République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد– تلمسا ن

Université Abou Bekr Belkaid-TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الارض والكو ن

Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen –

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : ABDELMALEK Nihad

Thème

Étude des propriétés biologique de *Ruta Chalepensis*

Soutenu publiquement, le **24 /06 /2026**, devant le jury composé de :

Présidente	**BENARIBA Nabila**	**Professeur**	**Université de Tlemcen**
Examinatrice	**DJELTI Farah**	**MCA**	**Université de Tlemcen**
Encadrante	**BENDIABDALLAH Amel**	**MCA**	**Université de Tlemcen**
Co-encadrante	**MEDJDOUB Houria**	**MCA**	**Université de Tlemcen**

Année Universitaire 2025/2026

ملخص

نبات السذاب (.Ruta chalepensis L) هو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي بفضل غناه بالمركبات النشطة بيولوجياً. يهدف هذا العمل إلى إجراء فحص كيميائي نباتي للمستخلصات، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات للمستخلصات والزيوت العطرية لنبات السذاب المجموع من ثلاث مناطق جزائرية: سيدي بريش (جبال، تلمسان)، سبع شيوخ (سهل، تلمسان) والبليدة (مشتلة، شمال)، مع دراسة تأثير منطقة القطف على هذه الخصائص.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و FRAP وCAT ، في حين تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات باستخدام اختبار تثبيط تمسخ ألبومين البيض.

أظهرت المستخلصات الإيثانولية أعلى نشاط مضاد للأكسدة في اختباري DPPH وCAT ، بينما كشف اختبار FRAP عن اختلافات تعكس اختلاف آليات العمل الخاصة بكل طريقة. كما أظهرت المستخلصات المدروسة نشاطاً مضاداً للالتهابات مهماً من خلال تثبيط تمسخ البروتينات.

تبرز هذه النتائج الإمكانات التي يمتلكها نبات السذاب كمصدر طبيعي للمركبات النشطة بيولوجياً ذات الخصائص المضادة للأكسدة والالتهابات، مما قد يبرر استخدامه في المجالات الصيدلانية والعلاجية.

الكلمات المفتاحية : السذاب(Ruta chalepensis) ، المستخلصات النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، FRAP، القدرة المضادة للأكسدة الكلية، النشاط المضاد للالتهابات، تمسخ الألبومين.

Résumé

Ruta chalepensis L. est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en raison de sa richesse en composés bioactifs. Ce travail vise à réaliser un criblage phytochimique des extraits, à évaluer les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits et huiles essentielles de *Ruta chalepensis* récoltée dans trois régions algériennes :Sidi Berich (montagne, Tlemcen), Sebaa Chioukh (plaine, Tlemcen) et Blida (pépinière, Nord), tout en étudiant l'influence de la région de récolte.

L'activité antioxydante a été évaluée par les tests DPPH, FRAP et CAT, tandis que l'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf.

Les extraits éthanoliques ont présenté les activités antioxydantes les plus importantes dans les tests DPPH et CAT, alors que le test FRAP a révélé des différences liées aux mécanismes d'action propres à chaque méthode. Les extraits étudiés ont également montré une activité anti-inflammatoire intéressante par inhibition de la dénaturation des protéines.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *Ruta chalepensis* comme source naturelle de composés bioactifs à propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ce qui pourrait justifier son utilisation dans les domaines pharmaceutique et thérapeutique.

Mots-clés : *Ruta chalepensis*, extraits végétaux, activité antioxydante, DPPH, FRAP, capacité antioxydante totale, activité anti-inflammatoire, dénaturation de l'albumine.

Abstract

Ruta chalepensis L. is a medicinal plant widely used in traditional medicine due to its richness in bioactive compounds. This work aims to perform a phytochemical screening of the extracts, to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of the extracts and essential oils of Ruta chalepensis collected from three Algerian regions: Sidi Berich (mountain, Tlemcen), Sebaa Chioukh (plain, Tlemcen) and Blida (nursery, North), while studying the influence of the harvest region on these properties.

Antioxidant activity was evaluated using DPPH, FRAP and CAT assays, while anti-inflammatory activity was evaluated using the egg albumin denaturation inhibition test.

Ethanolic extracts exhibited the highest antioxidant activities in DPPH and CAT assays, whereas the FRAP test revealed differences related to the specific mechanisms of action of each method. The studied extracts also showed interesting anti-inflammatory activity through inhibition of protein denaturation.

These results highlight the potential of Ruta chalepensis as a natural source of bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, which could justify its use in pharmaceutical and therapeutic fields

Keywords : Ruta chalepensis, plant extracts, antioxidant activity, DPPH, FRAP, total antioxidant capacity, anti-inflammatory activity, albumin denaturation.

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à **Dieu le Tout-Puissant** de m'avoir accordé la force, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

À mon encadrante et enseignante, **Madame BENDIABDALLAH Amel**, Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Votre méthode d'accompagnement dynamique, ainsi que votre soutien constant, ont été une véritable source d'inspiration tout au long de mon parcours de recherche. Votre encadrement n'a pas été un simple suivi académique, mais une présence motivante qui m'a aidée à surmonter les difficultés et à avancer avec confiance. Vous avez apporté à ce travail une grande valeur, tant sur le plan scientifique qu'humain. Je vous remercie sincèrement pour votre temps, votre bienveillance et la passion que vous transmettez dans votre manière d'enseigner. J'ai eu beaucoup de chance de vous connaître.

Je tiens à remercier chaleureusement ma co-encadrante, **Madame MEDJDOUB Houria**, pour sa disponibilité, ses encouragements constants, ainsi que pour son soutien et sa grande gentillesse. Son aide précieuse m'a été inestimable tout au long de ce travail.

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury :

- **Madame BENARIBA Nabila**, Professeur , qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de soutenance. Ayant été l'une de mes enseignantes, je la remercie pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi que pour la qualité de ses enseignements tout au long de mon parcours universitaire.

- **Madame DJELTI Farah**, MCA, pour avoir accepté d'être l'examinatrice de ce mémoire. Je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

J'adresse également un grand merci à **Monsieur SELLES Chaouiki**, Professeur et Directeur du laboratoire des substances naturelles et bioactives « LASNABIO », pour m'avoir accueillie au sein de sa structure.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'ingénieure du laboratoire, **Madame Kheira**, pour son assistance technique, sa bienveillance et sa présence constante.

Je tiens enfin à adresser mes remerciements à **Mesdames Manel et Ikram**, doctorantes, pour leur aide, leur disponibilité et leurs précieux conseils tout au long de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail de tout mon cœur

À ceux qui ne m'ont jamais lâché la main quand j'ai trébuché, et qui n'ont jamais cessé de prier pour moi lorsque je me suis absentée...

À **mon père bien-aimé**, ce soutien indéfectible et ce phare qui a illuminé les chemins les plus difficiles. Je te dédie cette réussite. C'est toi qui m'as appris que l'ambition n'a pas de limites et que le travail ainsi que la persévérance sont les clés qui ouvrent toutes les portes fermées. Tu as toujours été mon modèle. Un simple merci ne suffit pas à exprimer ma gratitude. J'espère que cette réussite sera le premier fruit de ce que tu as semé avec tant de générosité.

À **ma mère**, ma source de sérénité et de réconfort, à toi qui as veillé tard pour mon succès, prié pour ma réussite et partagé chacune de mes peines avant même que je ne les exprime. Merci, car tu as toujours été mon soutien inépuisable et le refuge vers lequel je me tourne chaque fois que le chemin devient difficile.

À **ma sœur bien-aimée**, **Asma**, mon étoile qui illumine ma vie, et à **mon frère Zine Dine**. Merci pour votre soutien constant, votre affection et votre présence rassurante qui m'ont toujours accompagnée.

À mon oncle, **Chakroune Ouassini**, qui a été présent dans les moments les plus difficiles de ma vie. J'ai toujours trouvé en toi une oreille attentive, une présence rassurante et un soutien précieux. Merci d'avoir toujours été là lorsque j'avais besoin de toi. Ta confiance, ta bienveillance et ta présence ont fait de toi cette personne sur laquelle j'ai toujours pu compter.

À ma chère amie et sœur de cœur, **Khawla Boumediene**, dont la présence a illuminé même les jours les plus sombres de ce parcours académique. Ton amitié est un trésor inestimable. Merci pour ton affection, ton soutien et tous les beaux moments partagés.

À **Dr Nehar Benameur** pour ton aide précieuse et toutes les opportunités que tu m'as offertes moi et mes collègues notamment la publication d'un travail scientifique d'echanges virtuels dans un journal international et la participation dans une conférence internationale online. Merci de m'avoir encouragé d'avancer et d'explorer de nouveaux horizons dans mes participations internationales.

À tous ceux qui m'ont enseigné.

À toutes les personnes qui m'ont **aidée de près** ou de loin.
Et enfin , je dédie **ce travail** à toutes les personnes qui **m'aiment** et que **j'aime**.

LISTE DES ABREVIATIONS

- **H.E** : Huile essentielle
- **R:** *Ruta*
- **CH:** *Chalepensis*
- **P.I** : pourcentage d'inhibition
- **DPPH** : Réduisent le diphényl picryl-hydrazyle
- **CAT** : capacité antioxident totale
- **FRAP: F**erric **R**educing **A**bility of **P**lasma
- **A.A :** acide ascorbique
- **E :** extrait
- **UV :** Ultraviolet
- **P.A :** partie aérienne
- **P.R :** partie racine
- **IC_{50} :** concentration inhibitrice à 50 %
- **EC_{50} :** La concentration qui correspond à une absorbance de 0.5
- **ml :** millilitre
- **NaCl:** chlorure de sodium
- **HCl :** acide hydrochlorique
- **% :** pourcentage
- **HD :** hydrodistillation
- **SOD :** superoxyde dismutase
- **ROS :** Espèces réactives de l'oxygène
- **ERO :** Espèce réactif de l'oxygène.
- **RL :** radical libre
- **TCA :** Acide trichloracétique

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du procédé d'hydrodistillation (HD)	**5**
Figure 2 : Représentation schématique du procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	**6**
Figure 3 : Représentation photographique du système d'extraction par expression à froid	**6**
Figure 4 : Illustration schématique du système d'hydrodistillation assistée par micro-ondes	**7**
Figure 5 : Représentation schématique du procédé d'extraction au CO_2 supercritique	**8**
Figure 6 *: Ruta chalepensis* L	**9**
Figure 7 : déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydantes	**14**
Figure 8 : Représentation schématique de la régulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défense antioxydants	**16**
Figure 9 : Les Étapes clés du processus inflammatoire	**17**
Figure 10 : Localisation géographique des trois sites de récolte de *Ruta chalepensis* L. en Algérie (a :Sebaa Chioukh, plaine, Tlemcen; b : Sidi Berich, montagne, Tlemcen ; c : Blida, pépinière, Nord).	**19**
Figure 11 : Montage d'hydrodistillation	**20**
Figure 12: Montage à reflux	**21**
Figure 13: Montage d'un extracteur de soxhlet	**22**
Figure 14 : Résultats de quelques tests phytochimique	**23**
Figure 15 : Protocole d'évaluation de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH•.	**25**
Figure 16 : Solutions préparées pour l'évaluation du pouvoir réducteur par la méthode FRAP.	**26**
Figure 17 : Changement de couleur des échantillons après réalisation du test FRAP.	**27**
Figure 18 : Résultats du test CAT (capacité antioxydante totale) des extraits de *Ruta chalepensis* et de l'acide ascorbique (référence).	**29**
Figure 19: Rendements en H.E (%) des parties aériennes de *Ruta chalepensis* selon l'état de la plante et selon la région de récolte	**32**
Figure 20 : *Ruta chalepensis* L. récoltée dans la région de Sidi Berich (Tlemcen) (Photo personnelle, 2026).	**34**
Figure 21 :HE de région Blida (verte)	**34**
Figure 22 :HE de région Sidi berich (jaune)	**34**

Figure 23 :HE des racines Sidi berich (jaune)	**34**
Figure 24 :Extrait aqueux (Décoction) Sidi Berich	**35**
Figure 25:Extrait éthanolique (decoction) Sebaa chioukh	**35**
Figure 26:Extrait éthanolique (decoction) Sebaa chioukh	**36**
Figure 27 :Extrait du mélange eau-acétone (macération) Blida	**36**
Figure 28 : Variation de la coloration du radical DPPH selon la concentration de l'extrait éthanolique (Sidi Berich).	**40**
Figure 29 : Évolution du virage colorimétrique du DPPH en présence de doses croissantes d'huile essentielle (Sidi Berich).	**40**
Figure 30 : Test de décoloration du DPPH par l'extrait éthanolique (Sebaa Chioukh).	**40**
Figure 31 : Comparaison du pouvoir antioxydant (test DPPH) des extraits et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* selon leur concentration.	**43**
Figure 32 : Capacité antioxydante de l'acide ascorbique (témoin de référence) vis-à-vis du radical DPPH.	**43**
Figure 33 : Comparaison des valeurs d'IC50 (mg/mL) entre les différents extraits de *Ruta chalepensis* et l'acide ascorbique (test DPPH).	**44**
Figure 34 : Comparaison de l'efficacité antioxydante (IC50) entre l'huile essentielle de Sidi Berich et l'acide ascorbique (test DPPH).	**46**
Figure 35 : Évaluation de la capacité de réduction du fer ferrique par les extraits de *Ruta chalepensis*	**48**
Figure 36 : Activité antioxydante de l'acide ascorbique mesurée par le test FRAP.	**49**
Figure 37 : Comparaison des concentrations efficaces (EC50) du pouvoir réducteur (FRAP) pour les différents extraits de *Ruta chalepensis* et l'acide ascorbique.	**50**
Figure 38 : Capacité antioxydante totale (CAT) de l'acide ascorbique utilisée comme standard.	**51**
Figure 39 : Comparaison de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait hydrolat de Sidi Berich en comparaison avec le diclofénac.	**54**
Figure 40 : Comparaison des valeurs d'IC_{50} entre l'huile essentielle et l'extrait hydrolat de Sidi Berich par rapport au diclofénac.	**55**

Liste des tableaux

Tableau 1 : Variations des rendements en huiles essentielles des parties aériennes de *Ruta chalepensis* en fonction du site de récolte et de l'état physiologique de la plante.	**31**
Tableau 2 : Rendements des différents extraits des parties aériennes de *Ruta chalepensis*	**36**
Tableau 3 : Caractérisation des familles chimiques des extraits de *Ruta chalepensis*	**38**
Tableau 4 : Évaluation du pouvoir antioxydant (inhibition du DPPH en %) des extraits et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*.	**41**
Tableau 5 : Analyse du pouvoir réducteur (absorbances) des différents extraits de *Ruta chalepensis*.et de l'acide ascorbique.	**47**
Tableau 6 : Évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de *Ruta chalepensis* en équivalents d'acide ascorbique (mg Eq AA/g d'extrait). Les résultats sont présentés en Moyenne ± Écart-type.	**51**
Tableau 7 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'HE, de l'extrait d'hydrolat de sidi berich et du Diclofénac.	**53**

Table de matière

INTRODUCTION GENERALE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 3

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES SUBSTANCES NATURELLES ET LES EXTRAITS VÉGÉTAUX

1.1. L'importance des plantes dans la médecine d'aujourd'hui 3
1.3. Extraction par solvants liquides (Extraits bruts) 3
1.4 Méthodes d'obtention des huiles essentielles 4

CHAPITRE II : ÉTUDE BOTANIQUE ET CHIMIQUE DE L'ESPÈCE *RUTA CHALEPENSIS*

2.1. Description de la plante et classification 9
- **Origine et répartition géographique 10**

2.2. Composition phytochimique : une richesse moléculaire 10
2.4. Utilisations traditionnelles et pharmacologiques de *Ruta chalepensis* 11
2.6. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles 12
Toxicité de l'espèce *Ruta* 13

CHAPITRE III : LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES RECHERCHÉES

3.1. LE STRESS OXYDATIF ET LE POUVOIR ANTIOXYDANT 14

3.1.1. DEFINITION ET ORIGINE DU STRESS OXYDATIF 15
3.1.2. CONSEQUENCES DES DOMMAGES CELLULAIRES 15
3.1.3. LES MECANISMES DE DEFENSE ANTIOXYDANTE 15
3.1.4. DISTINCTION ENTRE ANTIOXYDANTS NATURELS ET SYNTHETIQUES 16
A. Les antioxydants synthétiques 16
B. Les antioxydants naturels 16

3.2. LE PROCESSUS INFLAMMATOIRE ET LES MECANISMES D'INHIBITION .17

3.2.1. LES ETAPES DE LA REACTION INFLAMMATOIRE 17
3.2.2. LES PRINCIPAUX MEDIATEURS DE L'INFLAMMATION 17
3.2.3. INHIBITION ET ROLE DES SUBSTANCES NATURELLES 18

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV: MATÉRIALE ET METHODE

OBJECTIF : 19

IDENTIFICATION 19

IV.2. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES: 20

IV.3. EXTRACTION DES HYDROLATS : 20

IV.4. PREPARATION DES EXTRAITS : 21

IV.4.1. PREPARATION DES EXTRAITS AQUEUX , ETHANOÏQUE ET EAU -ACETONIQUE : 21
- **Décoction : 21**
- **Soxhlet : 21**

- **Macération :. 22**

IV.5. DETERMINATION DES RENDEMENTS EN HUILES ESSENTIELLES ET DES EXTRAITS : 22

IV.6. TESTS PHYTOCHIMIQUES : 22

- **Les alcaloïdes : 23**
- **Les composés polyphénoliques : 23**

IV.7. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE : 24

IV.7.1. PIEGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH : 24
IV.7.2. METHODE DE LA REDUCTION DU FER (FRAP) : 26
IV.7.3. CAPACITE ANTIOXYDANTE TOTALE (CAT): 29

IV.8 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE : 30

IV.8.1 Méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf : 30

CHAPITRE V : RÉSULTATS ET DISCUSSION

Analyse des rendements d'extraction 37
C. Évaluation du profil phytochimique (Screening phytochimique) 38
V.2.1. EVALUATION DU POUVOIR ANTI-OXYDANT DES EXTRAITS ET DES HUILES ESSENTIELLES : 40
V.2.1.1. Évaluation du potentiel antioxydant 40
Analyse des capacités de piégeage du radical DPPH 42
Détermination et interprétation de l'IC50 45
Discussion des résultats 46
V.2.1.2. Évaluation du pouvoir réducteur (Test FRAP) 48
IV.2.1.3. Mesure de la Capacité Antioxydante Totale (CAT) 52

V.2.2 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE *IN VITRO* 54

CONCLUSION GENERALE 58

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 60

Introduction générale

Le recours aux produits phytothérapeutiques connaît un regain d'intérêt considérable à l'échelle mondiale, malgré les avancées majeures de la médecine conventionnelle et de la pharmacologie de synthèse. La biodiversité végétale constitue un réservoir immense et encore partiellement inexploité de molécules bioactives. En effet, les plantes médicinales, par leur capacité à synthétiser des métabolites secondaires variés, offrent des solutions alternatives pour le traitement de nombreuses pathologies complexes **(Al-Majmaie et al., 2021)** .

En Algérie, l'usage de la flore locale dans les soins traditionnels occupe une place prépondérante, transmise de génération en génération comme un héritage socio-culturel et scientifique précieux **(Merghache et al., 2014).**

Parmi les taxons les plus emblématiques de la région méditerranéenne, le genre *Ruta* (famille des Rutaceae) se distingue par ses nombreuses vertus thérapeutiques. L'espèce *Ruta chalepensis* L., communément appelée « Fidjel » ou « Rue de Chalep », est particulièrement prisée en ethnopharmacologie algérienne pour ses propriétés antispasmodiques, emménagogues et anti-inflammatoires **(Al-Said et al., 1990).** Cette plante est une véritable usine biochimique, produisant des classes chimiques diverses telles que les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes et une fraction volatile riche en cétones et en esters **(Al-Majmaie et al., 2021; Dob et al., 2008).**

Toutefois, la qualité et l'efficacité d'un extrait végétal ou d'une huile essentielle changent. Elles dépendent étroitement de facteurs extrinsèques et intrinsèques. D'une part, le milieu pédoclimatique (nature du sol, altitude, pluviométrie) influence l'expression du métabolisme secondaire, créant ainsi une variabilité chimique appelée « chimiotype » **(Dob et al., 2008) .** D'autre part, la nature du solvant utilisé pour l'extraction conditionne la richesse moléculaire de l'extrait final. L'utilisation de solvants de polarités différentes, comme l'eau et l'éthanol, permet de cibler des familles de molécules distinctes, tandis que l'hydrodistillation permet d'isoler la fraction volatile de la plante **(Tounsi et al., 2011).**

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude. L'objectif de ce mémoire est d'étudier les propriétés biologiques de *Ruta chalepensis*. Notre problématique repose sur l'influence de

l'origine géographique et du procédé d'extraction sur le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire de la plante particulièrement pour les spécimens récoltés dans trois régions Algérienne.

Afin de répondre à cette problématique, notre étude s'articule autour des axes suivants :

Le manuscrit débute par une **introduction générale**, suivie d'un **premier volet consacré à la synthèse bibliographique**. Cette partie aborde les généralités sur les substances naturelles et les extraits végétaux, avant de se concentrer sur l'étude botanique et chimique de *Ruta chalepensis*, ainsi que sur ses activités biologiques reconnues.

La **seconde partie** est dédiée à la démarche expérimentale, à la présentation des résultats et à leur interprétation. Elle s'organise autour de trois points majeurs :

1. **Le processus d'extraction :** l'obtention des huiles essentielles, des hydrolats et des extraits organiques à partir d'échantillons collectés dans différentes régions d'Algérie.
2. **L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante :** réalisée par le biais de trois méthodes complémentaires.
3. **L'étude de l'activité anti-inflammatoire :** mesurée par le test de dénaturation thermique des protéines.

Ce travail s'achève par une **conclusion générale** ouvrant sur des **perspectives** de recherche futures. À travers cette étude, nous esperons apporter des données scientifiques rigoureuses afin de contribuer à la valorisation de *Ruta chalepensis* dans les domaines de la biochimie appliquée et de la pharmacognosie.

Partie 1 :
Synthèse bibliographique

CHAPITRE I :

GÉNÉRALITÉS SUR LES SUBSTANCES NATURELLES ET LES EXTRAITS VÉGÉTAUX

1.1. L'importance des plantes dans la médecine d'aujourd'hui

Depuis l'Antiquité, les êtres humains utilisent les plantes pour se soigner. Même si la chimie moderne permet aujourd'hui de fabriquer beaucoup de médicaments en laboratoire, les substances naturelles restent essentielles. En fait, une grande partie des médicaments que nous utilisons en pharmacie proviennent directement ou indirectement des végétaux **(Newman & Cragg, 2020)**. En Algérie, l'usage des plantes comme la Rue (*Ruta*) est encore très présent dans les familles pour traiter des problèmes de santé quotidiens, ce qui montre que ce savoir traditionnel est toujours vivant **(Tounsi et al., 2011; Al-Majmaie et al., 2021)**.

1.2. Le métabolisme secondaire : une stratégie de survie biochimique

Au sein du règne végétal, on distingue deux types de métabolismes. Alors que le métabolisme primaire assure la survie de la plante (photosynthèse, respiration), le métabolisme secondaire produit des molécules appelées « métabolites secondaires » et ce sont celles qui nous intéressent car elles ont des effets thérapeutiques sur l'homme. Ces derniers ne participent pas directement à la croissance, mais sont essentiels pour la survie de la plante dans son écosystème : ils agissent comme des signaux de communication, des agents de protection contre les rayons UV ou des molécules de défense contre les herbivores et les micro-organismes.

Trois classes de métabolites secondaires montrent une importance particulière :

- **Les composés phénoliques :** Il s'agit de la famille la plus vaste. On y trouve les acides phénoliques et les flavonoïdes (comme la rutine). Leur structure chimique, riche en groupements hydroxyles (-OH), leur confère une capacité remarquable à piéger les radicaux libres, d'où leur rôle d'antioxydants naturels **(Tounsi et al., 2011).**
- **Les alcaloïdes :** Ce sont des molécules azotées souvent dotées de propriétés biologiques puissantes. Chez la Rue, les alcaloïdes quinoléiques sont les plus fréquents et font l'objet de nombreuses recherches pour leurs effets antimicrobiens **(Al-Majmaie et al., 2021) .**
- **Les composés volatils (les huiles essentielles) :** Principaux constituants des huiles essentielles, ils sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante et possèdent souvent des propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires **(Al-Said et al., 1990; Tounsi et al., 2011)**.

1.3. Extraction par solvants liquides (Extraits bruts)

L'extraction constitue l'étape fondamentale où les molécules actives sont séparées de la matrice végétale. Le choix du solvant est important, car son efficacité dépend directement de

sa polarité. En fonction de l'affinité chimique des composés recherchés, plusieurs solvants peuvent être utilisés(« A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation », 2015) **(Azwanida, 2015)**:

- **L'extraction aqueuse :** L'eau est le solvant le plus polaire. Elle est principalement utilisée pour isoler les molécules hydrophiles, telles que les sucres, les hétérosides et certains tannins. Cette méthode est celle qui se rapproche le plus de l'usage traditionnel (infusion ou décoction), permettant ainsi de valider scientifiquement les remèdes populaires.
- **L'extraction éthanolique :** L'éthanol est un solvant particulièrement polyvalent. Grâce à sa polarité intermédiaire, il possède la capacité de rompre les membranes cellulaires et d'extraire une vaste gamme de métabolites, notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes et certains terpènes. Il permet généralement d'obtenir des rendements plus élevés que l'eau pour les molécules ayant un intérêt thérapeutique marqué.
- **L'extraction par le mélange acétone-eau :** Ce mélange souvent utilisé à un ratio de 70/30 est efficace pour la récupération des composés phénoliques. L'ajout d'acétone à l'eau facilite l'extraction des tannins et des flavonoïdes de haut poids moléculaire. Dans les travaux de phytochimie, ce mélange est réputé pour briser les complexes qui lient les polyphénols aux protéines ou aux polysaccharides de la plante, offrant ainsi un extrait brut très riche en molécules d'intérêt thérapeutique

1.4 Méthodes d'obtention des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles consiste à isoler les métabolites secondaires **volatils** stockés dans les structures sécrétrices de la plante (glandes, poils ou poches). Le choix de la technique dépend de la fragilité de la plante et de la localisation de l'essence.

1.4.1. L'hydrodistillation (Méthode de référence au laboratoire)

C'est la technique la plus ancienne et la plus utilisée pour les travaux de recherche, notamment pour l'étude de *Ruta chalepensis*. Le matériel végétal est totalement immergé dans un ballon rempli d'eau. L'ensemble est porté à ébullition. La chaleur brise les parois des cellules sécrétrices, libérant ainsi l'huile essentielle. Celle-ci, étant volatile, est entraînée par la vapeur d'eau vers un réfrigérant où elle se condense. Le mélange liquide (eau + huile) est ensuite

récupéré dans un essencier (type Clevenger). La séparation se fait naturellement par différence de densité (decantation) : l'huile, généralement plus légère, surnage au-dessus de l'eau aromatique (hydrolat). Il est crucial de noter que la composition de ces huiles est extrêmement sensible au temps de distillation et à la température appliquée, ce qui nécessite une standardisation rigoureuse du protocole **(Dob et al., 2008) .**

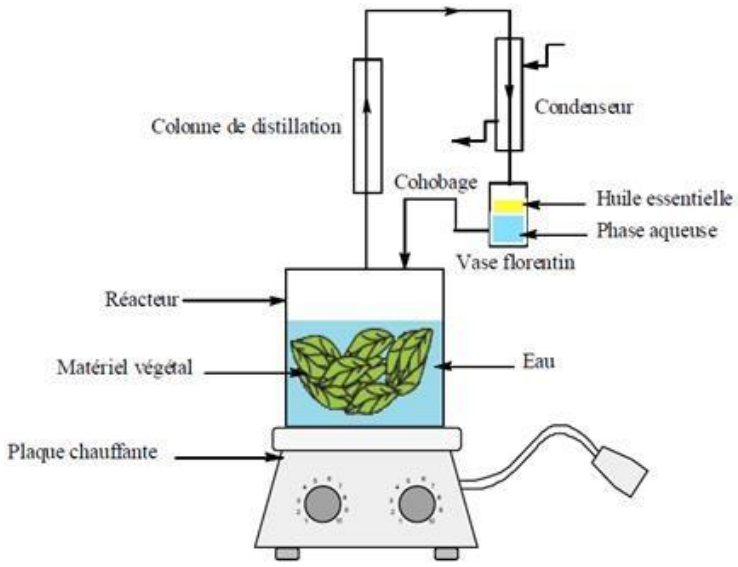


Figure 1 : Représentation schématique du procédé d'hydrodistillation (HD) **(Nadjib & Amine, 2019)**

1.4.2. L'entraînement à la vapeur d'eau (Distillation à la vapeur)

Contrairement à l'hydrodistillation, la plante n'est pas en contact direct avec l'eau bouillante. Elle est déposée sur une grille perforée située au-dessus du niveau de l'eau. C'est la vapeur d'eau injectée qui traverse la masse végétale.

Cette méthode limite les phénomènes d'hydrolyse et de dégradation thermique des molécules fragiles. Elle est la méthode standard pour la production industrielle d'huiles essentielles de haute qualité.

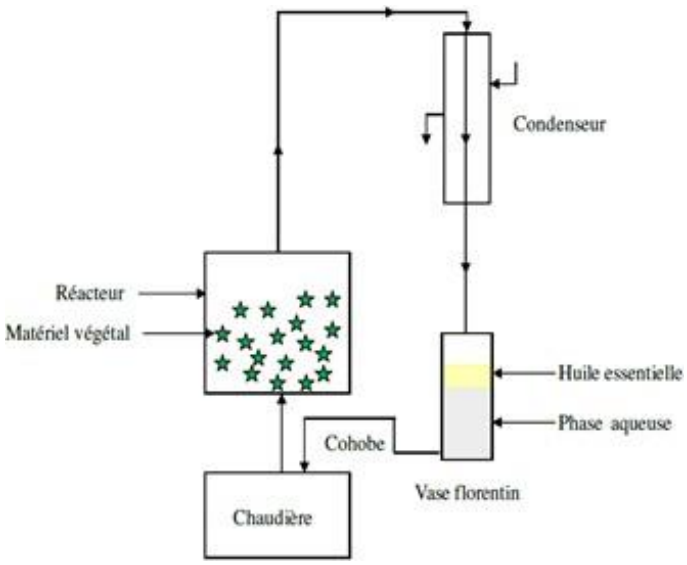


Figure 2 : Représentation schématique du procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EVE) **(Nadjib & Amine, 2019)**

1.4.3. L'expression à froid (Presse mécanique)

Cette méthode est spécifiquement réservée aux fruits de la famille des Rutacées (Citrus : citron, orange, bergamote). L'essence se trouve dans de larges poches situées dans le péricarpe (le zeste). On exerce une pression mécanique à température ambiante pour briser ces poches et libérer l'essence.

Puisqu'il n'y a pas de chauffage, le produit obtenu est appelé « essence » et non « huile essentielle », car il reste identique à la substance naturelle présente dans le fruit frais.

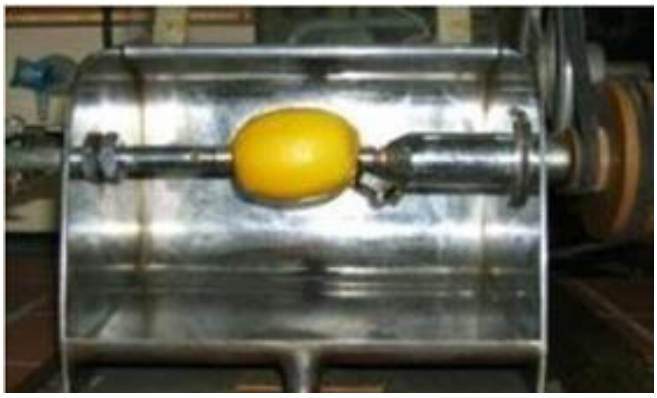


Figure 3 : Représentation photographique du système d'extraction par expression à froid **(Chenni & El Abed, 2017) .**

1.4.4. L'extraction par solvants organiques

On utilise des solvants volatils (hexane, éthanol, éther de pétrole) pour solubiliser les molécules aromatiques. Après évaporation du solvant, on obtient une pâte parfumée appelée « concrète », qui, après lavage à l'alcool et filtration, donne « l'absolu ».

Cette méthode peut laisser des traces de solvants chimiques dans le produit final, ce qui la rend moins adaptée à un usage thérapeutique strict par rapport à la distillation.

1.4.5. Méthodes innovantes et "Vertes"

De nouvelles techniques cherchent à réduire le temps d'extraction et la consommation d'énergie :

- **L'extraction assistée par micro-ondes :** Les micro-ondes chauffent l'eau interne de la plante, provoquant l'éclatement rapide des cellules et la libération de l'huile.

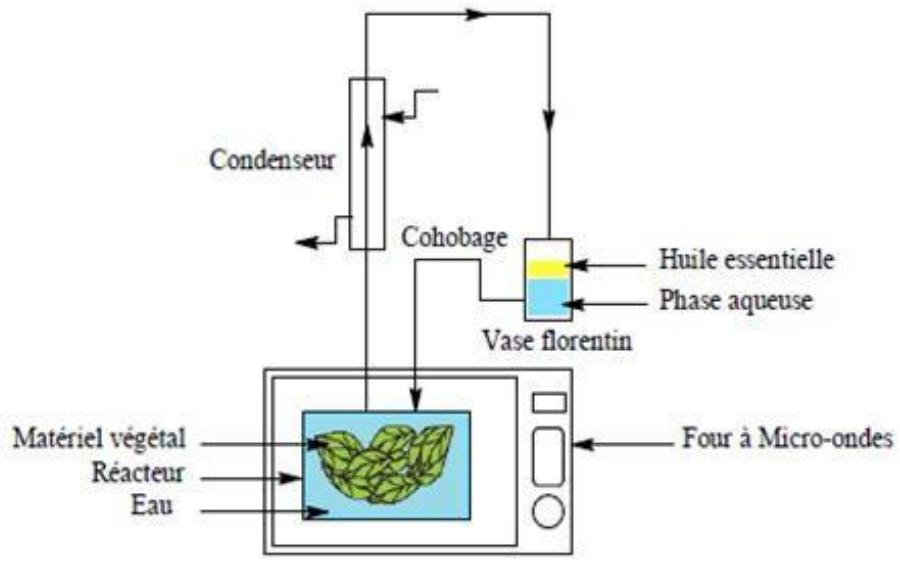


Figure 4 : Illustration schématique du système d'hydrodistillation assistée par micro-ondes **(Chenni & El Abed, 2017)**.

- **L'extraction au CO2 supercritique :** On utilise du dioxyde de carbone dans un état intermédiaire (entre gaz et liquide) comme solvant. C'est une méthode très propre et efficace, car le CO2 s'évapore totalement sans laisser de résidu, préservant ainsi l'intégralité du profil chimique de la plante(Chemat et al., 2012).

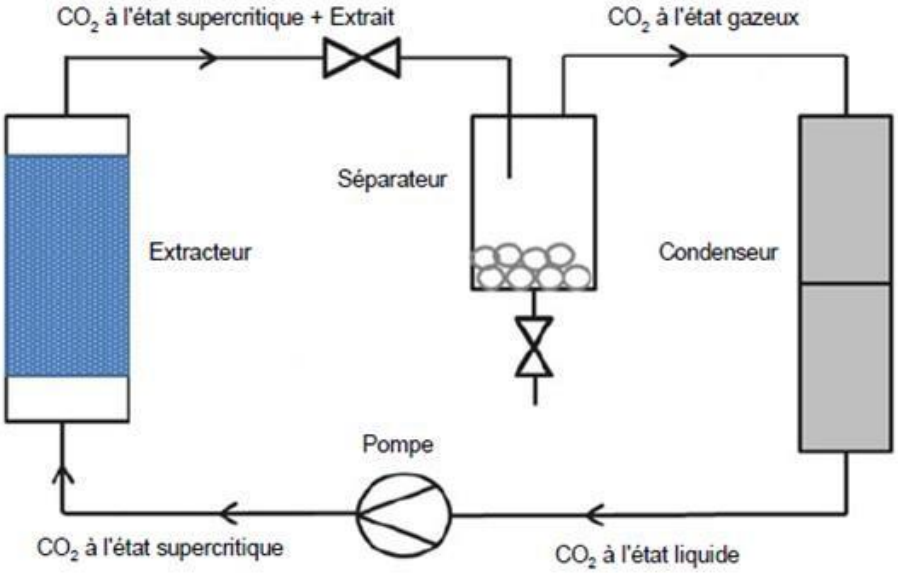


Figure 5 : Représentation schématique du procédé d'extraction au CO_2 supercritique **(Chenni & El Abed, 2017) .**

CHAPITRE II :

ÉTUDE BOTANIQUE ET CHIMIQUE DE L'ESPÈCE *RUTA CHALEPENSIS*

2.1. Description de la plante et classification

L'espèce *Ruta chalepensis* L., que l'on appelle souvent « Fidjel » en Algérie ou « Rue de Chalep » en français, appartient à la famille des *Rutaceae*. C'est une plante herbacée vivace qui peut atteindre 80 cm de hauteur. Elle se reconnaît facilement grâce à ses feuilles d'un vert grisâtre ou bleuté, qui dégagent une odeur très forte et particulière quand on les frotte **(Al-Majmaie et al., 2021) .**

Sur le plan botanique, ses fleurs sont d'un jaune vif et présentent une caractéristique unique : leurs pétales ont des bords "frangés" (avec de petits filaments), ce qui permet de la distinguer de sa cousine, *Ruta graveolens* **(Al-Majmaie et al., 2021)** . Elle apprécie particulièrement le climat méditerranéen et pousse spontanément dans les zones rocheuses, les bords de routes et les terrains secs en Algérie **(Quezel & Santa, 1963)**.

Classification systématique de *Ruta chalepensis*

La classification de cette espèce est la suivante :

- **Règne :** Plantae
- **Sous-règne :** Tracheobionta
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Ordre :** Sapindales
- **Famille :** Rutaceae
- **Genre :** *Ruta*
- **Espèce :** *Ruta chalepensis* L.



Figure 6 *: Ruta chalepensis* L **(Al-Ajlouni et al., 2022)**

- **Origine et répartition géographique**

  Ruta chalepensis est une plante originaire du bassin méditerranéen et de l'Asie. Elle s'est largement naturalisée dans les régions tempérées et tropicales d'Afrique et d'Amérique du Sud **(Al-Majmaie et al., 2021)**. En Algérie, elle est très répandue, poussant à l'état sauvage dans les zones de broussailles, les pâturages secs et sur les bords de routes, particulièrement sur les sols calcaires bien ensoleillés de l'Ouest algérien (**Quezel & Santa, 1963**) .

2.2. Composition phytochimique : une richesse moléculaire

Ce qui nous intéresse le plus chez la Rue, c'est sa capacité à produire des molécules très variées. La littérature scientifique montre que cette plante contient plus de 200 composés chimiques différents, incluant des métabolites primaires et secondaires **(Al-Majmaie et al., 2021).**

2.2.1. Les Alcaloïdes

La Rue est célèbre pour sa richesse en alcaloïdes, principalement de type quinoléique (comme la dictamnine et la skimmianine). Ces molécules sont étudiées pour leurs effets puissants contre les bactéries et les champignons. Elles se trouvent principalement dans les racines et les feuilles **(Al-Majmaie et al., 2021) .**

2.2.2. Les Flavonoïdes et la Rutine

Le composé le plus remarquable de cette plante est sans doute la **Rutine** (un glycoside de quercétine). Ce flavonoïde est un antioxydant majeur. Il est connu pour renforcer les vaisseaux sanguins et réduire l'inflammation. C'est en grande partie grâce à la rutine que la plante est utilisée contre les douleurs articulaires **(Al-Majmaie et al., 2021; Tounsi et al., 2011)** .

2.2.3. Les Coumarines

On trouve également des coumarines (comme le berbaptène). Ce sont des molécules qui protègent la plante contre les rayons du soleil, mais il faut être prudent car elles peuvent rendre la peau sensible à la lumière (effet photosensibilisant) **(Dob et al., 2008)** .

2.3. L'huile essentielle de *Ruta chalepensis*

L'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes est très spécifique. Contrairement à beaucoup d'autres plantes, l'huile de Rue est dominée par des molécules appelées **cétones aliphatiques**, notamment la **2-undécanone** (qui peut représenter plus de 50 % à 70 % du total) **(Dob et al., 2008; Tounsi et al., 2011)** . C'est ce composé qui donne l'odeur forte à la plante et qui lui confère ses propriétés insecticides et antimicrobiennes **(Dob et al., 2008)** .

2.4. Utilisations traditionnelles et pharmacologiques de *Ruta chalepensis*

En Algérie, *Ruta chalepensis* (communément appelée « Fidjel ») occupe une place très importante dans la médecine populaire. Elle est utilisée depuis longtemps par la population locale pour soigner divers maux grâce à ses multiples propriétés. Selon les besoins, la plante peut être préparée de différentes manières :

En infusion : C'est l'usage le plus courant pour traiter les problèmes internes. Les feuilles ou les fleurs sont infusées dans de l'eau chaude pour calmer les douleurs digestives, les maux de ventre (coliques) et les troubles de l'estomac. Cette méthode permet de profiter des vertus antispasmodiques de la plante **(Al-Majmaie et al., 2021) .**

- **En cataplasme :** Pour les douleurs externes, les feuilles fraîches sont écrasées et appliquées directement sur la peau. Ce traitement est particulièrement utilisé pour réduire les inflammations et soulager les douleurs articulaires liées aux rhumatismes.
- **Sous forme d'huile :** L'huile obtenue par macération de la plante est utilisée pour soigner les maux d'oreilles. On l'applique également en massage sur le front et les tempes pour calmer les maux de tête et les migraines **(Newman & Cragg, 2020)**.

Au-delà de ces remèdes, on lui attribue parfois des propriétés sédatives pour calmer la nervosité. Tous ces usages traditionnels servent aujourd'hui de point de départ aux chercheurs. L'observation de ces pratiques permet de mieux cibler les études en laboratoire. Cela aide à valider scientifiquement l'efficacité de la plante et à envisager son utilisation dans de nouveaux médicaments naturels.

2.5. Synthèse des travaux antérieurs sur la variabilité de l'huile essentielle

De nombreux chercheurs se sont intéressés sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* à travers le monde, les résultats montrent une variabilité et que les proportions varient énormément selon la région.

2.5.1. Travaux réalisés en Algérie

En Algérie, les études menées sur des populations de l'Ouest et du Centre montrent une prédominance des cétones aliphatiques. Par exemple, les travaux de **Dob et al. (2008)** sur une huile récoltée dans la région d'Alger ont révélé que la **2-undécanone** était le constituant majoritaire avec un pourcentage de 77 % **(Dob et al., 2008)** .Une autre étude réalisée par **Haddouchi et al. (2013)** dans la région de Tlemcen a confirmé cette predominance , tout en soulignant la présence de composants minoritaires comme le phynylméthyl benzoate, qui pourraient influencer l'activité antioxydante globale de la plante **(Haddouchi et al., 2013)** .

2.5.2. Études dans le bassin méditerranéen (Tunisie et Maroc)

En Tunisie, les recherches de **Mejri et al. (2010)** ont mis en évidence un profil légèrement différent. Bien que la 2-undécanone reste majoritaire, ils ont noté des concentrations plus élevées en **2-nonanone** et en esters acétates. Ces variations sont souvent attribuées aux conditions de stress hydrique plus intenses dans certaines zones arides de Tunisie(Mejri et al., 2012)**.**

Au Maroc, les travaux de **Khabbach et al. (2012)** montrent également que l'altitude de récolte dans le Moyen Atlas joue un rôle direct sur le rendement en huile, prouvant que plus la plante pousse en hauteur, plus elle semble concentrer ses essences pour se protéger .

2.5.3. Comparaison avec les origines du Moyen-Orient

En Arabie Saoudite ou en Turquie, certains chimiotypes présentent des taux plus élevés de terpènes (comme le limonène ou le pinène) par rapport aux échantillons maghrébins. Une synthèse réalisée par **Al-Majmaie et al. (2021)** indique que ces différences géographiques ne modifient pas seulement l'odeur de la plante, mais aussi son efficacité biologique, notamment son pouvoir cytotoxique et antibactérien **(Al-Majmaie et al., 2021) .**

En résumé, il apparaît que la **2-undécanone** est le "marqueur" chimique de l'espèce *Ruta chalepensis*, mais que l'équilibre entre les différentes cétones dépend directement de l'origine géographique.

2.6. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

Il est important de préciser que l'huile essentielle d'une plante comme *Ruta chalepensis* n'a pas une composition fixe. Plusieurs paramètres peuvent modifier la nature et la quantité des molécules présentes dans l'extrait. Ces facteurs sont généralement classés en quatre groupes :

2.6.1. Les facteurs génétiques

C'est le code génétique de la plante qui détermine ce qu'elle est capable de produire. C'est pour cette raison que l'on parle de "chimiotypes". Deux plantes de la même espèce, qui se ressemblent , peuvent avoir des compositions chimiques totalement différentes parce qu'elles appartiennent à des lignées génétiques distinctes **(Bakkali et al., 2008)**.

2.6.2. Le climat et l'environnement

Le milieu où pousse la plante joue un rôle de régulateur. Les conditions extérieures forcent la plante à s'adapter :

- **Le soleil et la température :** Une forte exposition à la lumière peut augmenter la production de certains principes actifs pour protéger la plante.
- **La nature du sol :** La richesse du sol en minéraux et son humidité influencent directement le rendement en huile. Par exemple, une plante qui manque d'eau (stress hydrique) produira parfois plus d'essence pour se défendre **(Figueiredo et al., 2008)**.

2.6.3. Le moment de la récolte (Stade phénologique)

La chimie de la plante évolue tout au long de sa vie. Une plante récoltée avant la floraison n'aura pas la même odeur ni la même efficacité qu'une plante récoltée en pleine floraison ou lorsque les fruits apparaissent. En général, c'est pendant la floraison que les huiles essentielles sont les plus riches en molécules actives **(Gobbo-Neto & Lopes, 2007)**.

2.6.4. L'impact du séchage et de l'extraction

Enfin, la façon dont on traite la plante après la récolte est cruciale.

- **Le séchage :** Si on laisse la plante trop longtemps au soleil ou si la température est trop élevée, les molécules les plus légères s'évaporent.
- **L'extraction :** La durée de l'hydrodistillation en laboratoire est aussi un facteur clé. Si l'extraction est trop courte, on ne récupère qu'une partie des composants, ce qui donne une huile incomplète.

Toxicité de l'espèce *Ruta*

Il est impératif de souligner que la Rue de Chalep est une plante puissante qui peut être dangereuse. Elle contient des furanocoumarines qui provoquent une **phototoxicité** : un contact avec la plante suivi d'une exposition au soleil peut entraîner des brûlures cutanées. Par ailleurs, elle est strictement contre-indiquée chez les femmes enceintes car elle peut provoquer des contractions utérines et des avortements. À forte dose, elle peut causer des troubles hépatiques et rénaux.

CHAPITRE III :

LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES RECHERCHÉES

L'intérêt porté à *Ruta chalepensis* dans ce travail repose sur sa capacité à intervenir dans deux processus biologiques fondamentaux : l'oxydation cellulaire et l'inflammation. Ces mécanismes, bien que naturels, peuvent devenir pathologiques s'ils ne sont pas régulés. Ce chapitre détaille les concepts théoriques liés à ces deux activités.

3.1. Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant

Le fonctionnement métabolique de nos cellules est indissociable de l'utilisation de l'oxygène. Cependant, cette consommation vitale s'accompagne de la formation de molécules instables qu'il est nécessaire de neutraliser.

L'équilibre de notre organisme repose sur une balance permanente entre deux forces opposées : les molécules pro-oxydantes et les systèmes antioxydants. D'un côté, des agressions comme les radiations, la chimiothérapie ou certains facteurs biologiques produisent des radicaux libres qui peuvent abîmer nos cellules. Pour contrebalancer cet effet, notre corps déploie un bouclier protecteur composé d'enzymes naturelles, telles que la **SOD**, la **Catalase** ou la **Peroxydase**, ainsi que des molécules comme le **Glutathion**.

La santé dépend du maintien parfait de cette stabilité. Cependant, si la balance penche du côté des pro-oxydants, on entre dans un état de **stress oxydatif**, responsable du vieillissement prématuré et de nombreuses maladies. C'est ici que l'apport d'antioxydants naturels, devient essentiel : ils viennent renforcer le plateau des défenses pour rétablir cet équilibre vital et protéger les cellules contre les dommages.

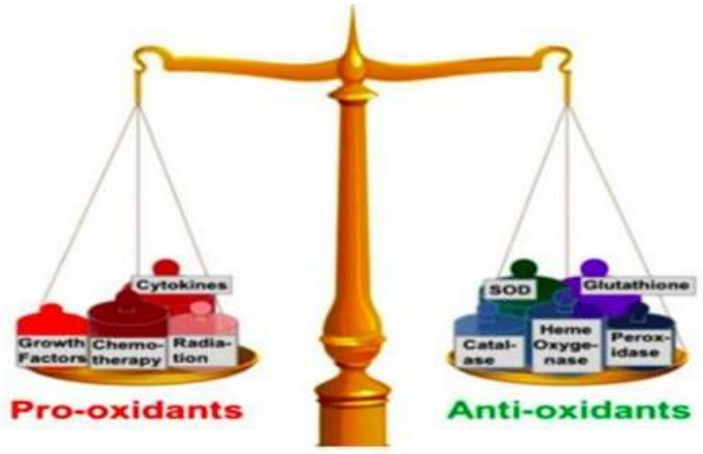


Figure 7 : déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydantes **(Bayala, 2014)**.

3.1.1. Définition et origine du stress oxydatif

On parle de stress oxydatif lorsque l'équilibre chimique au sein de l'organisme est rompu. Pour produire de l'énergie, les cellules génèrent des déchets métaboliques que l'on appelle « Espèces Réactives de l'Oxygène » (ERO) ou, plus couramment, radicaux libres.

Sur le plan chimique, **un radical libre** est une entité instable car elle possède un électron non apparié (célibataire). Pour retrouver sa stabilité, cette molécule cherche à « arracher » un électron à d'autres structures saines, provoquant ainsi une réaction de dégradation en chaîne **(Halliwell & Gutteridge, 2015)**.Si nos défenses internes suffisent habituellement à contrôler ces molécules, elles peuvent être submergées par des agressions extérieures :

- Les polluants atmosphériques et la consommation de tabac ;
- L'impact des rayons ultraviolets sur les tissus ;
- Une hygiène de vie inadaptée ou la présence d'inflammations répétées.

3.1.2. Conséquences des dommages cellulaires

Une présence excessive de radicaux libres finit par altérer les constituants essentiels de la cellule:

1. **La lipoperoxidation :** Les graisses constituant les membranes cellulaires sont attaquées, ce qui fragilise la cellule et peut mener à sa destruction.
2. **L'altération des protéines :** Les molécules fonctionnelles (enzymes, récepteurs) subissent des modifications de forme, ce qui bloque leur activité biologique.
3. **Les dommages génétiques :** En s'attaquant à l'ADN, les radicaux libres provoquent des erreurs lors de la division cellulaire, un phénomène qui favorise l'apparition de pathologies comme le cancer **(Kozakiewicz et al., 2019)** .

3.1.3. Les mécanismes de défense antioxydante

Le rôle des antioxydants est de mettre fin à cette agression. L'organisme dispose de deux lignes de front :

- **Les systèmes enzymatiques :** Ce sont des outils internes (Catalase, Superoxyde Dismutase) qui décomposent les radicaux.
- **Les apports non-enzymatiques :** Ils proviennent principalement de l'alimentation et des plantes médicinales. C'est ici que l'étude de *Ruta chalepensis* prend tout son sens. Cette plante est riche en molécules comme les flavonoïdes et les polyphénols, qui se comportent comme des « pièges à radicaux ». Elles neutralisent les molécules instables en leur cédant un électron, tout

en restant elles-mêmes stables, protégeant ainsi l'organisme des attaques oxydatives **(Rice-Evans et al., 1996) .**

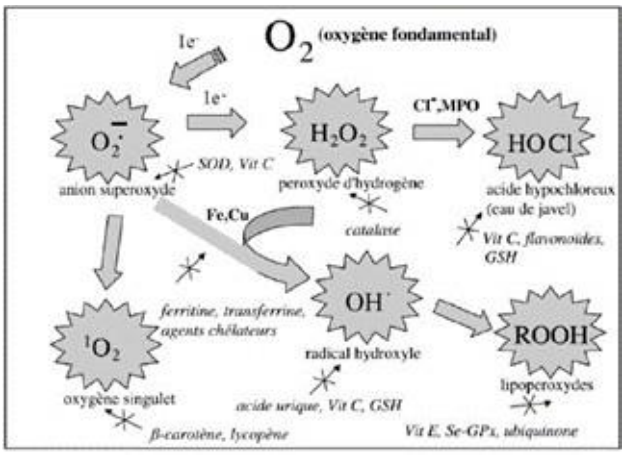


Figure 8 : Représentation schématique de la régulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défense antioxydants (Milbury et al., 2008).

3.1.4. Distinction entre antioxydants naturels et synthétiques

Dans le domaine de la recherche et de l'industrie (agroalimentaire, cosmétique, pharmaceutique), on distingue deux grandes catégories d'antioxydants selon leur origine et leur mode de fabrication.

A. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants de synthèse sont des molécules créées par voie chimique pour stabiliser les produits et empêcher l'oxydation des graisses. Les plus courants sont le BHA (Butylated Hydroxyanisole), le BHT (Butylated Hydroxytoluene) et le TBHQ (Tert-Butylhydroquinone). Ils sont très efficaces à faible dose, stables à haute température et peu coûteux à produire industriellement.

Malgré leur efficacité, ces composés sont de plus en plus controversés. Plusieurs études toxicologiques suggèrent que leur consommation prolongée pourrait avoir des effets néfastes sur la santé, notamment des risques de carcinogénicité ou des perturbations hormonales **(Saad et al., 2007)**.C'est pour cette raison que leur utilisation est strictement réglementée et que de nombreux consommateurs s'en méfient.

B. Les antioxydants naturels

Face aux doutes soulevés par les molécules chimiques, les antioxydants naturels suscitent un regain d'intérêt. Ils sont principalement extraits du règne végétal (fruits, légumes, épices et plantes médicinales).

On y retrouve les vitamines (C et E), les caroténoïdes et surtout la vaste famille des **polyphénols** (dont les flavonoïdes sont les plus célèbres).

Au-delà de leur simple action antioxydante, ces composés possèdent souvent d'autres vertus biologiques (anti-inflammatoires, antibactériennes).

Contrairement à une molécule synthétique isolée, un extrait naturel comme celui de *Ruta chalepensis* contient un mélange de plusieurs molécules qui agissent ensemble. Ce phénomène de synergie rend souvent l'extrait global plus performant que ses composants pris séparément **(Pokorný, 2007)**.

3.2. Le processus inflammatoire et les mécanismes d'inhibition

L'inflammation est une réaction complexe qui communique étroitement avec le stress oxydatif ; l'un alimentant souvent l'autre dans le cadre de maladies chroniques.

3.2.1. Les étapes de la réaction inflammatoire

L'inflammation est avant tout un signal de survie. C'est la réponse que le corps déploie pour réparer une lésion ou combattre une intrusion microbienne. Elle se caractérise par quatre manifestations typiques : la douleur, la chaleur, la rougeur et le gonflement (œdème)(Ferrero-Miliani et al., 2007)**.**

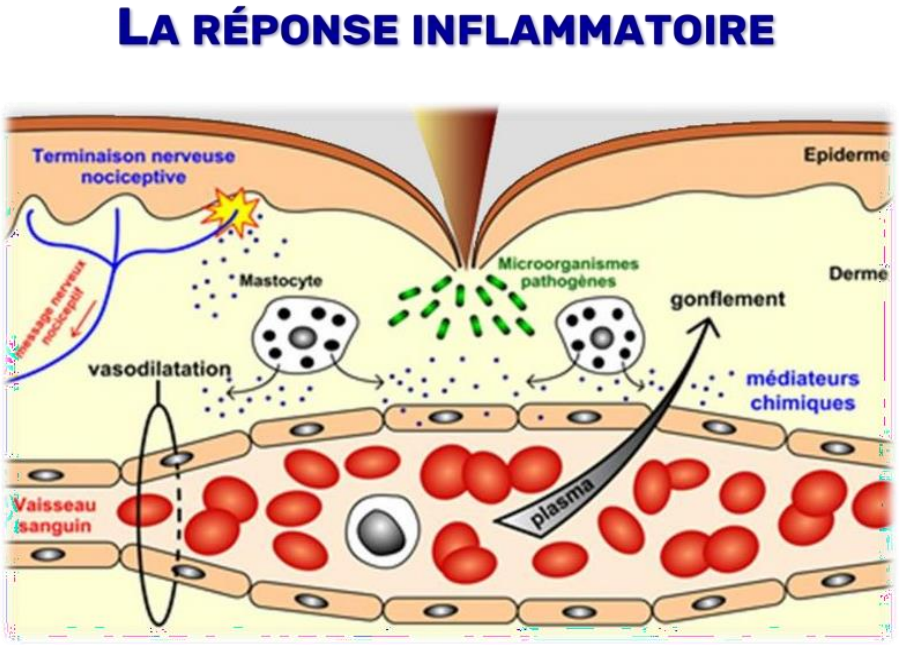


Figure 9 : Les Étapes clés du processus inflammatoire

3.2.2. Les principaux médiateurs de l'inflammation

Comprendre l'action de ces molécules est essentiel pour envisager un traitement :

- **Les Prostaglandines :** Ce sont elles qui causent la fièvre et la douleur. Leur production dépend d'une enzyme nommée Cyclooxygénase (COX).
- **Les Cytokines (ex: TNF-α) :** Elles agissent comme des messagers qui amplifient l'alerte immunitaire.
- **L'Histamine :** Elle provoque la dilatation des vaisseaux et l'accumulation de liquide dans les tissus (œdème).

3.2.3. Inhibition et rôle des substances naturelles

L'objectif thérapeutique des extraits de *Ruta chalepensis* est de moduler ces réponses

Les flavonoïdes de la Rue peuvent bloquer les enzymes COX, empêchant ainsi la formation des molécules de la douleur, un mécanisme comparable à celui de certains médicaments de synthèse **(Rathee et al., 2009)**.Le traitement de l'inflammation repose sur l'utilisation de substances capables d'interrompre la cascade chimique responsable de la douleur et du gonflement

Contrairement aux médicaments synthétiques qui ciblent souvent une seule enzyme, les extraits naturels agissent de manière "multi-cibles". Les flavonoïdes (comme la rutine) et les alcaloïdes présents dans le Fidjel peuvent à la fois bloquer les enzymes de la douleur et neutraliser les radicaux libres qui entretiennent l'inflammation.L'un des principaux avantages des substances naturelles est leur meilleure tolérance par l'organisme. Utilisés correctement, ces composés présentent généralement moins d'effets secondaires digestifs que les AINS classiques **(Yuan et al., 2016).**

Deuxième partie :
Partie Expérimentale

CHAPITRE IV :

MATÉRIALE ET METHODE

Objectif :

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydante et anti-inflammatoire des différents extraits et de l'huile essentielle de Ruta chalepensis récoltée dans plusieurs régions d'Algérie, afin de mettre en évidence l'influence du solvant d'extraction et de l'origine géographique sur leurs propriétés biologiques.

IV.1. Provenance et identification de la plante :

Lieu de récolte :

Les échantillons de *Ruta chalepensis* ont été ramassés entre février et début avril dans trois endroits différents en Algérie

- **Blida (Nord) :** des plantes cultivées venant d'une pépinière.
- **Sidi Berich (Tlemcen) :** des plantes sauvages poussant en montagne.
- **Sebaa Chioukh (Tlemcen) :** des plantes sauvages poussant en plaine.

Identification

L'identité de la plante a été vérifiée et confirmée par le **Professeur Babali Ibrahim** de l'Université de Tlemcen (Laboratoire d'Écologie).

Séchage et conservation :

Après la récolte, nous avons fait sécher les plantes naturellement à l'ombre dans un endroit bien aéré. Ce séchage lent permet de protéger les principes actifs de la plante. Une fois sèches, les plantes ont été stockées à l'abri de l'humidité et de la lumière pour éviter qu'elles ne s'abîment avant les tests.



(a) Sebaa chioukh (b) sidi berich (c) Blida

Figure 10 : Localisation géographique des trois sites de récolte de *Ruta chalepensis* L. en Algérie (a :Sebaa Chioukh, plaine, Tlemcen; b : Sidi Berich, montagne, Tlemcen ; c : Blida, pépinière, Nord).

IV.2. Extraction des huiles essentielles :

Pour l'obtention des huiles essentielles, nous avons utilisé l'**hydrodistillation**, qui est la technique de référence. Nous avons employé un dispositif de type **Clevenger** Cette extraction se fait en trois étapes : l'hydrodiffusion, la co-distillation et la coalescence.

Pour cela, 250 g de la plante coupée est introduite dans un ballon de 6L contenant une quantité suffisante d'eau pour l'immerger totalement. Le mélange a été chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon pendant 4 à 5h.

À l'issue de la distillation, le produit obtenu (le distillat) se sépare naturellement en deux phases:

1. Une phase aqueuse appelée **hydrolat**.
2. Une phase organique, très odorante, qui constitue l'**huile essentielle**.

Pour garantir la stabilité des composants, l'huile essentielle ainsi récoltée a été stockée dans des flacons en verre ambré (pour la protéger de la lumière) et conservée au réfrigérateur à une température constante de **4 °C**.



Figure 11 : Montage d'hydrodistillation

IV.3. Extraction des hydrolats :

L'extrait d'hydrolat de *Ruta chalepensis* a été obtenu en récupérant le premier litre d'eau de l'hydrodistillation, puis en faisant l'extraction liquide-liquide trois fois avec 300 ml d'éther diéthylique. La phase organique a été évaporée dans un évaporateur rotatif Durant cette étape, nous n'avons appliqué **aucune source de chaleur** afin de préserver l'intégrité des composants sensibles. Ce procédé a permis d'obtenir une huile de teinte jaunâtre.. Comme pour les huiles essentielles, l'extrait d'hydrolat est conservé dans un flacon en verre ambré à 4 °C jusqu'à son analyse.

IV.4. Préparation des extraits :

IV.4.1. Préparation des extraits aqueux , éthanoïque et eau -acétonique :

Les extraits de *Ruta chalepensis* L. ont été préparés selon différentes méthodes d'extraction afin de comparer leurs rendements et les activités biologiques :

Extrait aqueux (Sidi Berich) : obtenu par décoction dans l'eau.

Extrait éthanolique 1 (Sidi Berich) : obtenu par extraction au Soxhlet à l'éthanol.

Extrait éthanolique 2 (Sebaa Chioukh) : obtenu par décoction à l'éthanol.

Extrait eau–acétonique (Blida) : obtenu par macération à froid dans un mélange eau–acétone.

- **Décoction :** introduire dans un ballon surmonté d'un réfrigérant 12g de plante avec 250 ml de solvant (eau distillé ou éthanol) et placé dans un chauffe ballon contenant quelques pierres ponces. Ensuite ; on laisse le mélange à reflux pendant 1 heure. L'extrait est récupéré par filtration après refroidissement et on termine par l'évaporation du solvant.



Figure 12: Montage à reflux

- **Soxhlet :** L'opération permet à mettre 12 grammes de plante finement coupée dans une cartouche de papier filtre, le toute est introduit dans un Soxhlet de 100 ml, ce dernier (Soxhlet) est placé sur un ballon contenant 250mL d'éthanol et quelques pierres ponces. une fois le solvant amené à ébullition, les vapeurs se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le siphon, ce qui fait macérer la matière végétale dans le solvant. Ce condensat s'accumule dans l'extracteur jusqu'à ce que le solvant atteigne un certain

niveau, puis retourne au ballon. Cette opération est appelée un cycle, pouvant se répéter plusieurs fois jusqu'à épuisement de la matière végétale.

L'extrait résultant est filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.



Figure 13: Montage d'un extracteur de soxhlet

- **Macération :** La préparation de cet extrait consiste à macérer 12g de matière végétale sèche avec 100ml de solvant eau-acétone (30ml eau distillée + 70ml acétone), et la laisser 24 h à température ambiante. Après l"incubation, le mélange a été filtré à sur papier filtre et le filtrat a été évaporé par l'évaporateur rotatif (rotavapor) à 45°C pour éliminer l'acétone. Après évaporation, l'extrait obtenu est versé dans des boites de pétrie et placé à l'étuve à 50°C pendant 24h en raison d'éliminer l'eau et de sécher l'extrait eau-acétone. Le produit est récupéré et conservé jusqu'à l'utilisation.

IV.5. Détermination des rendements en huiles essentielles et des extraits :

Le rendement est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle (ou d'extrait) obtenue et la masse de la plante utilisée. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R\% = (m / m') \times 100$$

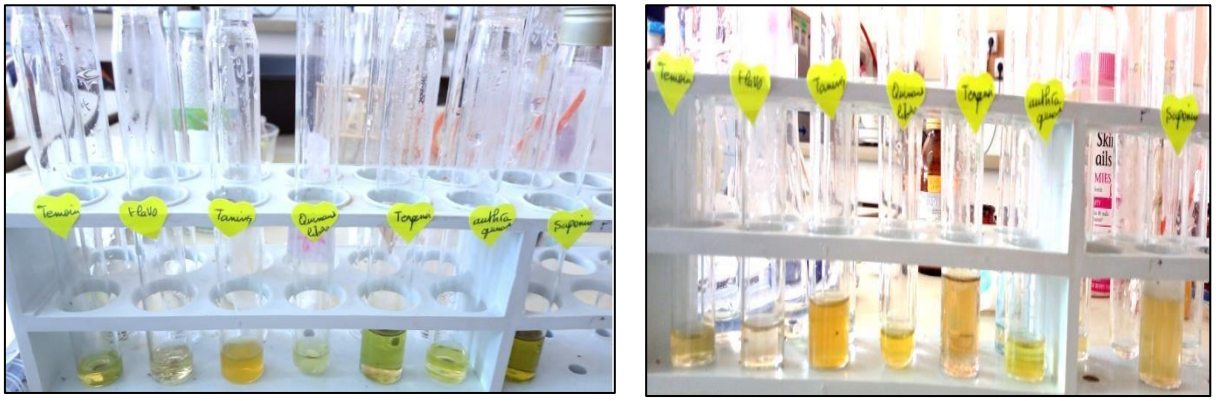
R%= rendement en huile essentielle (ou d'extrait) en %.

m = masse des huiles essentielles (ou des extraits) récupérée en gramme **(g).**

m'= masse de la plante en gramme **(g).**

IV.6. Tests phytochimiques :

Les différents extraits obtenus de *Ruta chalepensis* L. ont été soumis à divers tests phytochimiques afin de mettre en évidence les principaux métabolites secondaires présents dans les parties aériennes de la plante. Ces analyses ont été réalisées à l'aide de techniques de caractérisation qualitative basées sur des réactions de coloration, de précipitation et, le cas échéant, sur des observations sous lumière ultraviolette.



Extrait éthanoïque **Extrait aqueux**

Figure 14 : Résultats de quelques tests phytochimique

➢ **Les alcaloïdes :**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le deuxième tube. La présence de précipité présente un test positif.

- **Réactif de Mayer:**

On dissout 1.358g de $HgCl_2$ dans 60 ml d'eau et 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Ensuite, on mélange, les deux solutions et on ajuste 100 ml d'eau. Ce réactif provoque un trouble plus un précipité blanc avec les alcaloïdes.

- **Réactif de Wagner:**

On dissout 2g de KI et 1.27 g de I_2 dans 75 ml d'eau, on ajoute 100ml d'eau dans la solution obtenue. Un test positif est indiqué par un précipité brun.

➢ **Les composés polyphénoliques :**

- **Les tanins :**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 2 à 3 goutes d'une solution aqueuse de FeCl3 (1%). La présence des tanins est indiquée par la coloration verte ou bleu-noire

- **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de Hcl concentré et quelques copeaux de magnésium. Un test positif est confirmé par l'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune.

- **Les coumarines :** Fluorescence UV

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, prendre le premier comme témoin et ajouter 0,1 ml de NH_4OH (10%) à l'autre. placer deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense révèle la présence des coumarines.

- **Les saponines :** Test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 10 ml d'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une mousse remarquable indique la présence de saponines.

- **Les quinones libres :**

Dans un tube à essai, introduire 2 ou 5 ml d'extrait à analyser et ajouter quelques gouttes de NaOH (1%). Une couleur jaune, rouge ou violette indique un test positif.

- **Les anthoquinones :**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml d'extrait à analyser et ajouter 5ml de NH_4OH (10%) on agite. L'apparition d'une coloration violette montre la présence des anthoquinones.

- **Les terpenoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait à analyser et ajouter 2 ml de chloroforme et 3 ml de H_2SO_4 concentré. Deux phases et une couleur marron en interphase prouve la présence des terpenoïdes.

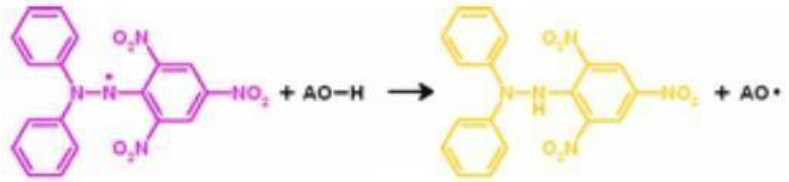
IV.7. Évaluation de l'activité anti-oxydante :

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits des parties aériennes de *Ruta chalepensis* a été évalué par trois méthodes complémentaires : le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur (FRAP) et la capacité antioxydante totale (CAT) par la méthode au phosphomolybdéne .

IV.7.1. Piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante a été mesurée en utilisant le test DPPH. Le DPPH (2,2-diphényl-1-

picrylhydrazyle) est un radical libre stable qui absorbe dans le visible. Lorsqu'il est réduit par une substance capable de donner des protons, sa couleur violette intense devient jaune. L'intensité de cette décoloration est proportionnelle à la capacité des antioxydants à céder des protons.



Mode opératoire :

La solution de DPPH a été préparée en dissolvant 0,006 mg de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) dans 100 mL de méthanol. Les échantillons (huile essentielle, extrait, etc.) ont été dissous dans le même solvant. À 1 mL de chaque extrait, préparé à différentes concentrations après des tests préliminaires, on ajoute 1 mL de la solution de DPPH.

Le mélange est ensuite conservé au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV, avec un blanc composé de méthanol pur et un contrôle négatif contenant 1 mL de méthanol et 1 mL de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire est calculé selon la formule suivante :

I % = [(AC – AE) / AC] × 100

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Protocole :

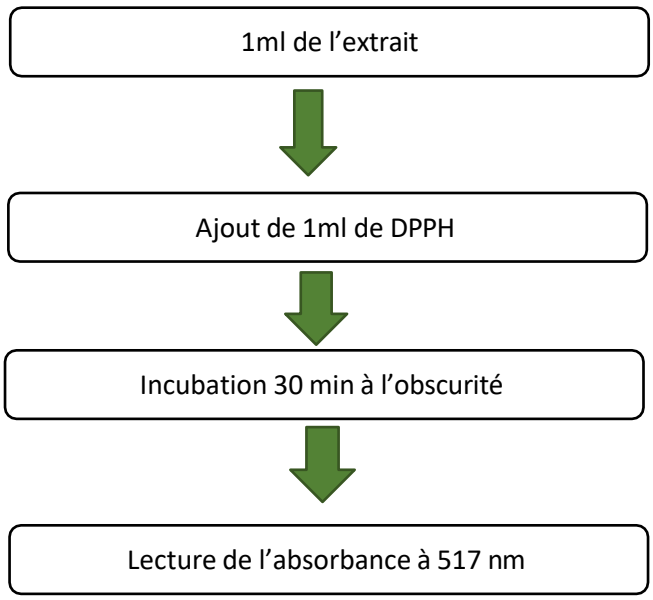
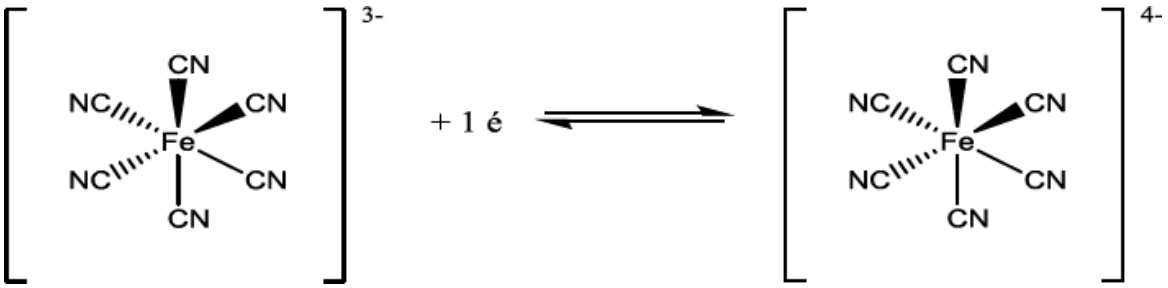


Figure 15 : Protocole d'évaluation de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH°

Dans les trois méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH, FRAP et CAT), l'acide ascorbique a été utilisé comme standard de référence et soumis aux mêmes conditions expérimentales que les échantillons étudiés.

La $\mathbf{CI_{50}}$ (concentration inhibitrice à 50 %) est définie comme la concentration d'un échantillon nécessaire pour inhiber 50 % du radical libre DPPH•. Elle est déterminée graphiquement par régression linéaire, en traçant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes des échantillons testés.

IV.7.2. Méthode de la réduction du fer (FRAP) :



L'activité réductrice des différents extraits a été mesurée en utilisant une méthode qui consiste à réduire les ions ferriques Fe^{3+}, jaunes, du complexe $K_3Fe(CN)_6$ en ions ferreux Fe^{2+}, bleus, grâce à un antioxydant. Ce changement de couleur est quantifié par spectrophotométrie à 700 nm



Figure 16 : Solutions préparées pour l'évaluation du pouvoir réducteur par la méthode FRAP.

Mode opératoire :

Un millilitre d'extrait, à différentes concentrations, est mélangé avec 2,5 mL d'un tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1 %. Le mélange est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, on ajoute 2,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % pour arrêter la réaction.

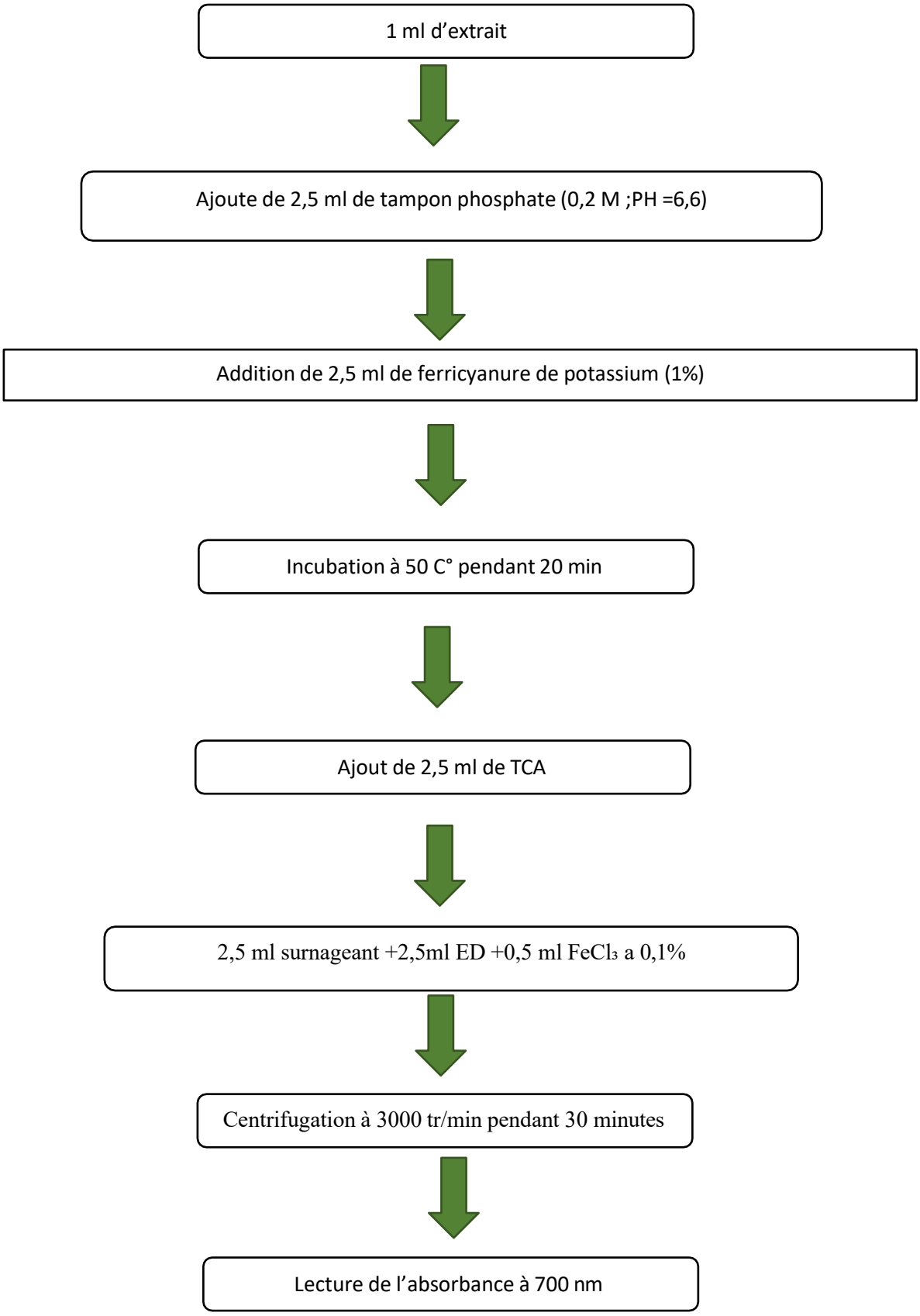
Les tubes sont centrifugés à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. On prélève alors 2,5 mL du surnageant, que l'on mélange avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution fraîche de $FeCl_3$ à 0,1 %. L'absorbance est mesurée à 700 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS, en utilisant un échantillon de contrôle préparé sans extrait. Un contrôle positif avec de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) est également analysé dans les mêmes conditions. Une augmentation de l'absorbance indique un pouvoir réducteur accru de l'échantillon testé.



Extrait Ethanolique | Extrait aqueux | Huile essentielle

Figure 17 : Changement de couleur des échantillons après réalisation du test FRAP.

Protocole :


1 ml d'extrait
Ajoute de 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M ;PH =6,6)
Addition de 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1%)
Incubation à 50 C° pendant 20 min
Ajout de 2,5 ml de TCA
2,5 ml surnageant +2,5ml ED +0,5 ml FeCl3 a 0,1%
Centrifugation à 3000 tr/min pendant 30 minutes
Lecture de l'absorbance à 700 nm

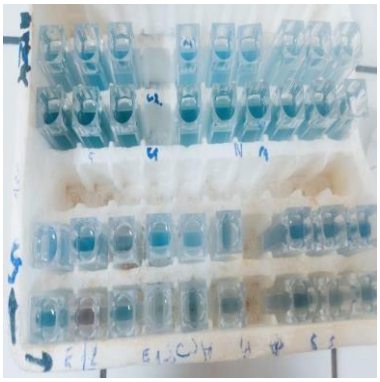
IV.7.3. Capacité antioxydante totale (CAT):

Elle est réalisée selon la méthode décrite par Prieto et al., 1999:

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte.



Acide Ascorbique



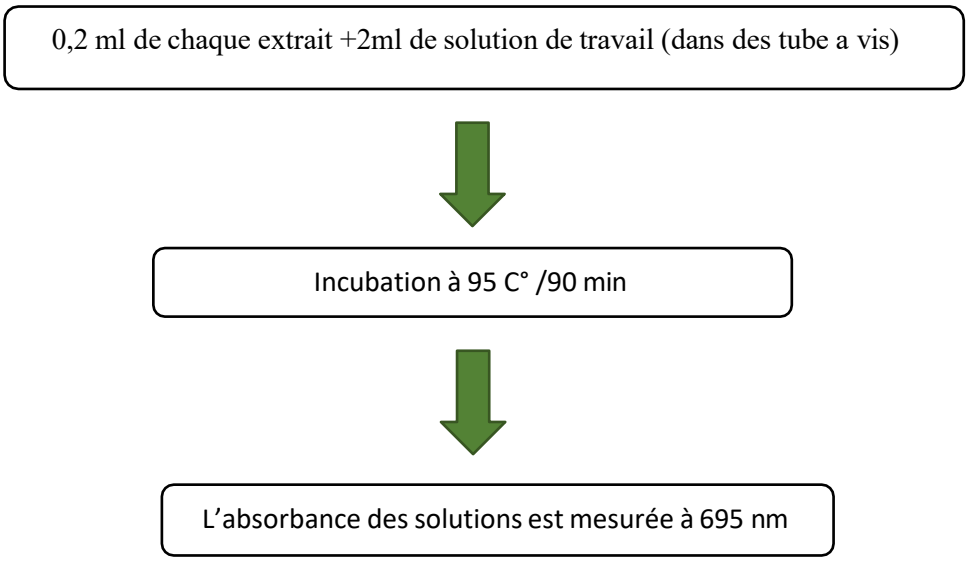
les Extraits

Figure 18 : Résultats du test CAT (capacité antioxydante totale) des extraits de Ruta chalepensis et de l'acide ascorbique (référence).

Mode opératoire :

Un volume de 0,2 mL de chaque extrait a été mélangé avec 2 mL de la solution de travail composée d'acide sulfurique (0,6 M), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes ont ensuite été incubés à 95 °C pendant 90 min, puis refroidis à température ambiante. L'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Protocole :



IV.8 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Le pouvoir anti-inflammatoire des huiles essentielles a été effectué par la méthodes in vitro de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf

IV.8.1 Méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf :

La méthode de stabilisation de la dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf est couramment utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de divers composés. Dans ce test, l'albumine d'œuf sert de protéine modèle. Sa dénaturation est induite par des conditions extrêmes, comme une température élevée, un pH extrême ou l'ajout d'agents dénaturants.

Lorsque la dénaturation se produit, la structure native de l'albumine est altérée, ce qui entraîne une modification de ses propriétés physiques. L'efficacité anti-inflammatoire des extraits testés peut alors être estimée par leur capacité à empêcher ou limiter cette dénaturation.

Mode opératoire :

Une solution réactionnelle de 2,5 mL a été préparée en mélangeant 0,1 mL d'albumine de blanc d'œuf, 1,4 mL de tampon phosphate salin (PBS, pH 6,4) et 1 mL de chaque extrait. Le diclofénac sodique a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence. Un témoin négatif a été préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Les mélanges ont été incubés à 37 ± 2 °C pendant 20 min, puis chauffés à 60 °C pendant 5 min. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm .

Conclusion Générale

L'objectif de cette étude était de caractériser le potentiel phytochimique et biologique de *Ruta chalepensis* (la Rue de Chalep) en explorant l'influence de trois biotopes algériens distincts : Sidi Berich, Sebaa Chioukh et Blida. Les résultats obtenus permettent de tirer des conclusions majeures sur la productivité et la réactivité de cette plante médicinale.

Nos travaux confirment que le rendement en huile essentielle est fortement influencé par le stade phénologique et les conditions environnementales. Si la culture contrôlée en pépinière (Blida) favorise des rendements élevés, le milieu montagnard (Sidi Berich) induit des stress abiotiques qui modifient l'aspect et l'odeur de la plante. Nous avons également démontré que l'introduction des fleurs lors de l'extraction maximise la récupération des huiles essentielles, grâce à leur densité élevée en poches sécrétrices.

Le criblage a révélé une diversité remarquable de métabolites secondaires. La présence constante de flavonoïdes, d'alcaloïdes et de coumarines confirme le statut de la Rue de Chalep comme une source précieuse de molécules bioactives. Nous avons mis en évidence la sélectivité des solvants : si la décoction aqueuse permet d'isoler les tanins et les saponines, l'éthanol s'avère être le solvant le plus performant pour capturer les composés polyphénoliques responsables de l'activité antioxydante.

L'évaluation biologique, menée via trois méthodes complémentaires (DPPH, FRAP et CAT), souligne la supériorité des extraits polaires sur les huiles essentielles. L'enseignement majeur de cette étude est la performance exceptionnelle de la région de **Sidi Berich**. Bien que cette zone présente des rendements plus faibles, ses extraits (notamment éthanoliques) affichent les capacités antioxydantes les plus puissantes. Cela suggère que la rudesse du climat montagnard stimule la synthèse de métabolites protecteurs plus efficaces. Enfin, la distinction entre les résultats du DPPH et du FRAP a permis de mettre en lumière les différents mécanismes d'action (transfert d'hydrogène contre le transfert d'électrons) des molécules présentes dans nos extraits.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a mis en évidence le potentiel remarquable de *Ruta chalepensis* . Un résultat majeur de cette étude réside dans la performance exceptionnelle de l'**extrait d'hydrolat** (fraction oxygénée), qui affiche une IC50 de **8,6 ml/L**, surpassant ainsi l'efficacité du médicament de référence, le **Diclofénac sodique**. Cette bioactivité supérieure,

bien que l'huile essentielle brute reste également très active, s'explique par la forte concentration de l'hydrolat en **composés oxygénés**. En démontrant une aptitude à freiner la dénaturation protéique, un mécanisme clé de l'inflammation chronique impliquée dans des pathologies graves comme le cancer , nos travaux confirment que la Rue de Chalep constitue une ressource naturelle prometteuse pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques et préventives.

En terme de perspectives et pour approfondir les résultats obtenus dans cette étude, nous suggérons d'orienter les futurs travaux vers les axes suivants :

Il serait pertinent d'identifier par chromatographie (HPLC ou GC-MS) les molécules précises responsables de ces activités à Sidi Berich. De plus, l'évaluation du potentiel antimicrobien de ces extraits permettrait de valoriser davantage *Ruta chalepensis* dans les industries pharmaceutique et cosmétique donc il serait très utile de tester ces mêmes extraits contre des bactéries, des champignons (activité antifongique) ou des virus

Nos résultats ont été obtenus en laboratoire (in vitro). La prochaine étape logique serait de tester l'efficacité de ces extraits sur des modèles vivants pour observer comment les antioxydants réagissent réellement avec les cellules et le métabolisme.

Enfin, cette étude démontre que nous pouvons exploiter pleinement le potentiel antioxydant de la Rue de Chalep dans le domaine médical ou cosmétique,grâce à leur fort pouvoir protecteur contre l'oxydation, les extraits de Sidi Berich pourraient être testés comme **conservateurs naturels** dans l'industrie agroalimentaire ou comme ingrédients actifs dans la fabrication de **crèmes anti-âge** en cosmétique.

Références

Bibliographiques

A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. (2015a). Medicinal & Aromatic Plants, 04(03). https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. (2015b). Medicinal & Aromatic Plants, 04(03). https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. (2015c). Medicinal & Aromatic Plants, 04(03). https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. (2015d). *Medicinal & Aromatic Plants*, *04*(03). https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

Al-Ajlouni, Z., Migdadi, O., Makhadmeh, I., Aldahadha, A., Hasan, S., & Al-Abdallat, A. M. (2022). Assessment of Genetic Diversity among Wild Ruta chalepensis L. from the North of Jordan. Diversity, 14(11), 969. https://doi.org/10.3390/d14110969

Albano, S. M., & Miguel, M. G. (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. Industrial Crops and Products, 33(2), 338-343. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.11.012

Al-Said, M. S., Tariq, M., Al-Yahya, M. A., Rafatullah, S., Ginnawi, O. T., & Ageel, A. M. (1990). Studies on Ruta chalepensis, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine.

Journal of Ethnopharmacology, 28(3), 305-312. https://doi.org/10.1016/0378-8741(90)90081-4

Awofolu, O. R., Du, P. R., & Rampedi, I. (2007). Influence of discharged effluent on the quality of surface water utilized for agricultural purposes. African Journal of Biotechnology, 6(19), 2251-2258. https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2353

Al-Majmaie, S., Al-Harrasi, A., & Al-Rawahi, A. (2021). Ruta chalepensis L. (Rutaceae): A review of its phytochemistry and pharmacology. South African Journal of Botany, 137, 443–455. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.027

Al-Said, M. S., Tariq, M., Al-Yahya, M. A., Rafatullah, S., Gani, A. M., & Ageel, A. M. (1990). Pharmacological evaluation of Ruta chalepensis L.: Antinflammatory, antipyretic, and antinociceptive activities. Journal of Ethnopharmacology, 28(1), 19–31. https://doi.org/10.1016/0378-8741(90)90064-7

Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Medicinal & Aromatic Plants, 04(03), 1–6. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

Barbouchi, M., Benzidia, B., Elamrani, K., Sabiri, M., El Idrissi, M., & Choukrad, M. (2024). Phytochemical screening, quantitative analysis and antioxidant properties of crude extracts from stems, leaves, and flowers of three Ruta species. Kuwait Journal of Science, 51(4), 100287. https://doi.org/10.1016/j.kjs.2024.100287

Bekkar, N. E. H., Meddah, B., Cakmak, Y. S., & Keskin, B. (2021). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of zizyphus lotus l. And ruta chalepensis l. Growing in mascara (western algeria). Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 10(5), e3004. https://doi.org/10.15414/jmbfs.3004

Bayala, B. (2014). Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des -82- lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastome. Thèse de doctorat en spécialité : Physiologie et génétique moléculaire. U.R.R. Sciences et Technologies. Universite Blaise Pascal. Burkina Faso. 25-27.

Chatelain, C., Medjahdi, B., & Benhouhou, S. (2018). eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa. ecologia mediterranea, 44.

Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products : Concept and Principles. International Journal of Molecular Sciences, 13(7), 8615-8627. https://doi.org/10.3390/ijms13078615

Chenni, M., & El Abed, D. (2017). Procédés d'extraction des produits bioactifs. PhytoChem & BioSub Journal, 11(1), 1-31. https://doi.org/10.163.pcbsj/2017.11.-1-2

Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(5), 1768-1774. https://doi.org/10.1021/jf803011r

Dob, T., Berramdane, T., & Chelghoum, C. (2008). Chemical composition of the essential oil of Ruta chalepensis L. from Algeria. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11(3), 272–279. https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643632

Fatima Zohra, E.-K., Khedoudja, K., Amina, T., Wafaa, T., Houaria, L., Nawal, B., & Noria, H. (2021). Phenolic compound profiles and antioxidant activity of Ruta chalepensis L. leaves, a spontaneous medicinal herb : Influence of harvest zone (Western Algeria). International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants, 7(1), 26-35. https://doi.org/10.53552/ijmfmap.2021.v07i01.003

Ferhat, M., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of three Ruta species growing in different soils.

Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation : Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1β generation. Clinical and Experimental Immunology, 147(2), 227-235. https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x

Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants : Volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23(4), 213-226. https://doi.org/10.1002/ffj.1875

Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais : Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova, 30(2), 374-381. https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001

Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chemistry, 105(3), 1126-1134. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010

Jaradat, N., Adwan, L., K'aibni, S., Zaid, A. N., Shtaya, M. J. Y., Shraim, N., & Assali, M. (2017). Variability of Chemical Compositions and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Ruta chalepensis Leaf Essential Oils from Three Palestinian Regions. BioMed Research International, 2017, 1-9. https://doi.org/10.1155/2017/2672689

Kacem, M., Kacem, I., Simon, G., Ben Mansour, A., Chaabouni, S., Elfeki, A., & Bouaziz, M. (2015). Phytochemicals and biological activities of Ruta chalepensis L. growing in Tunisia. Food Bioscience, 12, 73-83. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.08.001

Khoury, M., Stien, D., Eparvier, V., Apostolides, N., & El Beyrouthy, M. (2014). Report on the phytochemistry and biological activities of Ruta chalepensis L. essential oils and fractions from Lebanon. Journal of Essential Oil Research, 26(2), 88-98.

Lynda, G. (s. d.). En vue de l'obtention du diplôme de magister En biologie.

Mejri, J., Abderrabba, M., & Mejri, M. (2010). Chemical composition of the essential oil of Ruta chalepensis L : Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. Industrial Crops and Products, 32(3), 671-673. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.002

Mejri, J., Bouajila, J., Ali, S. B. S., Abderrabba, M., & Mejri, M. (2012). Ruta chalepensis L. Essential Oil : Chemical Composition and Phytotoxic Activity. Journal of Biologically Active Products from Nature, 2(6), 341-352. https://doi.org/10.1080/22311866.2012.10719142

Merghache, S., Hamza, M., & Tabti, B. (2010). Etude physicochimique de l'huile essentielle de Ruta Chalepensis L. de Tlemcen, Algérie. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, 5(1). https://doi.org/10.4314/afsci.v5i1.61708

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 26(2).

Merghache, S., Hamza, M., Tabti, B., & Ghalem, S. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of Ruta chalepensis L. and Ruta montana L. from Tlemcen (Algeria). Journal of Applied Pharmaceutical Science, 4(2), 089–094. https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40215

Milbury P-., Richer A.,(2008). Understanding the Antioxidant Controversy. Ed. Praeger:81p Biological Macromolecules.

Nadjib, B. M., & Amine, F. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature.

Nahed Fakhfakh. (2012). Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian Ruta chalepensis L. (Rutacea). Journal of Medicinal Plants Research, 6(4). https://doi.org/10.5897/JMPR11.1121

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83(3), 770–783. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285

Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? European Journal of Lipid Science and Technology, 109(6), 629-642. https://doi.org/10.1002/ejlt.200700064

Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. (2007). Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (Glycine max). Food Chemistry, 104(2), 783-790. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.029

Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex : Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry, 269(2), 337-341. https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019

Quoc, L. P. T., & Muoi, N. V. (s. d.). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from polygonum multiflorum thunb. Roots.

Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., & Kohli, K. (2009). Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents : A Review. Inflammation & Allergy - Drug Targets, 8(3), 229-235. https://doi.org/10.2174/187152809788681029

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20(7), 933-956. https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9

Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81(1), 200-208. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021

Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A., & Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild Ruta chalepensis L. *Industrial Crops and Products*, *33*(3), 617-623. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.028

Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Ouerghemmi, I., Jegham, S., Njima, Y. B., Hamdaoui, G., Zemni, H., & Marzouk, B. (2011). Essential oil composition and antioxidant activity of Ruta chalepensis L. leaves and flowers. Industrial Crops and Products, 34(3), 1558–1563. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.05.016

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. Molecules, 21(5), 559. https://doi.org/10.3390/molecules21050559

Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products : A comprehensive review. Chinese Medicine, 13(1), 20. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x