td> <td style="text-align: center;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">Me</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-nonyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">3</td> <td style="text-align: center;">Me</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-decyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">Me</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-undecyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-heptyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">6</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-octyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">7</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-nonyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">8</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-decyl</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">9</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;"><i>n</i>-undecyl</td> </tr> </table>		<i>R</i> <sup>1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup>	1	Me		2	Me	<i>n</i> -nonyl	3	Me	<i>n</i> -decyl	4	Me	<i>n</i> -undecyl	5	H	<i>n</i> -heptyl	6	H	<i>n</i> -octyl	7	H	<i>n</i> -nonyl	8	H	<i>n</i> -decyl	9	H	<i>n</i> -undecyl	<b>(Kostova <i>et al.</i>,1999)</b>
	<i>R</i> <sup>1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup>																														
1	Me																															
2	Me	<i>n</i> -nonyl																														
3	Me	<i>n</i> -decyl																														
4	Me	<i>n</i> -undecyl																														
5	H	<i>n</i> -heptyl																														
6	H	<i>n</i> -octyl																														
7	H	<i>n</i> -nonyl																														
8	H	<i>n</i> -decyl																														
9	H	<i>n</i> -undecyl																														

### III. Rappels sur les activités étudiées

#### III.1. stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux libres, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (**Favier, 2003**).

##### III.1.1. Définition

Stress oxydant: état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme. L'état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente: excès des espèces réactives d'O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> ou Cl<sub>2</sub>, défenses insuffisantes (endogènes et exogènes) et mécanismes de réparation insuffisants. Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré (**Mercan, 2010**).

##### III.1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atome, avec un nombre impair d'électrons sur la loge extérieure, et ils peuvent se former quand l'oxygène interagit avec certain molécules. Les radicaux libres sont très instables et réagissent rapidement avec d'autre composant, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une « réaction en chaine » débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui « volant » son électron, et « la molécule attaquée » devient elle-même un radical libre (**Pelli et Lyly, 2003**).

##### III.1.3. Principaux radicaux libres :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules (**Hininger-Favier, 2013**).

Le tableau ci-dessous représente les principaux radicaux libres rencontrés en biologie :

Tableau n° 10: Principaux radicaux libres (Hininger-Favier, 2013)

Radical libre	abréviation
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$
Oxygène singulet	$^1O_2$
Monoxyde d'azote	$NO^{\circ}$
Peroxyde d'hydrogène*	$H_2O_2$
Nitroxyde	$NOO^{\circ}$
Peroxynitrite	$ONOO^{\circ}$
Radical peroxy	$ROO^{\circ}$

#### III.1.4.Sources de production des radicaux libres :

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. La mitochondrie est la source de production majeure d' $O_2^{\circ-}$  dans la cellule intacte. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées. Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des radicaux libres au cours de réaction biochimiques (xanthine oxydase, hème oxygénase, cytochrome P450...). Une autre source importante de radicaux sont les mécanismes de cycles rédox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ces différentes molécules endogènes ou exogènes (ascorbate, glutathion réduit, adrénaline, flavines) réagissent spontanément avec l' $O_2$  et sont ainsi oxydées conduisant à la formation d' $O_2^{\circ-}$ . Les métaux toxiques (chrome, vanadium, cuivre) mais aussi le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton. Les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants (Hininger-Favier, 2013).

### III.1.5. Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydantes (**Pelli et Lyly, 2003**).

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO•. D'autres composés endogènes jouent un rôle sans doute important mais encore mal évalué : les thioredoxines, les glutaredoxines, les métallothionéines, l'acide lipoïque ou les polyamines. L'autre stratégie utilisée est de nature enzymatique, visant à détruire les superoxydes et peroxydes (**Favier, 2003**).

Les superoxydes dismutases (SOD), capables d'éliminer l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature distinguera les superoxydes dismutases à manganèse (mitochondriale), les superoxydes dismutases à cuivre et zinc (cytosolique), face externe de la membrane des cellules endothéliales, plasma sanguin). Les principaux enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium (GPx). De nombreux autres systèmes enzymatiques existent comme les glutathion transférases ; les thioredoxine réductase ou la thyroïde peroxydase (**Hininger-Favier, 2013**).

### III.1.6. Antioxydants naturels :

Les antioxydants naturellement sont présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus

important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux (**Pelli et Lyly, 2003**). Les plus utilisés sont la quercétine (chef de file des flavonoïdes), le resvératrol, extrait de l'écorce du raisin rouge et la curcumine, extraite de la racine de curcuma (**Favier, 2003**). L'homme n'est pas capable d'assurer la biosynthèse de la plupart des antioxydants, en particulier ceux de nature phénolique. Les différents constituants végétaux de notre ration alimentaire quotidienne sont donc généralement riches en polyphénols à fortes activité antioxydante (**Marcheix et al., 2005**).

### **III.1.7.Cibles des radicaux libres de l'oxygène:**

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique. Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (**Favier, 2003**).

### **III.1.8.Maladies liées au stress oxydant :**

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique,

syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels les diabètes, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

### **III.2. Activité antibactérienne :**

#### **III.2.1. Définition des antibiotiques :**

Le terme « antibiotique » (issu des termes grecs *anti*, signifiant « contre » et *bios*, « vie ») a été créé à la fin du 19<sup>e</sup> siècle. Il désignait initialement toute substance faisant preuve « d'antagonisme », en faible concentration, envers les organismes vivants en général. Au milieu du 20<sup>e</sup> siècle, la définition a été restreinte à toute substance d'origine naturelle produite par un microorganisme (habituellement une bactérie ou une moisissure) capable d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres microorganismes. Depuis, de nombreuses molécules antibiotiques ont été synthétisées ou modifiées en laboratoire. Quelle qu'en soit l'origine, deux caractéristiques importantes sont nécessaires pour qu'une substance soit qualifiée d'antibiotique : être efficace à faible dose et avoir une toxicité spécifiquement dirigée envers un groupe de microorganismes (donc, être non toxique pour les cellules de l'hôte) (Chevalier, 2012).

#### **III.2.2. Classification et mécanismes d'action :**

Il existe de nombreuses façons de classer les médicaments antibiotiques. Historiquement, la classification la plus utilisée et retrouvée, se base à la fois sur les structures chimiques et sur les mécanismes d'action qui y sont liés. On trouve :

- 1/ les molécules qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne, qui incluent les pénicillines et les céphalosporines ;
- 2/ les molécules qui agissent directement sur la membrane bactérienne en perturbant la perméabilité et qui conduisent à la fuite des composants intracellulaires, comme les polymyxines ;
- 3/ les molécules qui se lient aux sous unités 30S et 50S du ribosome bactérien et qui sont responsables d'une inhibition réversible de la synthèse protéique; ces antibiotiques bactériostatiques regroupent le chloramphénicol, les tétracyclines, les macrolides..... ;

4/les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques comme les rifamycines ou les quinolones ;

5/les inhibiteurs de la synthèse des folates comme les sulfamides et le triméthoprime **(Casamajor et Descroix, 2009)**.

## I. MATERIEL ET METHODES

### I.1. Matériel végétal:

La plante *Ruta montana* L. a été récoltée dans la période allant du mois de Décembre au mois d'Avril 2013, du Grarem –wilaya-Mila. Tandis que la récolte de la plante *Ruta tuberculata* Forsk a été effectuée à la fin du mois de Mars 2012 de la région d'Oued Souf.

Les deux plantes, fraîchement récoltées, ont été laissées à sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré puis elles ont été broyées pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation des différents extraits.

### I.2. Etude phytochimique :

Le tableau ci-dessous représente les différentes études effectuées phytochimique sur *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.

**Tableau n° 11:** les études effectuées entre *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk aux différents points.

Etude phytochimique	<i>Ruta montana</i> L.	<i>Ruta tuberculata</i> Forsk
Extraction des coumarines	✓	✓
Extraction des alcaloïdes	✓	✓
Extraction des huiles essentielles	✓	✓
Dosage des flavonoïdes	✓	✓
dosage des polyphénols	✓	✓
CCM (coumarines)	✓	✓
GC/MS (huiles essentielles)	✓	X

### I.2.1. Extraction des principes actifs :

#### I.2.1.1. Extraction des alcaloïdes:

Les parties aériennes séchées de la plante *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. (100g) ont été extraites avec du MeOH (80%) chaque 24h (quatre fois) puis évaporé (à ≤50 C°) à l'aide du Rotavapor. L'éther de pétrole a été ajouté à l'extrait méthanolique et mélangés ce qui nous a donné une phase organique et une phase aqueuse. Cette dernière phase a été dissoute dans une solution aqueuse à 2% de HCl, puis on a extrait la solution obtenue par chloroforme (deux à trois fois) et autrefois nous a donné deux phases une aqueuse et l'autre

organique. La phase aqueuse a été amenée à pH 9 avec  $\text{NH}_4\text{OH}$  25%, et extraite de nouveau par  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (deux fois) et donne deux phases, une organique et l'autre aqueuse contenant des alcaloïdes quaternaire (Sagen *et al.*, 2002).

Le schéma ci-dessous résume les étapes de l'extraction des alcaloïdes

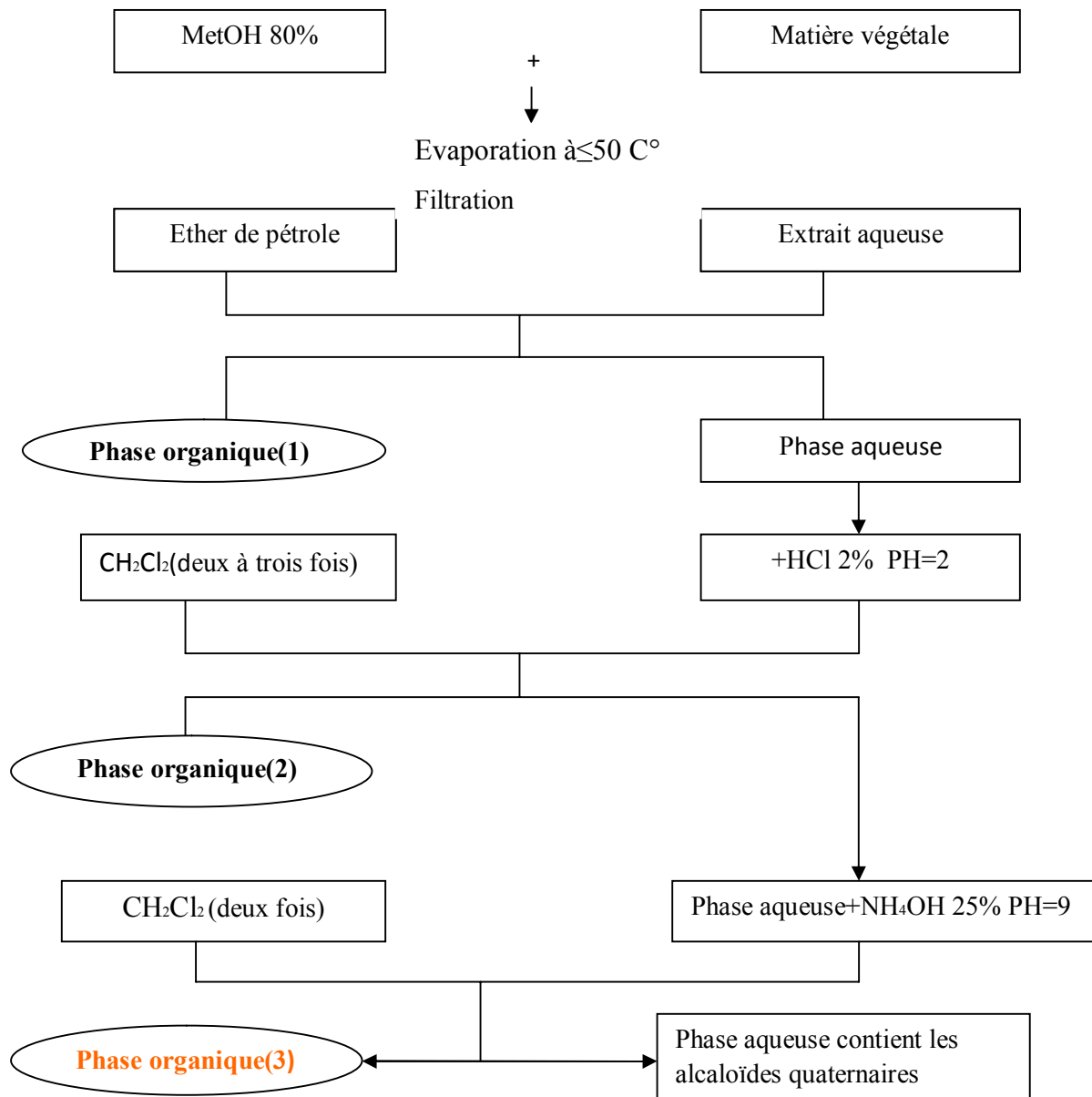


Figure n°9 : Protocole d'extraction des alcaloïdes (Sagen *et al.*, 2002).

**I.2.1.2.Extraction des coumarines :**

Les parties aériennes séchées des deux plantes *Ruta montana* L. (130g) et *Ruta tuberculata* Forsk. (100g) ont été extraites avec MeOH (80%). L'extrait méthanolique a été amené à pH 9 avec NH<sub>4</sub>OH 28%, la solution basique est extraite avec chloroforme (une fois). La solution aqueuse a été amenée à pH 2 par HCl 2%. La solution aqueuse est extraite de nouveau avec CHCl<sub>3</sub> (quatre fois). Les CHCl<sub>3</sub> extraits ont été évaporés de donner les coumarines bruts (**Ciulel, 1983**).

Le schéma ci-dessous résume les étapes d'extraction des coumarines

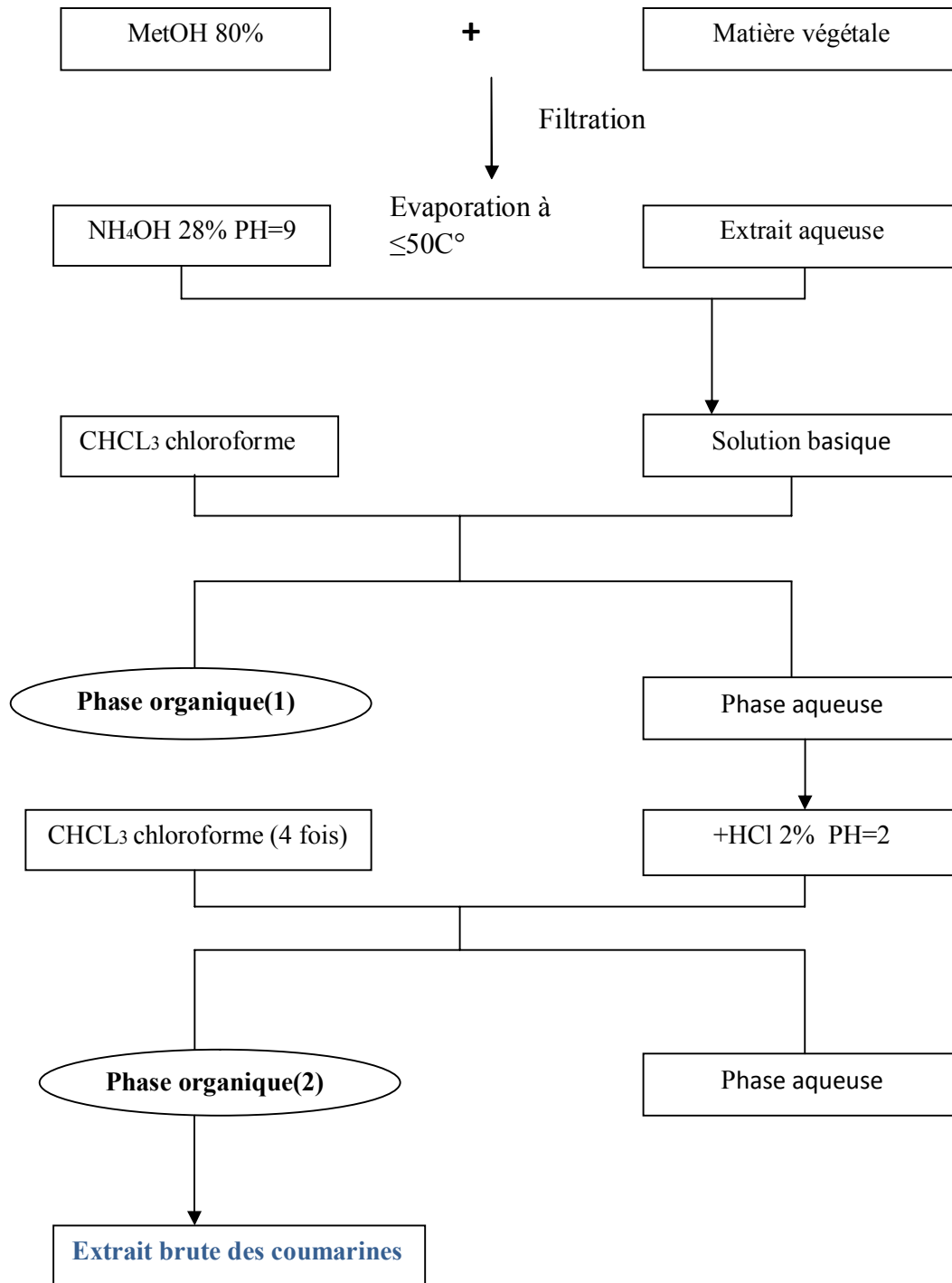


Figure n°10 : Protocole d'extraction des coumarines (Ciulel, 1983).

### I.2.1.3.Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles est effectuée par hydrodistillation de la partie aérienne de la plante, où 100g de la plante sèche *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk est introduite dans un ballon à bi ou tri cols, et imprégné d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et s'écoulent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Ciulel, 1983). Voir le montage d'hydrodistillation dans la figure n°10.

Calcul de rendement : on appelle rendement le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{PH}{PP} \times 100 \text{ où}$$

PH : poids de l'huile essentielle extraite en g

PP : poids de la plante traitée en g

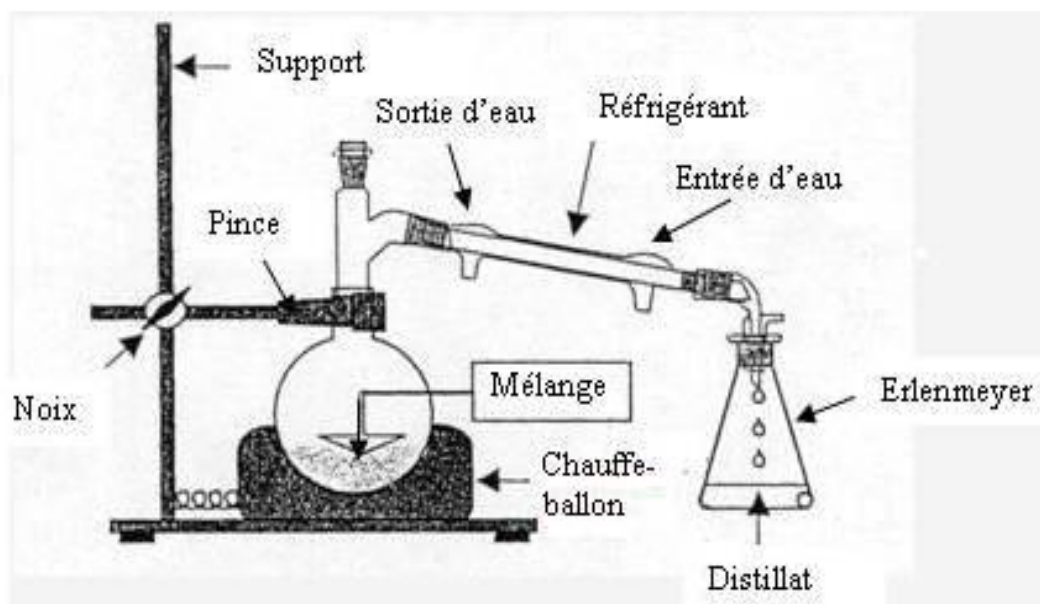


Figure n°11: Montage d'hydrodistillation.

### I.2.2.Dosage des flavonoïdes :

#### Dosage colorimétrique :

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits méthanoliques des deux plantes *Ruta*

*montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk (on met 5g de la matière végétale sec dans le méthanol 80% pour obtenir l'extrait méthanolique).

**Principe :**

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol).

Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

**Expression des résultats :**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

**I.2.3. Dosage des composés phénoliques**

Méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour doser les polyphénols pour les raisons suivantes ; **(i)** c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, **(ii)** la disponibilité du réactif de Folin et la méthode est bien standardisée, **(iii)** la grande longueur d'onde (765nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, **(iv)** c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (**Huang et al., 2005**).

Si le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en oeuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols car il réagit avec l'acide aminée tyrosine et tryptophane des protéines. De telles interférences peuvent être négligées car ces acides aminés aromatiques sont en proportions trop faibles par rapport aux composés phénoliques non protéiques dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**). Le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**).

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures (**Abdel-Hameed, 2009**).

**Principe :**

La méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu consiste à mélanger 20µl de l'extrait méthanolique (*Ruta montana* L., *Ruta tuberculata* Forsk) avec 580µl de l'eau distillée, 1,25 ml de réactif de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 20%), 250µl de Folin Ciocalteu (1N). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 40 min. L'absorbance est mesurés à 750 nm et les résultats sont rapportés à une courbe d'étalonnage et exprimés en équivalent d'acide gallique.

**I.2.4. Analyses chromatographiques :****I.2.4.1. Chromatographie sur couche mince :**

La chromatographie sur couche mince est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle donne l'avantage de nécessiter peu de matériel et de fournir des résultats facilement interprétables et toujours très reproductibles (**Bataille, 2000**). A l'origine, la CCM a été utilisée pour la séparation des substances colorées (d'où son nom). Aujourd'hui, elle est considérée comme une méthode puissante pour les analyses qualitatives et quantitatives. Aussi, permet-elle de suivre l'évolution d'une réaction et de tester la pureté d'un solvant (**Delmeyda, 2001**).

**Principe :**

La séparation des constituants du dépôt se fait à l'aide de deux phases : une phase mobile qui est un solvant ou un mélange de solvants. Et une phase stationnaire qui est un adsorbant de 0,25mm d'épaisseur, maintenu sur une plaque de verre ou de plastique rigide. L'échantillon à analyser doit se trouver dans un solvant volatil (dans notre cas : le méthanol). Le dépôt se fait alors sur une extrémité de la phase stationnaire. Les constituants de l'échantillon sont alors élués (entraînés) par la phase mobile qui monte par capillarité vers le haut de la plaque (**Delmeyda, 2001**). La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit

mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, Par exemple: fluorescence, coloration, Rapport frontal (Rf) et étude spectroscopique (Villars, 1971).

### Mode opératoire :

Phase stationnaire : dans notre cas, nous avons utilisé des plaques de gel de silice (phase normale) prêtent à l'emploi de longueur 10cm, pour séparer les coumarines brut des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk et faire une comparaison entre les deux extraits.

**-Choix de la phase mobile (systèmes solvants appropriés) :** on essaie plusieurs systèmes solvants et on choisit ceux qui donnent les meilleures séparations (migrations).

### Systèmes essayés :

**Tableau n°12 :** les systèmes solvant utilisé

N°	Systèmes solvants	Proportion
1	<i>n</i> -hexane /chloroforme / méthanol	7 :4 :0.25
2	<i>n</i> -hexane/diéthyl éther	1: 3

### -Dépôt :

On fait plusieurs dépôts du même échantillon au même endroit pour obtenir les produits séparés en grande quantité (ceci est nécessaire surtout lors de la CCM préparative ). Il faut sécher après chaque dépôt avec un séchoir, par exemple.

### Révélation des coumarines :

Dans notre travail, la visualisation des tâches (spots) se fait sous UV à 254 et/ou365nm dans une chambre noire puis on détermine alors, pour chaque constituant, le rapport frontal (Rf) :  

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant (centre de la taches)}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$$

### I.2.4.2.Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse :

L'huile a été analysée par GC/MS en utilisant Agilent 5973EI détecteur sélectif de masse couplée à un chromatographe en phase gazeuse d'Agilent GC6890A, équipée avec un

réticulée 5% PH ME siloxane HP-5MS colonne capillaire (30 m. 0,25 mm d'épaisseur de film 0,25 µm). Conditions de fonctionnement: le débit de gaz porteur est de 1,6 ml / min, pression de la colonne est de 100 Kpa. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont 220 ° C et 250 ° C respectivement. la colonne température est maintenue à 60 ° C pendant 1 min, puis soulevé à partir de 60 ° C à 200 ° C à 10 ° C / min et maintenue pendant 5min et de 200 ° C à 240 ° C à 10 ° C / min et maintenus pendant 6 min. Le programme a été exécuté en mode sans division avec une gamme de masse de 50 à 400 u, et balayage intervalle est de 0,5 s. Détecteur de tension a été fixé à 1,5 kV.

L'identification des composants de l'huile de *Ruta montana* L. avant et pendant la floraison a été réalisée sur la base de leurs temps de rétention TR, (déterminée en référence à une série homologue des alcanes normaux), et par comparaison de leur spectre de masse de modèles de fragmentation avec ceux rapportés dans la littérature et conservés dans la bibliothèque MS (base de données NIST 2). La concentration des composés identifiés ont été calculés à partir de la surface du peak totale GC sans aucun facteur de correction.

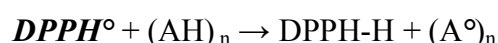
### I.3. Activité biologique :

#### 1.3.1. Activité anti-oxydante :

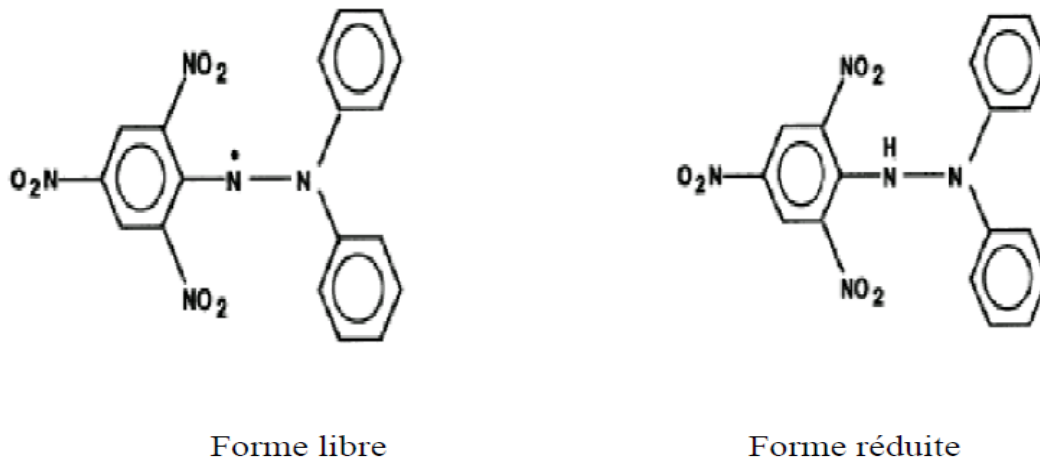
Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm.

Principe :

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.



**Figure 12 : Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi, 2006)**

### Mode opératoire :

**2 ml de la solution éthanolique** de DPPH (3,94mg /100ml de l'éthanol est incubé pendant 30min) et 20  $\mu$ l de l'extrait à tester aux différent concentrations ( $1M, 10^{-1}M, 10^{-2}M, 10^{-3}M, 10^{-4}M$ ). La mesure de la DO s'effectue chaque 30 seconde pendant 5 mn à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'effet piègeur est déterminé en pourcentage de réduction en prenant le 100% du control (DPPH° seul) selon la relation suivante:

- % de réduction =  $[A_C - A_E / A_E] \times 100$ .
- $A_C$  : Absorbance du contrôle après 5mn.
- $A_E$  : Absorbance de l'essai après 5mn (**Lahouel et al., 2010**).

Dans notre cas les extraits qu'on a testés sont :

- Les huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant la floraison et pendant floraison.
- Les huiles essentielles de *Ruta tuberculata* Forsk. pendant la floraison.
- L'extrait brut des coumarines de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk.
- L'extrait brut des alcaloïdes de *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L.

### I.3.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques (**Rahal et al., 2005**)

**Souches :**

Les souches bactériennes ont été prises du laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine (souches de références). Elles ont été conservées par la suite au réfrigérateur dans des tubes à essai contenant de la gélose inclinée ou sur milieu de conservation. Toutes les souches utilisées pour la préparation d'inoculum ont été auparavant repiquées sur gélose nutritive dans des boîtes de pétri et incubées à 37° C pendant 18 à 24 heures.

**Tableau n°13 : les souches microbiennes utilisées**

Etat frais	Souches	Gram
Bacille	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 700603	Négatif
Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positif

**Protocole :**

Les souches bactériennes ont d'abord été cultivées sur Muller Hinton moyen (MHI) à 37° C pendant 24 h avant l'ensemencement sur la gélose nutritive. Des disques (6 mm de diamètre) de filtration stériles a été placé sur la gélose d'infusion ensemencé avec des bactéries, et pour chaque disque de papier a été imprégné de 40µl de l'extrait préparé pour tous concentration préparée (8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0,5 mg / ml et 0,25 mg / ml). Les boîtes de Pétri traités ont été maintenus à 4° C pendant 1h, et incubées à 37° C pendant 24 h. l'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant la zone d'inhibition de croissance autour des disques. Chaque expérience a été réalisée trois fois (**Zellagui et al., 2012**).

## II. Résultats et discussion :

### II.1. Rendement des extractions :

#### Extrait brut méthanolique :

Les extraits méthanoliques ont été préparés pour le dosage des flavonoïdes et des polyphénols des deux plantes. Les rendements en extraits bruts (en %) dans les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. sont présentés dans l'histogramme suivant :

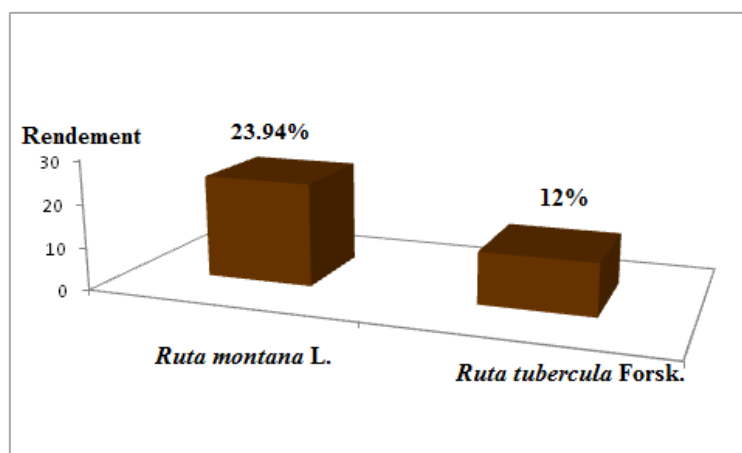


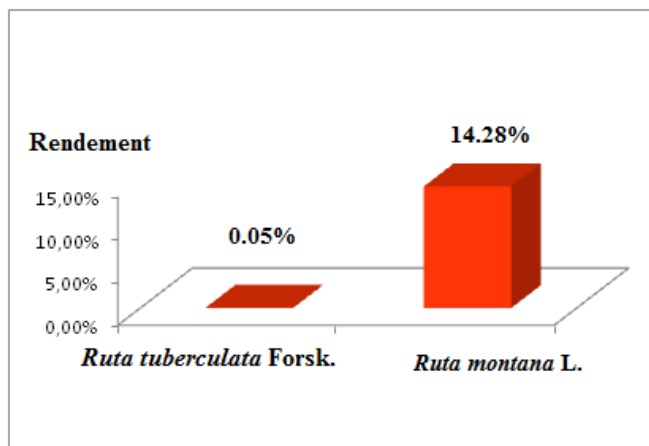
Figure n°13 : rendement d'extrait méthanolique

D'après nos résultats, Le rendement d'extrait méthanolique obtenu du *Ruta montana* L. ( $\approx 24\%$ ) est le double que le rendement obtenu avec *Ruta tuberculata* Forsk. (=12%). Ces résultats sont en accord avec celle de (Lauk *et al.*, 2004 ; De Freitas *et al.*,2005).

#### Extraits alcaloïdiques :

Dans 100g de la partie aérienne de la plante *Ruta tuberculata* Forsk. le rendement d'extrait alcaloïdique est 0.05%. Alors que dans le cas de *Ruta montana* L. on a utilisé 70g de la partie aérienne de la plante et le rendement est 14.28%

Les rendements des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. en extrait alcaloïdique sont bien illustrés dans l'histogramme ci-dessous :

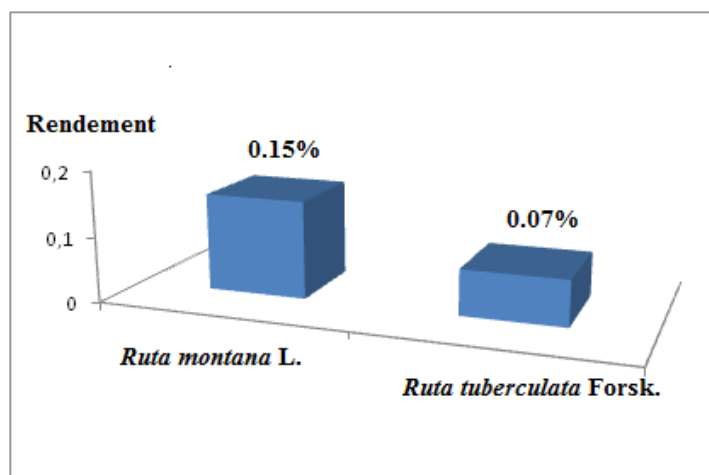


**Figure n° 14:** rendement d'extrait alcaloïdiques

D'après l'histogramme il est très apparu que le rendement d'extrait alcaloïdique obtenu du *Ruta montana* L. (14.28%) est beaucoup plus élevé que le rendement obtenu avec *Ruta tuberculata* Forsk. (0.05%). Selon étude menée par (Touati, 2000) sur *Ruta montana* L., son rendement en extrait alcaloïdique est moins que le rendement obtenu par rapport à notre *Ruta montana* L. et plus par rapport à *Ruta tuberculata* Forsk.

#### **Extraits coumariniques :**

Dans 100g de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. D'après nos résultats, le rendement d'extrait coumariniques obtenu du *Ruta montana* L. (=0.15%) est le double que le rendement obtenu avec *Ruta tuberculata* Forsk. (=0.07%). Ces résultats sont bien illustrés dans l'histogramme ci-dessous :



**Figure n°15 :** rendement des extraits coumariniques

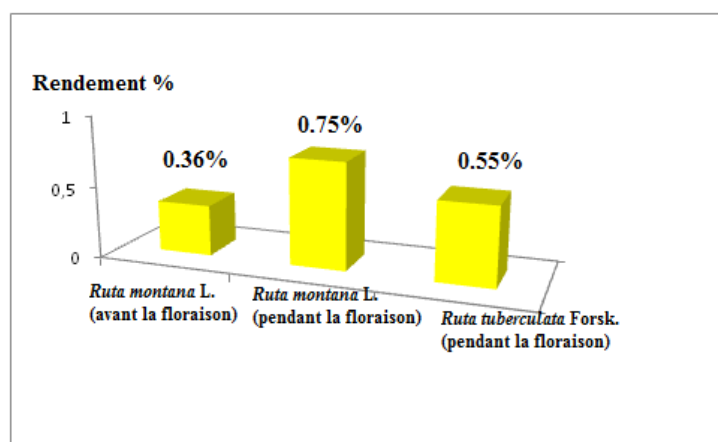
Selon une étude menée par (Emea, 1999) sur *Ruta graveolens*, le rendement en extrait coumariniques est entre 0.4 et 1.4%. Il est supérieur à celui obtenu dans notre étude.

#### Rendement des huiles essentielles :

On a utilisé 100g de la partie aérienne pour les deux phases de la plantes *Ruta montana L.* et 50g de la partie aérienne pour *Ruta tuberculata Forsk.*

Le rendement des huiles essentielles de *Ruta montana L.* pendant la floraison (0.75%) est plus que le double que d'avant la floraison (0.36%). Il apparait au vu des résultats du tableau n°16 que les rendements sont meilleurs pendant la floraison pour les deux plantes et que le rendement de *Ruta montana L.* (0.75%) est plus élevé à celui du *Ruta tuberculata Forsk.* (0.55%) pendant cette phase. Ces résultats sont en accord avec celle de (Zellagui, 2012 ;De Feo, 2002).

Ces résultats sont bien illustrés dans l'histogramme ci-dessous :

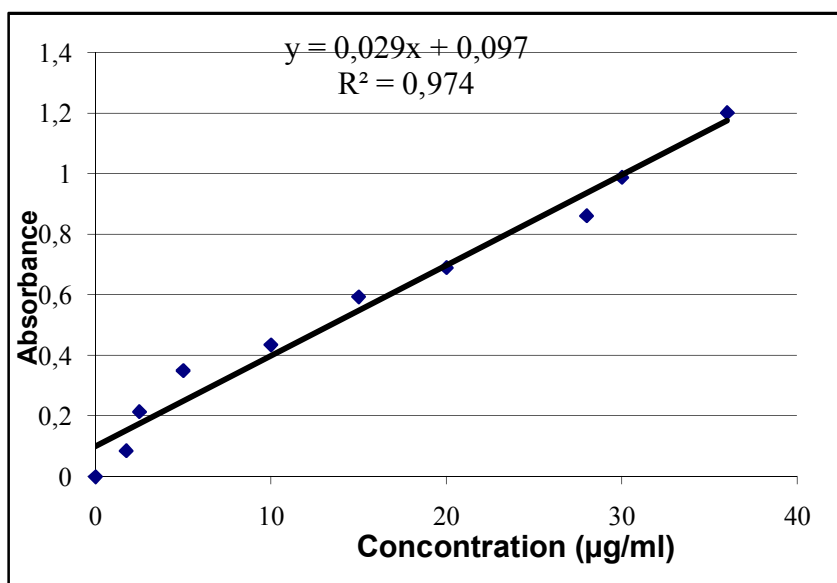


**Figure n°16:** rendement des huiles essentielles

## II.2. Teneur en flavonoïdes :

### Dosage colorimétrique :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'AlCl<sub>3</sub> en utilisant comme standard la quercétine dont sa droite d'étalonnage est représentée dans la (Figure.17), et les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en µg EQ/mg d'extrait. La figure ci-dessous représente la courbe d'étalonnage de la quercétine qui a été utilisée comme standard au dosage des flavonoïdes :



**Figure n° 17:** courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne ± SD de trois essais)

On trouvera dans le tableau ci-dessous les résultats du dosage des flavonoïdes :

**Tableau n° 14 :** Teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk.

Extrait méthanolique du	Teneur en flavonoïdes (a)
<i>Ruta montana</i> L.	44.54 ± 1.40
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk.	19.67 ± 0.34

(a) µg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait. Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

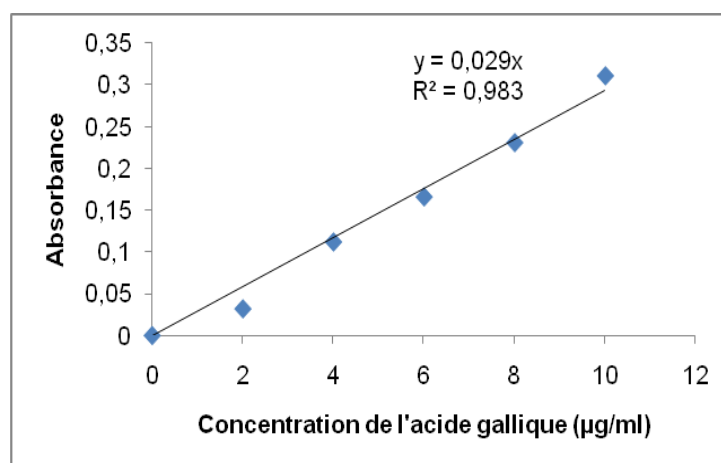
Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (Tableau.) révèlent que :

La teneur d'EMe de *Ruta montana* L. en flavonoïdes (44.54 ± 1.4 µg EQ/mg) est plus que le double de la teneur de *Ruta tuberculata* Forsk. En flavonoïdes (19.67 ± 0.34 µg EQ/mg).

### II.3. Teneur en polyphénols :

Le dosage en polyphénols a été estimé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu en utilisant comme standard l'acide gallique dont sa courbe d'étalonnage est représentée dans la (Figure.18) et les teneurs en polyphénols sont exprimées en  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait.

La figure ci-dessous représente la droite d'étalonnage de l'acide gallique qui a été utilisé comme standard au dosage des polyphénols.



**Figure n° 18** : courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois essais).

Les résultats du teneur en polyphénols des deux plantes sont présentés au tableau suivant :

**Tableau n° 15** : Teneur en polyphénols d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk.

Extrait méthanolique	Teneur en polyphénols (b)
<i>Ruta montana</i> L.	26.62 $\pm$ 1.93
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk.	20.36 $\pm$ 0.48

(b) mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures  $\pm$  SD.

L'EMe du *Ruta montana* L. représente la teneur la plus élevée en polyphénols (26.62  $\pm$  1.93  $\mu\text{g}$  EAG/ mg) par rapport à la teneur de *Ruta tuberculata* Forsk. en polyphénols (20.36 $\pm$ 0.48  $\mu\text{g}$  EAG/mg).

## II.4. Analyses chromatographiques :

### II.4.1. Chromatographie sur couche mince des coumarines des deux plantes :

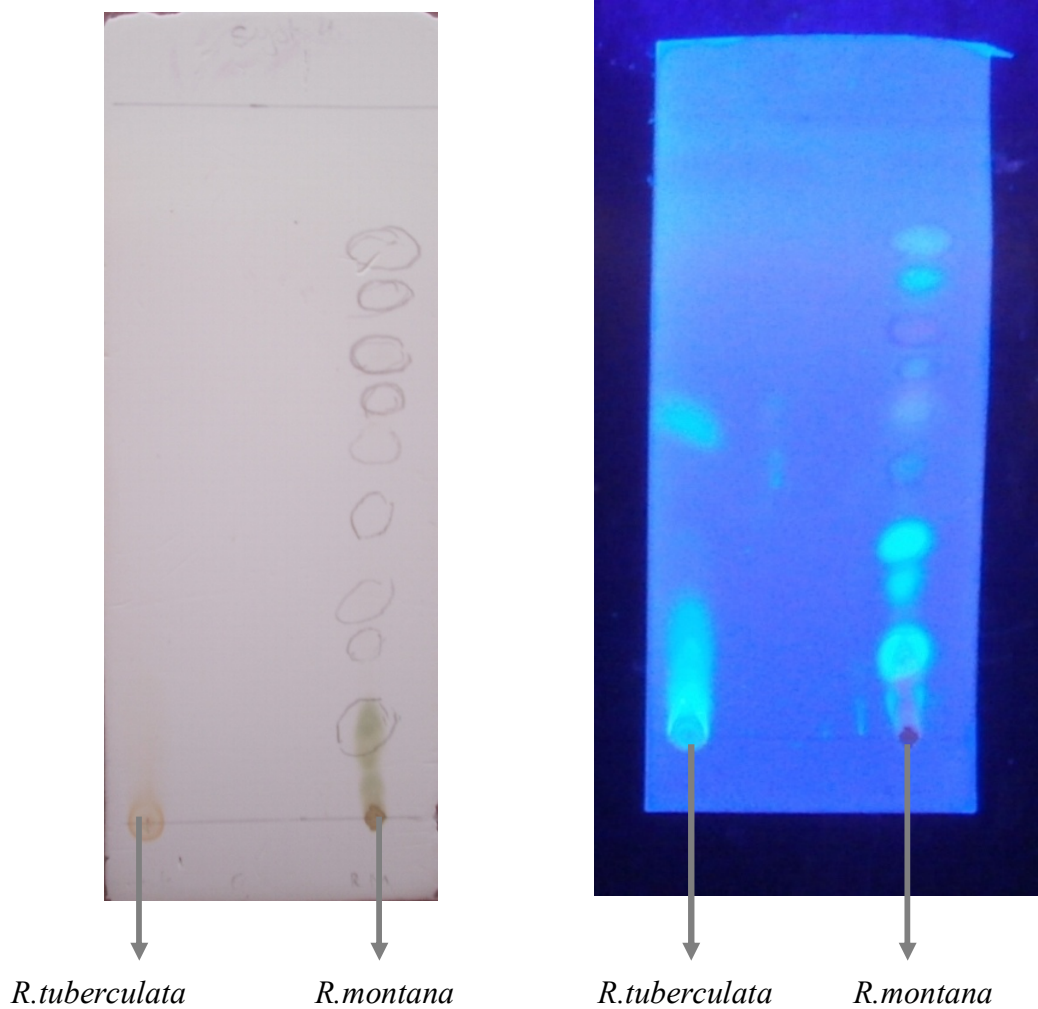
La chromatographie sur couche mince d'extrait brut des coumarines de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. A permis de séparer des substances qui sont apparues sous forme de spots bleus.

Le tableau ci-dessous résume tout les résultats trouvés du CCM d'extrait brut des coumarines pour les deux plantes :

**Tableau n°16:** les taches probablement coumariniques séparées de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.

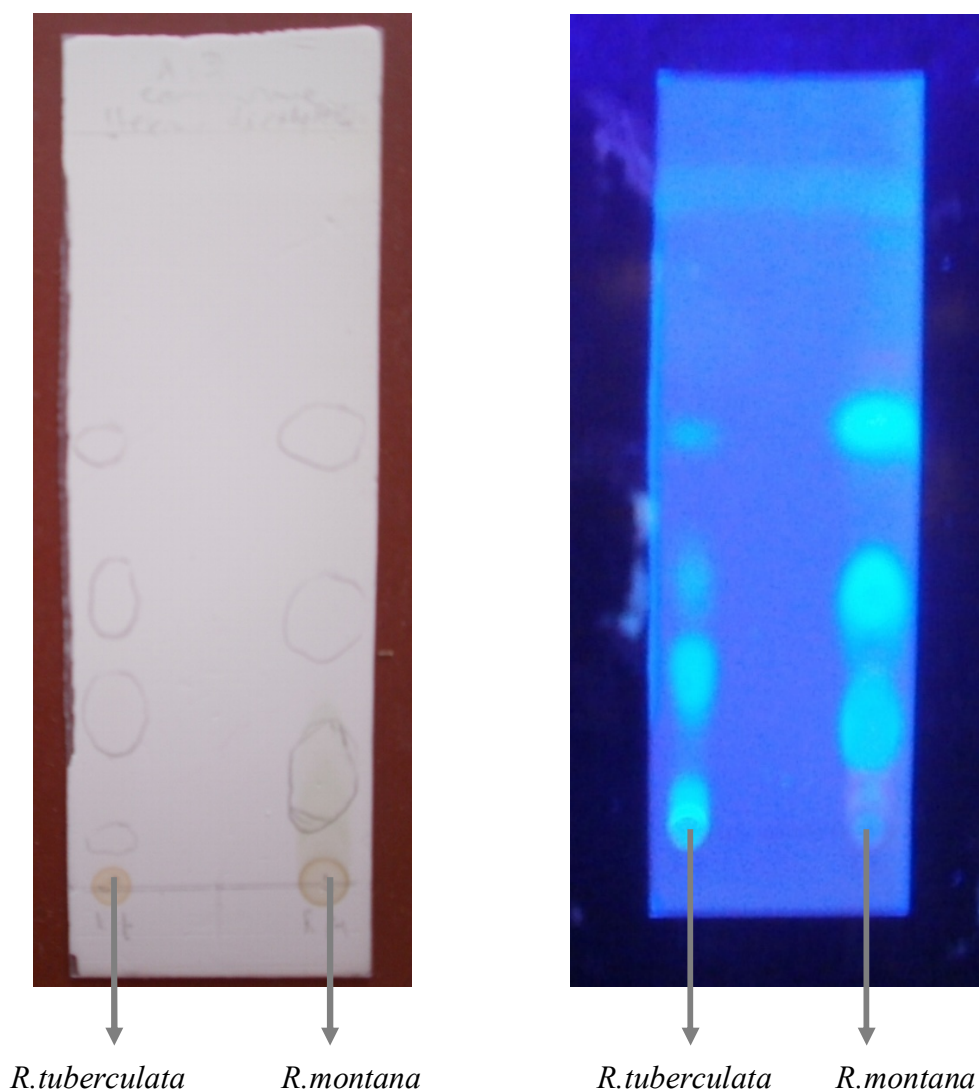
System solvant	Nombre des taches		Rf ( <i>R. montana</i> )	La couleur Des taches Sous-UV	Rf ( <i>R. tuberculata</i> )	La couleur Des taches Sous-UV
	<i>R. montana</i>	<i>R. tuberculata</i>				
<i>n</i> -hexane/Chloroforme/MeOH 7 : 4 : 0.25	9	Au moins 3	Rf = 0.13	Bleu violet	Rf = 0.24	Bleu violet
			Rf = 0.25	Bleu violet	Rf = 0.26	
			Rf = 0.32	Bleu violet	Rf = 0.50	
			Rf = 0.43	Bleu		
			Rf = 0.53	Bleu		
			Rf = 0.60	Bleu		
			Rf = 0.66	Bleu		
			Rf = 0.75	Bleu violet		
			Rf = 0.81	Bleu		
<i>n</i> -hexane/diethyl éther 1 : 3	3	Au moins 4	Rf = 0.15	Bleu violet	Rf = 0.17	Bleu violet
					Rf = 0.25	Bleu
			Rf = 0.36	Bleu violet	Rf = 0.4	Bleu
		Rf = 0.60	Bleu violet	Rf = 0.60	Bleu	

Les photos ci-dessous représentent les résultats de la chromatographie sur couche des coumarines totales de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.



**Photo n° 3 :** chromatogramme sur couche des coumarines totales de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. (droite) et *Ruta tuberculata* Forsk. (Gauche), par la phase mobile : *n*-Hexane/chloroforme/ méthanol: 7 : 4 : 0.25

Révélateur : UV



**Photo n° 4 :** chromatogramme sur couche des coumarines totales de la partie aérienne des deux plantes *Ruta montana* L. (droite) et *Ruta tuberculata* Forsk. (Gauche), par phase mobile : *n*-Hexane/diethyl éther : 1 : 3

Révéléteur : UV

Les résultats de l'analyse chromatographique *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. ont montré qu'il ya une différence qualitative entre les coumarines séparées.

Le système de solvant (1) *n*-Hexane/chloroforme/ méthanol: 7 : 4 : 0.25 après la séparation ne donne pas les mêmes taches coumariniques pour les deux plantes : la plante *Ruta montana* L. (9 taches : Rf = 0.13, Rf = 0.25, Rf = 0.32, Rf = 0.43, Rf = 0.53, Rf = 0.60, Rf = 0.66, Rf = 0.75, Rf = 0.81) et la plante *Ruta tuberculata* Forsk. (Trois taches : Rf = 0.24, Rf = 0.26, Rf = 0.50)

Alors que le système solvant (2) n-hexane/diethyl éther 1 : 3 : a donné après la séparation 3 taches coumariniques pour *Ruta montana* L. ( $R_f = 0.15$ ,  $R_f = 0.36$ ,  $R_f = 0.60$ ) et 4 taches pour *Ruta tuberculata* Forsk. ( $R_f = 0.17$ ,  $R_f = 0.25$ ,  $R_f = 0.4$ ,  $R_f = 0.60$ ).

On comparant notre résultats avec ceux trouvés par (Belkassam, 2009) qui a travaillé sur la plante de *Ruta montana* L. et qui a utilisé les mêmes systèmes solvants que dans notre cas et on a remarqué qu'il a les mêmes résultats qu'on a trouvé.

#### II.4.2. Résultat de la Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse (GC /MS) des huiles essentielles :

L'analyse GC/MS de l'huile essentielle du *Ruta montana* L. avant floraison a révélé la présence de quarante-sept composés chimiques et trente-neuf composés chimiques pendant la floraison. Parmi les constituants huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant floraison, il y a six composés majoritaires, alors que pendant la floraison il y a trois composés majoritaires qui sont aussi majoritaires avant la floraison mais avec des proportions (%) différentes.

Les tableaux ci-dessous présentent les résultats de L'analyse GC/MS de l'huile essentielle du *Ruta montana* L. avant floraison et pendant floraison :

**Tableau n° 17 :** composition des huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant la floraison.

pics	Constituants	T.R	%
1	Sabinene	6.038	1.9
2	$\beta$ -Myrcene	6.707	0.07
3	(+)-4-Carene	7.443	0.06
4	$\square$ -Phellandrene	7.771	0.19
5	Limonene	7.868	2.08
6	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	8.680	0.14
7	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	8.945	0.12
8	2-Nonanone	10.027	0.35
9	2-Nonanol	10.749	0.2
10	2-Decanone	14.319	0.52
11	2-Decanol	15.079	0.11
12	2-Acetoxytridecane	16.681	0.15

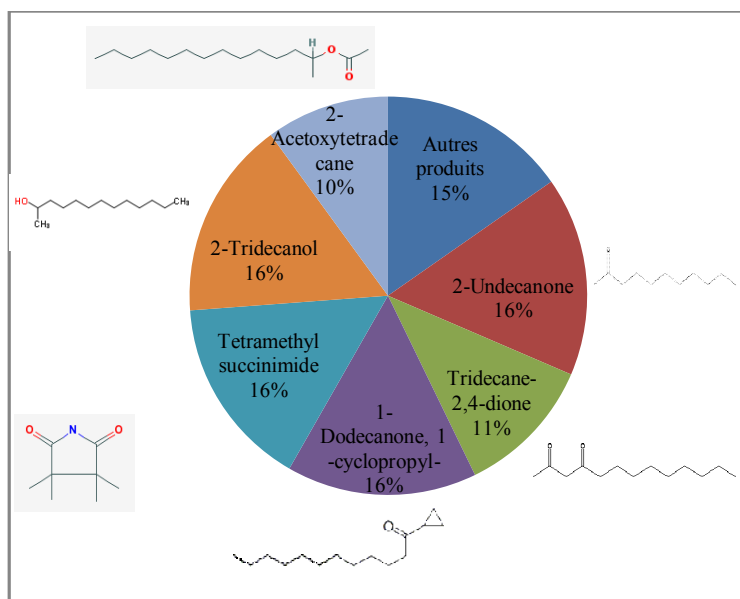
13	1-Norbornanemethanol, acetate	17.888	0.41
14	1-Decanol	18.227	0.1
15	9, 12,15-Octadecatrienal	18.504	0.22
16	2-Undecanone	18.861	<b>16.20</b>
17	2-Tridecanol	19.568	<b>16.07</b>
18	Nonyl acetate	19.850	0.05
19	1-Nonen-3-one, 2-methyl-	20.147	0.17
20	p-Mentha-1,4-dien-7-ol	20.567	0.05
21	(+)-3-Carene, 10-(acetylmethyl)-	22.631	0.06
22	2-Dodecanone	23.213	0.15
23	(+)-Dibenzoyl-L-tartaric acid anhydride	23.302	0.21
24	Benzenemethanol, .alpha.-methyl-, propanoate	23.628	0.07
25	Caryophyllene	24.130	2.61
26	2-Azetidinone, 3, 3,4,4-tetramethyl-	24.500	0.13
27	2-Acetoxytetradecane	25.249	<b>10.06</b>
28	Vinyl decanoate	26.109	0.08
29	à-Phenylethyl isovalerate	26.478	0.17
30	4-Tridecanone	26.643	0.23
31	2-Nonen-4-one	26.798	0.48
32	2-Tridecanone	27.446	0.05
33	à-Bergamotene	27.649	0.79
34	α.-Farnesene	28.173	0.41
35	Tetramethyl succinimide	28.754	<b>15.51</b>
36	Caryophyllene oxide	30.166	0.3
37	Tridecane-2,4-dione	30.700	<b>11.33</b>
38	3-Phenylpropyl chloroacetate	31.147	0.1
39	Acetic acid, 2-propyltetrahydropyran-3-yl ester	31.293	0.1
40	Tetrahydrogeranylacetone	31.826	1.65
41	Z,Z-4,16-Octadecadien-1-ol acetate	32.147	0.11
42	Tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]tridecan-9-ol, 4,4-dimethyl-	32.259	0.2
43	Cyclopentane, 1, 2,3,4,5-pentamethyl-	32.683	0.12
44	7-Methyl-Z-8,10-dodecadienal	35.864	0.18
45	1-Dodecanone, 1-cyclopropyl-	37.679	<b>15.43</b>

46	Isobutyl phthalate	40.331	0.05
47	Methyl palmitate	43.502	0.08
			Total= 99.82 %

Selon les résultats présentés dans le tableau (17), les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant la floraison sont : 2-Undécanone (16,20%), 2-Tridécanol (16,07%), Tetraméthyl succinimide (15,51%), 1-Dodécane, 1-cyclopropyl- (15,43%), Tridécan-2, 4-dione (11,33%), 2-Acétoxytétradécane (10,06%).

Cette huile essentielle est dominée par les cétones principalement: 2-Undécanone.

D'après ces résultats, parmi les composés chimiques des huiles essentielles avant la floraison (HEAF) de *Ruta montana* L. le pourcentage des produits majoritaires est élevé (84,75%). Ces résultats sont bien illustrés à l'histogramme ci-dessous :



**Figure n°19** : composés chimiques des huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant la floraison.

**Tableau n°18** : composition des huiles essentielles de *Ruta montana* L. pendant la floraison.

pics	Constituants	T.R	%
1	□ -Phellandrene	5.476	0.15
2	D-Limonene	7.201	0.11
3	2-Nonanone	9.244	0.63
4	Nonanal	9.667	0.04

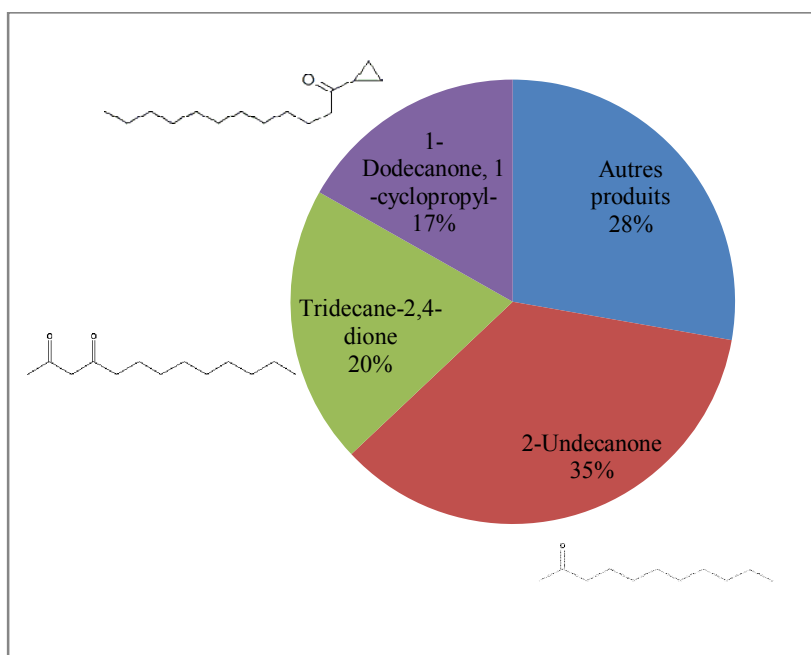
5	Linalol	9.746	0.08
6	4-Terpinenol	12.560	3.48
7	Tetramethyl succinimide	12.899	5.29
8	2-Decanone	13.391	0.82
9	1-Norbornanemethanol, acetate	16.841	0.68
10	2-Undecanone	17.954	<b>35.08</b>
11	2-Tetradecanol	18.430	3.15
12	Tridecane-2,4-dione	21.635	<b>20.19</b>
13	2-Dodecanone	21.955	1.87
14	Caryophyllene	22.831	0.17
15	5-Octen-2-one, 3,6-dimethyl-	23.126	0.14
16	2-Acetoxytetradecane	23.919	1.73
17	2-Undecanone, 6,10-dimethyl-	24.201	1.40
18	Alloaromadendrene oxide-(1)	24.514	0.63
19	E-8-Methyl-7-dodecen-1-ol acetate	25.178	0.46
20	2-Nonadecanone	26.169	0.13
21	Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)-	27.908	0.15
22	2,6-Octadiene-1,8-diol, 2,6-dimethyl-	29.742	0.39
23	Heptadecane-2,4-dione	31.024	0.40
24	Caryophyllene oxide	32.445	0.19
25	Oxalic acid, cyclohexylmethyl tridecyl ester	32.989	0.11
26	7-Methyl-Z-8,10-dodecadienal	33.727	0.24
27	Heptadecane, 2, 6,10,15-tetramethyl-	34.053	0.05
28	1-Dodecanone, 1-cyclopropyl-	36.068	<b>16.75</b>
27	Vinyl decanoate	36.332	0.09
30	Pentadecane-2,4-dione	36.592	0.14
31	Furan, 2-ethyltetrahydro-5-methoxy-2-methyl-	39.017	0.09
32	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl heptyl ester	40.311	0.05
33	Heptadecane	40.973	0.04
34	4-t-Butyl-2-(1-methyl-2-nitroethyl)cyclohexanone	41.066	0.06
35	n-Hexadecanoic acid	42.262	0.07
36	1H-Xanthen-1-one, 2,3,4,9-tetrahydro-9-(2-hydroxy-6-oxo-1-cyclohexenyl)-	46.588	2.56

38	Phytol	46.800	0.24
39	Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	49.557	1.73
			Total=
			99.58
			%

D'après le tableau (18) les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. pendant la floraison sont : 2-Undécanone (35.08%), Tridécanone-2,4-dione (20,19%), 1-Dodécanone, 1-cyclopropyl-(16,75%).

Cette huile essentielle (phase pendant la floraison) est dominée aussi par les cétones.

D'après ces résultats, parmi les composés chimiques des huiles essentielles pendant la floraison (HEPF) de *Ruta montana* L. le pourcentage des produits majoritaires est élevé (72.32%). Ces résultats sont bien illustrés à l'histogramme ci-dessous :



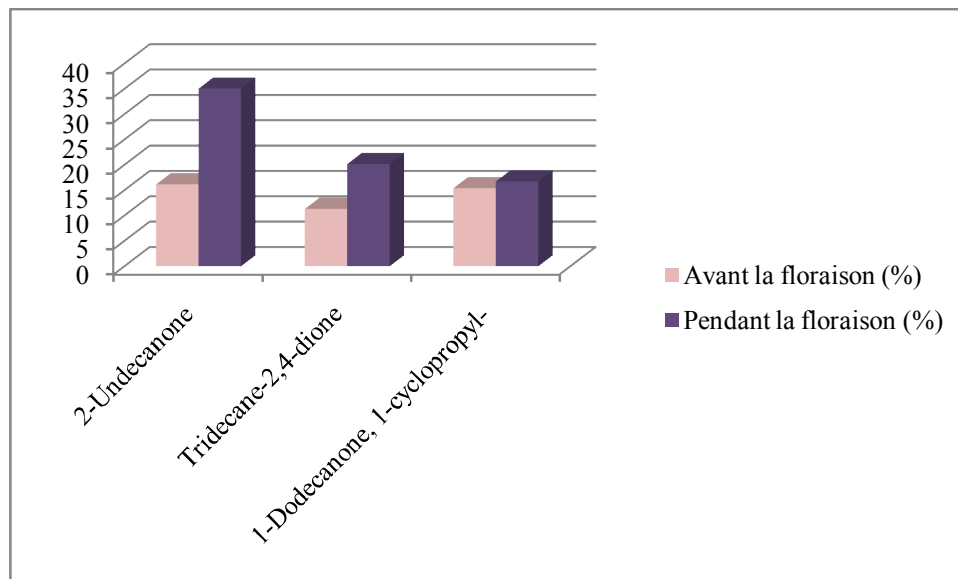
**Figure n°20** : composés chimiques des huiles essentielles de *Ruta montana* L. pendant la floraison.

On a remarqué que les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. pendant la floraison sont aussi majoritaires aux huiles essentielles avant la floraison, alors ce sont des composés communs entre les deux phases (avant et pendant la floraison) : 2-Undécanone, 1-Dodécanone, 1-cyclopropyl, Tridécanone-2,4-dione, mais avec des pourcentages

différentes. Le composé majoritaire 2-Undécanone présente le pourcentage le plus élevé pour les deux cas (avant la floraison=16.20%, pendant la floraison=35.08%). Les mêmes résultats sur des plantes du genre *Ruta* ont obtenu par (**Bagchi et al., 2003 ; Baser et al.,1996;De Feo et al., 2002 ; Dob et al.,2008; El-Sherbeny et al., 2008; Kambouche et al. 2008; Mejri et al., 2010 ; Merghache et al.,2008 ;Mojtaba et al.,2009 ; Pino et al., 1997; Yaacob et al., 1989;Zellagui et al., 2012** ).

Par exemple (**Zellagui et al.2011**) qui a travaillé sur *Ruta Montana* L., a trouvé que le pourcentage de **2-undécanone (60.19%)**, le 2-nonanone (08.63%), monoethylhexyl phtalate (6.46%) decanone (06.26%), le 2-Acetoxytridecane (3.38%), et du 2-tridécanol (3.37 %). Tandis que (**Mejri et al., 2010**) a travaillé sur *Ruta chalepensis* a trouvé que le pourcentage de **2-undécanone (77.18%)**, 2-décanone (8.96%) et 2-dodécanone (2.37%). Alors que (**De Feo, 2002**) qui a travaillé sur *Ruta graveolens* L. a trouvé que le pourcentage d'**undécan-2-one (46.8%)** et nonan-2-one (18.8%). On remarque que le pourcentage de **2-undécanone** pour les trois cas précédant et plus élevé que celle trouvé dans notre cas (avant la floraison 16.20% pendant la floraison 35.08%).

La figure ci-dessous représente les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. communs entre les deux phases:



**Figure n°21:** les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. communs entre les deux phases.

## II.5. Activité anti-oxydante :

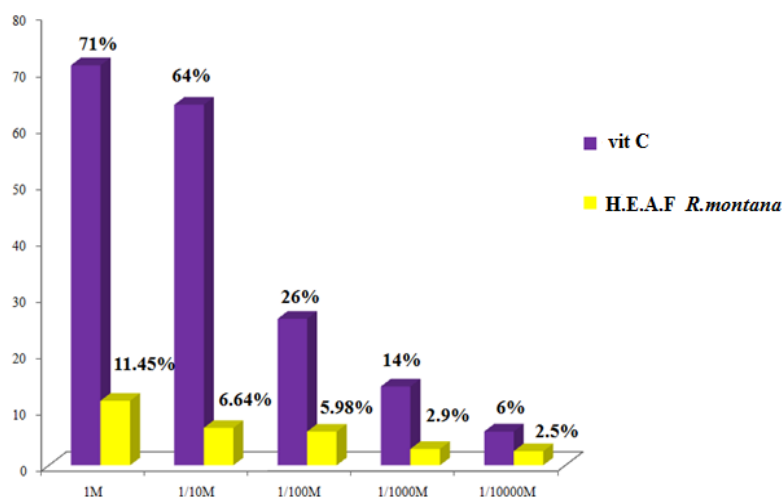
Les résultats peuvent être exprimés en tant que : pourcentage de l'activité antiradicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en

utilisant le paramètre IC50, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

Nos résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts des plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. ont été fait en comparaison avec le standard antioxydant vitamine C.

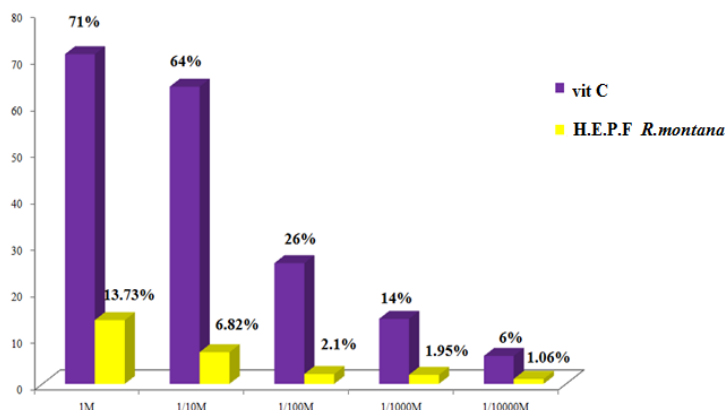
Les résultats d'activité anti-radicalaire de chaque extrait testé vis-à-vis du radical DPPH sont présentés dans les figures ci-dessous :

Les figures 22, 23, 24, représentent les profils de l'activité antiradicalaire obtenus pour les huiles essentielles de *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. aux différentes phases :



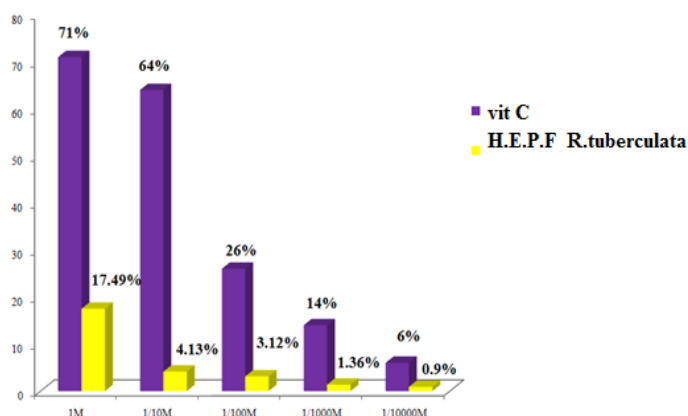
**Figure n° 22 :** L'activité anti-oxydante des huiles essentielles avant la floraison du *Ruta montana* L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.

La plus haute activité de piégeage du radical DPPH (%) était enregistrée à 1M dont le pourcentage est 11.45%. Les huiles essentielles (avant floraison) du *Ruta montana* L. présentent une activité faible par rapport au vitamine C.



**Figure n°23 :** L'activité anti-oxydante d'huiles essentielles pendant la floraison du *Ruta montana* L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.

On a constaté le pouvoir piègeur du radical DPPH le plus élevé à la concentration 1M des huiles essentielles de *Ruta montana* L. (pendant la floraison) qui est 13.73%, mais faibles par rapport à l'antioxydant standard la vitamine C (71%).



**Figure n°24 :** L'activité anti-oxydante d'huiles essentielles pendant la floraison du *Ruta tuberculata* Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations

Le pouvoir piègeur du radical DPPH le plus élevé était enregistré à la concentration 1M des huiles essentielles de *Ruta tuberculata* Forsk. (pendant la floraison) qui est 17.49%, mais faibles par rapport à l'antioxydant standard la vitamine C (71%).

Les trois extraits des huiles essentielles pour les deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. ont un pouvoir piègeur faible du radical DPPH par comparaison avec l'antioxydant standard vitamine C (HERM1=11.45%, HERM2=13.73%, HERT2=17.49%,

vitC=71%). La figure ci-dessous présente une comparaison de l'activité anti-oxydante des trois huiles essentielles de ces deux plantes :

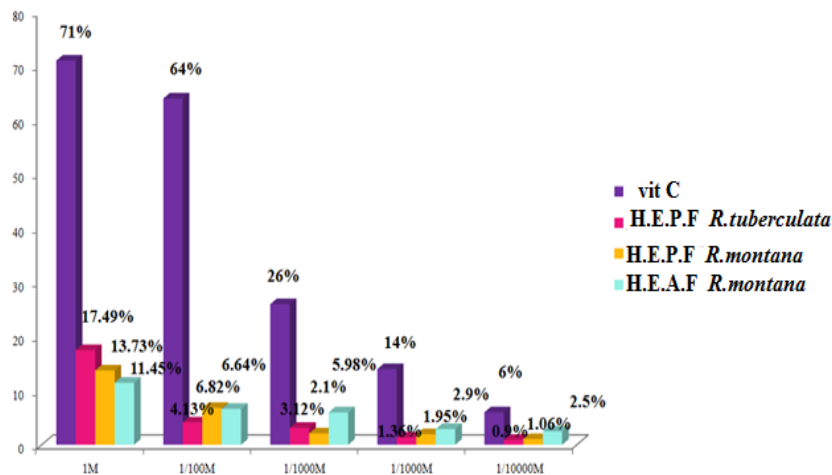


Figure n°25 : L'activité anti-oxydante des trois huiles essentielles pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. contre le radical DPPH à différentes concentrations.

On a remarqué que les huiles essentielles pendant la floraison pour les deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. ont un pouvoir piègeur du radical DPPH plus élevé que celui des huiles essentielles avant floraison. Ces résultats sont en accord avec celle de (Kambouche *et al.*, 2008 ; Zellagui *et al.*, 2012).

Les figures 26 et 27 représentent les profils de l'activité antiradicalaire obtenus pour les extraits coumariniques de *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.

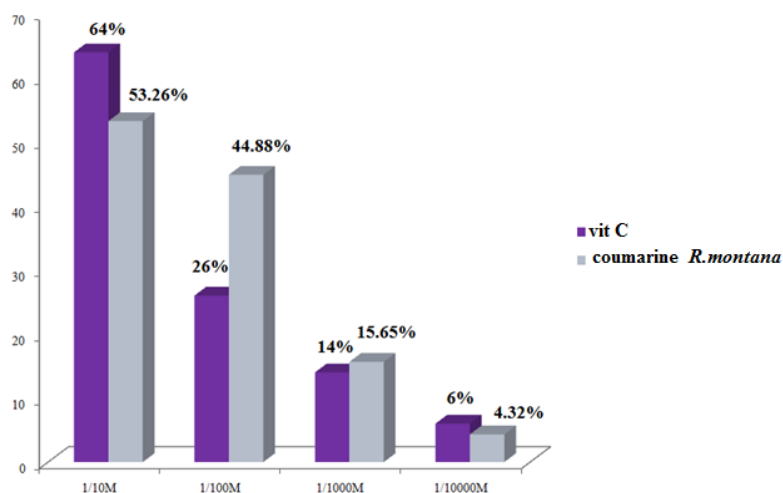
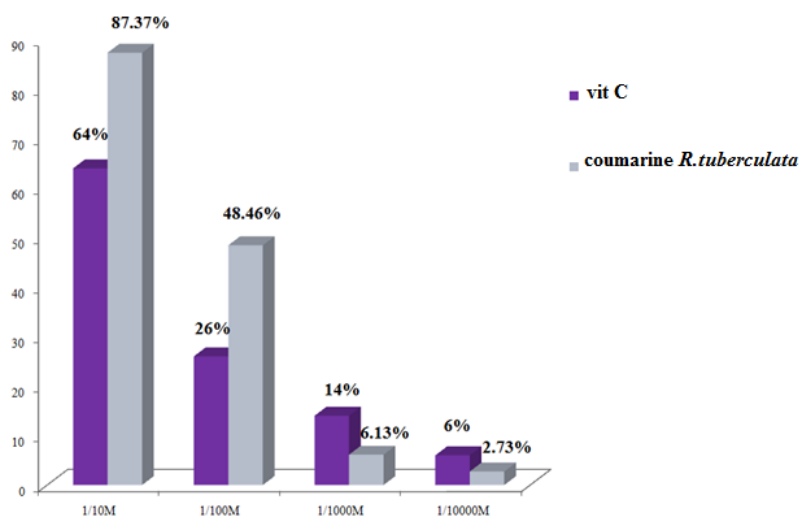


Figure n° 26: L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique du *Ruta montana* L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.

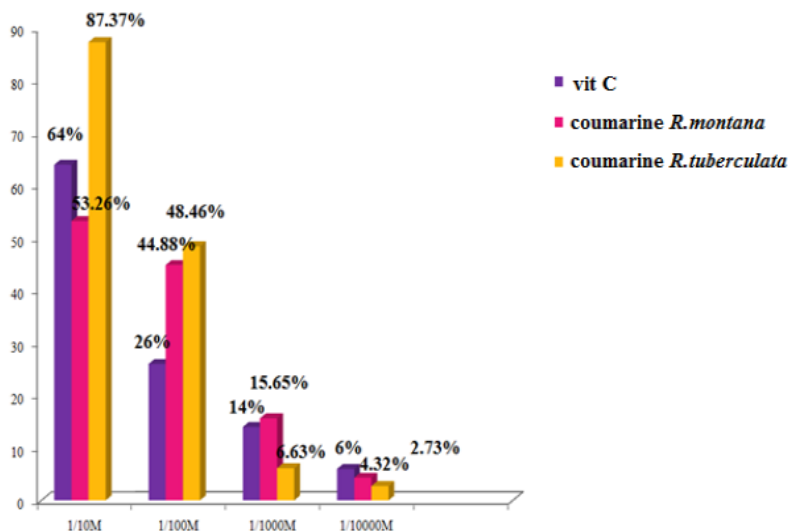
On a constaté que le pouvoir antioxydant le plus élevé d'extrait coumarinique du *Ruta montana* L. est à la concentration 1/10 dont le pourcentage est 53.26%, mais moins que le pouvoir antioxydant du standard (vitamine C) dont à 1/10M est 64%.



**Figure n°27 :** L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique du *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

On a constaté un pouvoir antioxydant élevé d'extrait coumarinique du *Ruta tuberculata* Forsk. à la concentration 1/10 dont le pourcentage est 87.37% et qui est plus élevé que le pouvoir antioxydant du standard (vitamine C) dont à 1/10M est 64%.

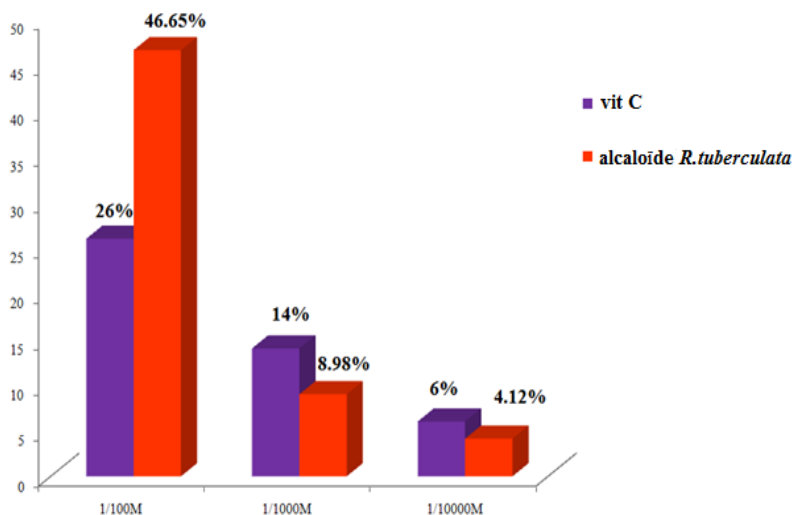
L'extrait coumarinique de *Ruta tuberculata* Forsk. présente le pouvoir antioxydant le plus élevé (dans 1/10M le pouvoir antioxydant est 87.37% ), plus que du *Ruta montana* L. et que de la vitamine C. La figure ci-dessous présente une comparaison de l'activité antioxydante d'extrait coumarinique des deux plantes :



**Figure n°28 :** L’activité anti-oxydante d’extrait coumarinique pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

Nos extraits des coumarines des deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. présentent une activité antioxydante importante. Ces résultats de l’activité anti-radicalaire des extraits des coumarines des deux plantes de *Ruta* sont en accord avec ceux obtenus par (Diwan *et al.*, 2012).

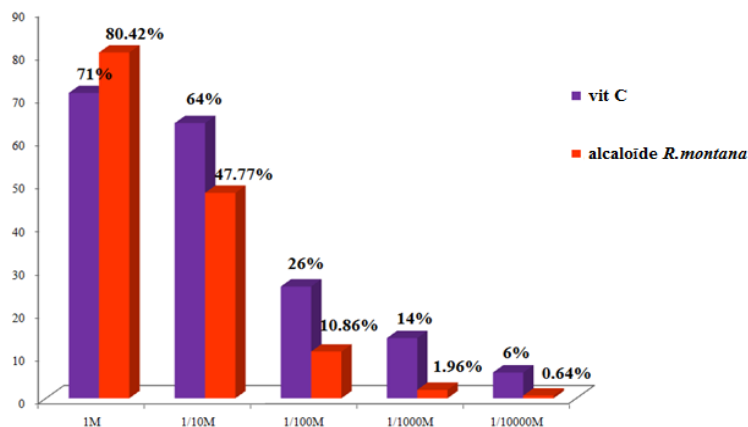
Les figures ci-dessous représentent le profil de l’activité antiradicalaire obtenue pour les extraits alcaloïdiques des deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. :



**Figure n° 29 :** L’activité anti-oxydante d’extrait alcaloïdique du *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

L'extrait alcaloïdique du *Ruta tuberculata* Forsk. montre un pouvoir piègeur du radical DPPH intéressant (dans 1/100M le pouvoir antioxydant est 46.65%) et plus important que celui de la vitamine C (dans 1/100M le pouvoir antioxydant est 26%).

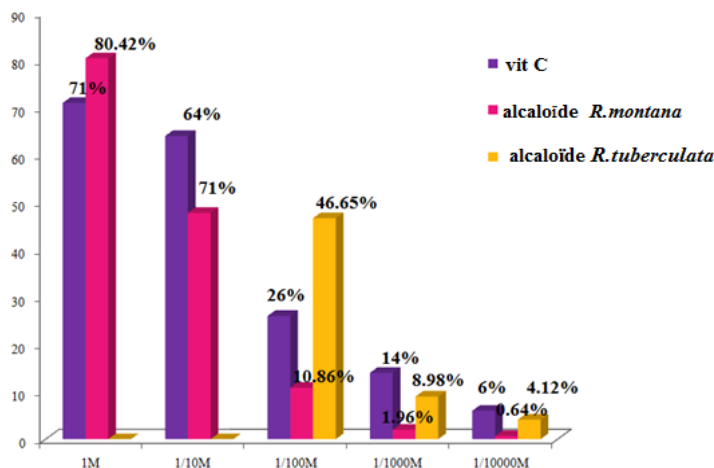
La figure ci-dessous représente le profil de l'activité antiradicalaire obtenue pour les alcaloïdes de la plante de *Ruta montana* L.



**Figure n° 30 :** L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique de *Ruta montana* L. contre le radical DPPH à différentes concentrations.

L'extrait alcaloïdique du *Ruta montana* L. montre un pouvoir piègeur du radical DPPH élevé (dans 1 M le pouvoir antioxydant est 80.42%) et plus important que celui de la vitamine C (dans 1 M le pouvoir antioxydant est 71%).

L'extrait alcaloïdique de *Ruta tuberculata* Forsk. présente un pouvoir antioxydant élevé (dans 1/100M le pouvoir antioxydant est 46.65% ), plus que du *Ruta montana* L. (dans 1/100M le pouvoir antioxydant est 10.86%) et que de la vitamine C (dans 1/100M le pouvoir antioxydant est 26%). La figure ci-dessous présente une comparaison de l'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique des deux plantes :



**Figure n°31 :** L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

On peut dire que nos extraits alcaloïdiques des deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. présentent une activité antioxydante importante. Ces résultats sont en accord avec les études de (Ratheesh et Helen, 2013) qui ont montré que des alcaloïdes de *Ruta graveolens* L. ont un pouvoir antioxydant. En plus Wansi JD et ses collaborateurs (2006) ; (Samita et al., 2013) ont montré que des alcaloïdes de la famille des Rutaceae présente une activité antioxydante .

## II.6. Activité antibactérienne :

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne d'extrait coumarinique de la plante de *Ruta montana* L. par la méthode de diffusion en milieu solide, cette activité a été révélée sur deux souches bactériennes de référence *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 700603 (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif), ensuite pour chaque disque nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes. Les résultats du screening antimicrobien de l'extrait des coumarines de la plante de *Ruta montana* L. sont reportés dans le tableau suivant :

**Tableau n°19** : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait coumarinique de la plante de *Ruta montana* L.

Les souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne *(mm)					
	Dilutions de l'extrait des coumarines du <i>Ruta montana</i> L.					
	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0.5mg/ml	0.25mg/ml
<i>Klebsiella Pneumoniae ATCC 700603</i>	23	15	14	13	12	11
<i>Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	24	22	16	15	13	10

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien de notre extrait coumarinique de la plante *Ruta montana* L., nous avons préféré de les tester contre deux souches bactériennes de différents Gram.

L'extrait coumarinique de *Ruta montana* L., présente une activité antibactérienne importante contre les deux souches bactériennes *Klebsiella Pneumoniae ATCC 700603* et *Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Les effets inhibiteurs augmentent considérablement avec la concentration des extraits. L'activité la plus élevée des extraits coumariniques du *Ruta montana* L., a été remarquée chez *Staphylococcus aureus ATCC 25923* presque à toutes les concentrations d'extrait et la plus élevée à 8mg/ml d'extrait (8mg/ml d'extrait : diamètre de la zone d'inhibition =24mm), aussi chez *Klebsiella Pneumoniae ATCC 700603* à la même concentration l'activité antibactérienne est un peu moins que celle de la 1<sup>ère</sup> souche mais aussi importante (8mg/ml d'extrait : diamètres de zone d'inhibition de *Klebsiella Pneumoniae* = 23 mm). En plus on a constaté que les deux souches sont sensibilisées aux faibles concentrations d'extraits.

La sensibilité aux différentes huiles est classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira *et al.*, 2005).

De ce fait on conclue que ces deux souches sont extrêmement sensible (+++) vis-à-vis l'extrait coumarinique du *Ruta montana* L.

Une étude a été effectuée sur *Ruta graveolens* a montré que les coumarines pures présentaient une très modeste activité contre les bactéries (Ojala *et al.*, 2000). Dans notre cas, on a

constaté une activité antibactérienne importante contre les deux souches cela peut être expliqué par la charge du disque quelle influe l'activité antimicrobienne (**Rasooli *et al.*, 2008**).

## Conclusion et Perspectives

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

Ce travail avait pour objectifs d'évaluer l'activité anti-oxydante des extraits (des coumarines, huiles essentielles avant et pendant la floraison) de *Ruta montana* L. et des extraits (des alcaloïdes, des coumarines et des huiles essentielles pendant la floraison) de *Ruta tuberculata* Forsk. et d'évaluer l'activité antimicrobienne d'extrait des coumarines de *Ruta montana* L.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que *Ruta montana* L. est plus riche en polyphénols que *Ruta tuberculata* Forsk.

Le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  a révélé que *Ruta montana* L. est plus riche en flavonoïdes que *Ruta tuberculata* Forsk.

L'analyse qualitative par CCM montre que l'extrait coumarinique de *Ruta montana* L. est plus riche et diverse que celui de *Ruta tuberculata* Forsk.

L'analyse qualitative par GCMS des huiles essentielles de *Ruta montana* L. avant la floraison sont : 2-Undécanone (16,20%), 2-Tridécanol (16,07%), Tetraméthyl succinimide(15,51%), 1-Dodécanone, 1-cyclopropyl-(15,43%), Tridécanone-2, 4-dione (11,33%), 2-Acétoxytétradécane (10,06%) et pendant la floraison sont : 2-Undécanone (35,08%), Tridécanone-2,4-dione (20,19%),1-Dodécanone, 1-cyclopropyl-(16,75%).

L'extrait alcaloïdique de *Ruta tuberculata* Forsk a un pouvoir antioxydant (46.65%) plus élevé que celui de la vitamine C (26%)

L'extrait coumarinique de *Ruta montana* L. montre un pouvoir antioxydant (53.26%) un peu moins que de la vitamine C (64%). Alors que l'extrait de coumarine de *Ruta tuberculata* Forsk. présente le pouvoir antioxydant le plus élevé (87.37%), plus que de *Ruta montana* L. et que de la vitamine C.

Les trois extraits des huiles essentielles pour les deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. ont un pouvoir piègeur faible du radical DPPH par rapport au standard vitamine C (HERM1=11.45%, HERM2=13.73%, HERT2=17.49%, vitC=71%). Aussi les huiles essentielles pendant la floraison pour les deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. ont un pouvoir piègeur du radical DPPH plus élevé que celui des huiles essentielles avant floraison.

L'extrait coumarinique de *Ruta montana* L. présente une bonne activité antimicrobienne (à 8mg/ml d'extrait : diamètres de zone d'inhibition de *Klebsiella Pneumoniae*=23mm, diamètres de zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus*=24mm).

Ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur ces deux plantes *Ruta tuberculata* Forsk. et *Ruta montana* L. en se focalisant sur l'extrait coumarinique et l'extrait alcaloïdique, à savoir fractionnement des extraits voir même isolement de substances qui sous tendent les diverses activités détectées. De plus, des études approfondies concernant l'identification des composés par des méthodes plus performantes seront nécessaires. Pour mieux évaluer l'activité antioxydante, d'autres études *in Vitro* et *in Vivo* seraient intéressantes.

-A-

**Abdel-Hameed, E.S. (2009).**Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem*, 114:1271-1277.

**Andersen, M., Markham, K.R. (2006).** Flavonoids : Chemistry, Biochemistry and Applications, Ed: CRC Press: Taylor et Francis, p: 1-247.

**Armando, G.S. (2005).**Medicinal plants, the leaves and the flowers. México Desconocido.

-B-

**Bagchi, G.D., Dwivedi, P., Mandal, S., Naqvi, A.A., Kumar, S. (2003).** Essential oil constituents of *Ruta chalepensis* plants grown in India. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, P.O.C.I.M.A.P., Lucknow, India. *Indian Perfumer* ,47(1): 39-41.

**Bardeau, F. (2009).** Les huiles essentielles. Lanore. Paris, p : 26.

**Barnard, D.L., Xu, Z.Q., Stowell, V.D., Yuan, H. (2002).** Coumarins and pyranocoumarins, potential novel pharmacophores for inhibition of measles virus replication. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 13: 39–59.

**Bataille, X. (2000).** LIVRE interactif de chimie.

**Baser, K.H., Ozek, T., Beis, S.H. (1996).** Constituents of the essential oil of *Ruta chalepensis* L. from Turkey. Medicinal Plants Research Center, Anadolu Univ, Eskisehir, Turk. *Journal of Essential Oil Research*, 8(4): 413-414.

**Belkassam, A. (2009).** L'influence des facteurs climatiques sur un métabolite secondaire de la plante médicinale *Ruta montana* L. mémoire magistère. Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Université l Arbi Ben Mehidi Oum El Bouaghi, Algerie

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

**Benzie, I. F.F., Strain, J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem*, 239: 70-76.

**Bertrand, C., Fabre, N., Moulis, C. (2004).** A new coumarin glucoside, coumarins and alkaloids from *Ruta corsica* roots. *Fitoterapia*, 75 : 242–244

**Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier .Le Cahier des Techniques de l'Inra, p : 79-82

**Bottineau, M. (2010).** Botanique, systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier, Paris, p : 772-773.

**Boudiaf, K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister. Setif.

**Bourgaud, F., Gravot, A., Milesti, S., Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161: 839-851.

**Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E. (2006).** Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem Rev*, 5 : 293–308.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. 3<sup>e</sup> édition. Tec et Doc. Paris, p : 263-800.

-C-

**Casamajor, Ph., Descroix, V. (2009).** La prescription ciblée en odontologie. Wolters Kluwer France, p : 30.

**Catier, O., Roux, D. (2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3<sup>e</sup> édition. Wolters kluwer. France, p : 89.

**Chevalier, P. (2012).** L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. Institut national de santé publique. Québec.

**Ciulel I. (1983).** “ Methodologies for analysis of vegetable drug. Romania”. P: 1-26.

**Coste, H.A. (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et contrées limitrophes, Tome 1- Second Tirage, Paris - Librairie des Sciences et des Arts, p :269.

**Couderc, V.C. (2001).**Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire. Toulouse.

**Couplan, F. (2012).**Les plantes et leur noms, histoires insolites. Édition Quæ, Paris. P:155 - 156.

**Cowan, M. (1999).** Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564–582.

**Crépy, M.N. (2006).** Dermatoses professionnelles aux végétaux. *Méd Trav*, 105: 77-90.

**-D-**

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

**De Freitas, T.G., Augusto, P.M., Montanari, T. (2005).** Effect of *Ruta graveolens* L. on pregnant mice. *Contraception*, 71:74–77.

**Degryse, A.C. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentiels.EHESP.France.

**Delmeyda, W. (2001).** Méthodes analytiques en chimie instrumentale. Chromatographie sur couche mince.

**De Premare, A.L. (1999).** Langue et culture marocaines, dictionnaire arabe-français.Tome 12.L'Harmattan, Maroc, p : 187.

**Diwan, R., Shinde, A., Malpathak, N. (2012).** Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta graveolens* L. In Vitro Culture Lines. *Journal of Botany*, 685427:6

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

**Dob, T., Dahmane, D., Gauriat-Desrudy, B., Daligault, V. (2008).** Volatile constituents of the essential oil of *Ruta chalepensis* L. subsp. *Angustifolia* (Pers.) P. Cout. Laboratoire de Molecules Bio-Actives et Valorisation de la Biomasse, Ecole Normale Superieure, Kouba-Algiers, *Algeria. Journal of Essential Oil Research*, 20(4): 306-309.

**-E-**

**El-Sherbeny, S., Khalil, M., Hussein, M., Aly, M. (2008).** Effect of sowing date and application of foliar fertilizers on the yield and chemical composition of rue (*Ruta graveolens* L.) herb. Cultivation and Production of Medicinal and Aromatic Plants Department, National Research Centre, Giza, Egypt. *Herba Polonica*, 54(1): 47-56.

**EMEA, (1999).** European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Veterinary Medicinal Products: *Ruta graveolens*. EMEA, 98 (542): 1- 4.

**-F-**

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372-379.

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

**Fernandez-Gutierrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1220-1234.

**Forment, M., Roques, H. (1941).** Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Ed. OFALAC, p : 59.

**-G-**

**Garneau, F.X. (2001).** Le matériel végétal et les huiles essentielles. LASEVE-UQAC, Chicoutimi. Québec.

**Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A.,**

**Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005).**The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1841-1856.

**Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N. (1999).** *Flavour and Fragrance J*, 14: 322.

**Guignard, J.L. (2000).**Biochimie végétale.2<sup>ème</sup> édition. Dunod. Paris, p: 155.

#### **-H-**

**Harbone, J.B. (1984).** Phytochemical Methods. A Guide to modern Techniques of Plant analysis. 2eme édition.

**Hemmer, M. (2010).** Conception, synthèse et évaluation biologique de dérivés coumariniques en tant qu'agents anticancéreux potentiels. Thèse de doctorat. Université de Liège.

**Hehn, A. ( 2007).** Thèse de doctorat : Métabolisme secondaire : les cytochromes P 450 s acteurs de l'adaptation des plantes à leur environnement, Strasbourg.

**Hernandez Ochoa, L.R. ( 2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse.

**Hininger- Favier, I. (2013).** Le Stress oxydant. Laboratoire de Biologie du stress Oxydant. Faculté de Pharmacie. Grenoble.

**Hopkins, W.G. (2003).** Physiologie végétale. De boeck. Bruxelles, p : 269.

#### **-J-**

**Jain, P.K., Johshi, H. (2012).** Coumarin: chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (06): 236-240.

**Jan, B., Krystyana, W., Kazimerz, G., Powel, G., Dariusz, M. (2002).**Geographic and Environmental Influences on the variation of Essential oil and Coumarin in *Crithmum maritimum* L..*Journal of Herbs,Spices et Medicinal plants*, 9: 4.

**Jie Tan, X., Li, Q., Hui Chen, X., Wei Wang, Z., Yuan Shi, Z., Shum Bi, K., Jia, Y.(2008).** Simultaneous determination of 13 bioactive compounds Herba *Artemisia scopariae* (Yin Chen) from different harvest seasons by HPLC-DAD. Shenyang Pharmaceutical University.PR China.

**Juan, B., Del Castillo, F.R., Migel, S. (1984).** *Phytochemistry*, 23: 2095.

-K-

**Kabouche, Z., Benkiki, N., Seguin, E., Bruneau, C. (2003).**A new dicoumarinyl ether and two rare furocoumarins from *Ruta montana*. *Fitoterapia*, 74: 194–196

**Kambouche, N., Merah, B., Bellahouel, S., Bouayed, J. (2008).**Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta montana* L. Essential Oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food*, 11(3): 593-595.

**KAR, A. (2007).** Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: New Age International Publishers, p: 1-30.

**Kostova, I., Antoaneta, I., Bozhana, M., Iris, K. (1999).** Alkaloids and Coumarins from *Ruta graveolens*. *Monatshefte für Chemie*, 130: 703-707.

**Kostova, I. (2005).** Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents. *Curr.Med. Chem.-Anti-cancer Agents*, 5: 29-46.

**Kostova, I., Momekov, G., Stancheva, P. (2007).** New Samarium (III), Gadolinium (III) and Dysprosium (III) Complexes of Coumarin-3-Carboxylic Acid as Antiproliferative Agents. *Metal-Based Drugs*, 10: 1-8.

**Kuzovkina, N., Szarka, Sz., Héthelyi, É., Lemberkovics Szöke, E. (2009).** Composition of Essential Oil in Genetically Transformed Roots Of *Ruta graveolens*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(6): 846-8.

-L-

**Lacy, A., O’Kennedy, R. (2004).** Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current pharmaceutical design*, 10: 3797-3811.

**Lahouel, M., Boutabet, Kh., Kebsa, W., Alyane, M. (2010).** Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(10):712-720.

**Lamarck, J.B.M., Poiret, J.L.M. (1804).** Encyclopédie méthodique: Botanique. Vol 6. L'institut national de France, Paris, p : 337.

**Lauk ,L., Manganoa, K., Rapisarda b, A., Ragusa b, S., Maiolino, L.(2004).** Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta Chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 90 : 267–272

**Lièvre, K. (2004).** Thèse de doctorat : Modification de la composition en molécules pharmaceutiques (furocoumarines) de la Rue officinale (*Ruta graveolens*) par transformation génétique, Strasbourg.

-M-

**Maiza, K., Brac De LA Perriere, R.A., Hammiche, V. (1993).** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional, Médicament et Aliments : L'Approche Ethnopharmacologique, p:169.

**Makkar, H.P.S., Blummel, M., Borowy, N.K., Becker, K. (1993).** Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of Science and Food Agriculture*, 61: 161–165.

**Marcheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires. Presses polytechniques et universitaire romandes. Lausanne, p : 121.

**Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H.F. (2007).** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*, 12: 423-432.

**Mautrait, C., Raoult, R. (2009).**La préparation: mode d'emploi.2<sup>e</sup> édition.Wolters kluwer.France, p : 104.

**Mejri, J., Manef, A., 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: 671-673.

**Mensure.O., Sezen, T. (1996).** Drug yield and Essential oil of *Thymus vulagarise* L. as in Influenced by Ecological and ontogenetical Variation. çukurova university. Faculty university. Faculty of Agriculture. Department of Field Grops Adana. Turkey.

**Mercan, D. (2010).**Le stress oxydatif. Unilabs. Lausanne.

**Merghache, S., Hamza, M., Bendahou, M., Tabti, B. (2008).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Ruta chalepensis* L. essential oil from Algeria. Department of Chemistry, Laboratory of Organic Chemistry, Natural Substances and Analysis, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4) : 2989-2996.

**Milpied, H. (2009).**Progrès en dermato-allergologie.John libbey eurotext.france.p128.

**Mohammedi, Z. (2006).**Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister.Tlemcen.

**Mohr, N., Budzi, K.H., Tawil, B.A.H. (1982).** *Phytochemistry*,7(9).

**Mojtaba, S., Parviz, A., Mohammad, S.T., Abdolhossein, R. (2009).** Volatile composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran.Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. *World applied sciences journal*, 7(1) : 124-126.

**Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*. 38: 565-570.

**Mukhopadyay, A.K. (2009).**Essential oils, naturel and synthetic.Amani international publishers.Germany.

-N-

**Neffati, M., Marzouk, B. (2007).**Changes in Essential oil and Fatty Acid Composition in Coriander(*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions.Biotechnologic Center Borj-Cedria Technopark. Tunisia.

-O-

**Ojala, T. (2001).**Biological screening of plant coumarins. University of Helsinki.Finland.

**Ojala, T., Remes, S., Haansuu , P., Vuorela , H., Hiltunen , R., Haahtela, K., Vuorela, P. (2000).** Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 299–305.

**Oliveira, M., Hurabielle, M., Campos, I.F., Olivera, C., Santos, R. (2005).** Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hypis suaveolens*. Universidade Federal de Goiás,Brazil.

**Ozenda, P. (1991).** Flore et végétation du sahara. 3eme Edition. Centre National de la Recherche Scientifique (C.N.R.S), Paris.

-P-

**Pelli, K., Lyly, M. (2003).**les antioxydants dans l'alimentation.VTT Biotechnology .Finlande.

**Poisson, J.E. (2013).** Alcaloides. Encyclopedia universalis. France.

**Pino, J., Rosado, A., Fuentes, V. (1997) .**Leaf oil of *Ruta graveolens* L. grown in Cuba.. Instituto Investigaciones, Industria Alimenticia, Havana, Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 9(3): 365-366.

**Primose, S. (2004).** Principes de génie génétique.6<sup>eme</sup> édition.De boeck.Bruxelles.p :223.

-Q-

**Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertique méridionales.Tome 2.CNRS, Paris, p : 592.

-R-

**Raghav, S.K., Gupta, B., Agrawal, C., Goswami, K., Das, H.R. (2006).** Anti-inflammatory effect of *Ruta graveolens* L. in murine macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 104: 234-239.

**Rahal, K. (2005).** Standardization de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4ème édition. Alger, p : 116.

**Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B. (2008).** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International J of Food Microbiology*, 122:135-139.

**Ratheesh, M., Helen, A. (2006).** Oral administration of alkaloid fraction from *Ruta graveolens* inhibits oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic rabbits. *Chem Pharm Bull*, 54(3):292-6.

**Raven, P. H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. (2000).** Biologie végétale. De Boeck. Paris, p : 32.

**Roques, J. (1809).** Plantes usuelles, indigènes et exotiques. 2<sup>e</sup> édition. Arnold Arboretum. Paris, p : 119.

**Roques, J. (1835).** Phytographie médicale, histoire des substances héroïques et des poisons. Tome 3. B. Cormon et Blanc libraires. Lyon et Paris, p : 180.

**Rouxel, T. (1989).** Les phytoalexines et leur intervention dans la résistance hypersensible aux champignons phytopathogènes. *Agronomie*, 9 : 529-545.

-S-

**Sagen, A.L., Gertsch, J., Becker, R., Heilman, J., Sticher, O. (2002).** Quinolizidine alkaloids from the curare adjuvant *Clathrotropis gllocophylla* *Phytochemistry*, 61:975-978

**Saidani Tounsi, M., WAidi, W., Ouerghemmia, I., Msaada, K., Smaoui, A. (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.

**Sanchez-Moreno, C. (2002).** Method used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8:121-137.

**Seidemann, J. (2005).** World Spice Plants, economic usage, botany, taxonomy. Springer, Germany, p : 323.

**Samita, N., Sandjo, L.P., Ndiege, I.O., Hassanali, A., Lwande, W. (2013).** Zanthoxoaporphines A–C: Three new larvicidal dibenzo[de,g]quinolin-7-one alkaloids from *Zanthoxylum paracanthum* (Rutaceae). *Beilstein J. Org. Chem*, 9: 447–452.

**Singh, I.P., Bharate, B.S., Bhutani, K.K. (2005).** Anti-HIV natural products. *Current Science*, 89 : 269-290.

**Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Suisse, p: 22-23.

**Spichiger, R., Figeat, V., Jeanmonod, D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3eme édition. Press polytechniques et universitaires romandes, Lausannes, p : 272.

**Spino, C., Dodier, M., Sotheeswara, S. (1998).** Anti-HIV coumarins from *Calophyllum* seed oil. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 8: 3474-3478.

**Svoboda, K., Svoboda, T. (2000).** Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Microscopix Publications, p: 7-12.

-T-

**Tabata, H., Nakae, Y., Yoshimi, F. (2004).** Hair growth promoter containing plant extract of *Ruta* in Rutaceae. Mitsui Chemicals, Inc. Japan.

**Touati, D., Rahman, A.U., Ulubelen, A. (2000).** Alkaloids from *Ruta Montana*. *Phytochemistry*, 53 : 277-279.

-V-

**Villars G. (1971).** Chromatographie sur couche minces. Tec et Doc(Ed). Paris, p : 370.

-W-

**Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M. (1984).** Plant Drug Analysis, springer, Berlin.

**Wansi, JD., Wandji, J., MevaaL, M., Waffo AF, K., Ranjit, R., Khan, S.N., Asma, A. (2006).** Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant acridone alkaloids from the stem bark of *Oriciopsis glaberrima* ENGL. (Rutaceae). *Chem Pharm Bull*, 54(3): 292-6.

**Widodo, G.P., Sukrasno, S.E., Adnyna, I.K. (2008).** A coumarin from *Ageratum* Leaves (*Ageratum conyzoides* L.). *International Journal of Pharmacology*, 4:5 6-59.

**Wilt.,F, Miller, G.(1992).**Seasonal variation of coumarin and flavonoid concentrations in persistent leaves of Wyoming big sagebrush (*Aand Ecology.Volumertemisia tridentate* ssp.Wyomingensis:Asteraceae).*Biochemical Systematics and Ecology*.Volume 20, p :53-67.

-Y-

**Yaacob, K.B., Abdullah, C., Joulain, D. (1989).**Essential oil of *Ruta graveolens* L.Dep. Chem., Univ. Kebangsaan Malaysia, Selangor, Malay. *Journal of Essential Oil Research*, 1(5): 203-7.

-Z-

**Zellagui, A., Belkassam, A., Belaidi, A., Gherraf, N. (2012 a).** Environmental impact on the Chemical Composition and yield of essential oils of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L and their antioxidant and antibacterial activities.*Advances in Environmental Biology*, 6(10): 2684-2688.

**Zellagui, A., Derouiche, K., Gherraf, N., Rhouati, S. (2012 b).** Characterisation of Secondary Metabolites and Evaluation of Antibacterial activity of two Algerian species: *Launaea glomerata* (Cass. Hook. F. and *Cynara cardunculus* var. *silvestris* (Lamk.), *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2 (5):736-740.

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

## Annexe n° 1 : rendement

**Tableau n° 20** : rendement d'extrait méthanolique

L'espèce	Rendement (%)
<i>Ruta montana</i> L.	23.94%
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk	12%

**Tableau n° 21** : rendement d'extraits alcaloïdiques

L'espèce	Rendement (%)
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk	0.05%
<i>Ruta montana</i> L.	14.28%

**Tableau n° 22** : rendement d'extraits coumariniques

L'espèce	Rendement (%)
<i>Ruta montana</i> L.	0.15%
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk	0.07%

**Tableau n° 23** : rendement des huiles essentielles

L'espèce	Rendement (%)
<i>Ruta montana</i> L.(avant la floraison)	0.36%
<i>Ruta montana</i> L.(pendant la floraison)	0.75%
<i>Ruta tuberculata</i> Forsk (pendant la floraison)	0.55%

## Annexe n° 2 : analyse GC /MS des huiles essentielles

**Tableau n° 24** : les composés majoritaires des huiles essentielles de *Ruta montana* L. communs entre les deux phases.

Produits majoritaire	Avant la floraison (%)	Pendant la floraison (%)
2-Undecanone	16.20	35.08
1-Dodecanone, 1-cyclopropyl-	15.43	16.75
Tridecane-2,4-dione	11.33	20.19

### Annexe n° 3 : activité antioxydante

**Tableau n° 25 :** L'activité anti-oxydante d'extrait alcaloïdique pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

concentration	vit C	R.montana (%)	R.tuberculata(%)
1M	71	80.42	/
1/10M	64	47.77	/
1/100M	26	10.86	46.65
1/1000M	14	1.96	8.98
1/10000M	6	0.64	4.12

**Tableau n° 26 :** L'activité anti-oxydante d'extrait coumarinique pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations.

concentration	vit C	R.montana (%)	R.tuberculata(%)
1/10M	64	53.26	87.37
1/100M	26	44.88	48.46
1/1000M	14	15.65	6.13
1/10000M	6	4.32	2.73

**Figure n° 27 :** L'activité anti-oxydante des trois huiles essentielles pour les deux plantes *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk contre le radical DPPH à différentes concentrations

concentration	vit C	H.E.P.F <i>R.tuberculata</i>	H.E.P.F <i>R.montana</i>	H.E.A.F <i>R.montana</i>
1M	71	17,49	13.73	11,45
1/10M	64	4,13	6.82	6,64
1/100M	26	3,12	2.1	5,98
1/1000M	14	1,36	1.95	2,9
1/10000M	6	0,9	1.06	2,5

## المخلص

إن الهدف من هذه الدراسة هو إجراء مقارنة فيتوكيماوية و فارما كولوجية لنباتين ينتميان للعائلة السذبية الأول ينمو في الشمال الشرقي للجزائر و هو *Ruta montanna* L. والثاني نبات صحراوي من واد سوف وهو *Ruta tuberculata* Forsk.

أولا قمنا باستخلاص : الزيوت الطيارة, القلويدات, الكومارينات, الفينولات المتعددة .

ثم قمنا باختبار الفعل المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات الفعالة على حسب الكميات المتوفرة وقد كانت النتائج جيدة مع الكومارينات ( *Ruta montanna* L.: 53.26%, *Ruta tuberculata* Forsk.: 87.37% ) ومتوسطة مع القلويدات ( *Ruta tuberculata* Forsk.: 46.65% ).

أما الزيوت الطيارة فكان لها فعل مضاد للأكسدة ضعيف. أما النشاط المضاد للبكتيريا لكومارينات *Ruta montanna* L. فكان جيد وأعطت النتائج التالية : ضد بكتيريا *Klebsiella* (23 مم) و *Staphylococcus* (24 مم).

كما حظيت الدراسة لتحليل الزيت الخام ل *Ruta montanna* L. خلال مرحلتين من النمو تميزت بوجود مركبات أعظمية هي :

2-Undecanone; Tridecane-2,4-dione; 1-Dodecanone, 1-cyclopropyl

**الكلمات المفتاحية:** *Ruta montanna* L., *Ruta tuberculata* Forsk., القلويدات, الكومارينات, الزيوت الطيارة, الفينولات المتعددة, الفعل المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للبكتيريا.

## Résumé

Le but de cette étude est de faire une comparaison phytochimique et pharmacologique entre deux plantes qui appartiennent à la famille Rutaceae, la première se pousse dans le nord-est de l'Algérie qui est *Ruta montanna* L. et la deuxième c'est une xérophyte récupéré d'Oued Souf qui est *Ruta tuberculata* Forsk.

D'abord on a extrait: les huiles essentielles, les alcaloïdes, les coumarines, les polyphénols.

Ensuite, on a testé le pouvoir antioxydant de ces extraits bioactives et prendre en considération les quantités disponibles, les résultats ont été intéressants avec les coumarines (*Ruta tuberculata* Forsk. : 87.37%, *Ruta Montanna* L.: 53.26%) moyenne avec les alcaloïdes (*Ruta tuberculata* Forsk. : 46.65%). Tandis que les huiles essentielles ont un pouvoir antioxydant faible. L'activité antibactérienne des coumarines de *Ruta montanna* L. était intéressante et a donné les résultats suivants: contre la bactérie *Klebsiella* (23 mm) et *Staphylococcus* (24 mm).

On a analysé l'huile essentielle de *Ruta montanna* L. pendant deux phases et on a constaté ces composés majoritaires : 2-Undecanone; Tridecane-2,4-dione; 1-Dodecanone, 1-cyclopropyl

**Mots clés :** *Ruta montanna* L., *Ruta tuberculata* Forsk., alcaloïde, coumarine, huile essentielle, Composés phénoliques, pouvoir antioxydant, activité antibactérienne.

## Summary

In this study we tried to make a comparison between two plants belonging to the Rutaceae family, the first grows in the northeast of Algeria which is *Ruta montanna* L. and the second is a xerophytes which grows in Oued Souf which is *Ruta tuberculata* Forsk.

Research has focused in phytochemical and pharmacological point of view, where many extracts were performed which are: essential oils, alkaloids, coumarins, polyphenols.

We tested the antioxidant power of these bioactive extracts and we take into consideration the quantities available, the results were interesting with coumarins (*Ruta tuberculata* Forsk. : 87.37% *Ruta Montanna* L.: 53.26%) average with alkaloids (*Ruta tuberculata* Forsk. : 46.65%). While the essential oils have low antioxidant power.

Antibacterial activity of coumarins of *Ruta montanna* L. was interesting and gave the following results: against *Klebsiella* (23 mm) and *Staphylococcus* (24 mm).

We analyzed the essential oil of *Ruta montanna* L., and the main components were: 2-Undecanone; Tridecane-2,4-dione; 1-Dodecanone, 1-cyclopropyl

**Keywords:** *Ruta Montanna* L., *Ruta tuberculata* Forsk., alkaloid, coumarin, essential oil, phenolic compounds, antioxidant, antibacterial activity.