

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

وزارة التعليم العالي

ET RECHERCHE SCIENTIFIQUE

و البحث العلمي

UNIVERSITE DE TLEMCEM

جامعة ابو بكر بلقايد

FACULTE DE MEDICINE

كلية الطب

DR.B.BENZERJEB-TLEMCEM

د.ب.بن زرجب-تلمسان



DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THEME :

Etude des huiles essentielles de l'espèce Ruta montana

Présenté par :

Ouahab Ouafa

Mohcini Romaissa

Soutenu le 14 octobre 2021

Le jury

Présidente : Dr. Louzim Habiba (maitre-assistant en chimie thérapeutique)

Membres : Dr. Ghenemi Fatima Zohra (maitre-assistant en chimie analytique)

Dr. Hadjila Amina (maitre-assistant en hydro-bromatologie)

Encadreur : Dr. Nordine Zakaria Ibrahim (maitre-assistant en chimie analytique)

REMERCIEMENTS

*Avant toute chose nous remercions **Allah** le tout puissant et miséricordieux ; de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à :

*Notre Encadreur **Dr NOREDINE ZAKARIA IBRAHIM**, Maitre-assistant en chimie analytique à université Abou Bekr Belkaid, qui nous proposé ce sujet passionnant et intéressant, et à qui nous témoignons nos profonde et sincère reconnaissance pour le suivre constant et les conseils dont nous but bénéficier au cours de ce travail.*

***Dr LOUZIM HABIBA** pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury. Qu'elle trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect.*

***Dr GHENEMI FATIMA ZOHRA et Dr HADJILA AMINA** Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.*

Enfin nos sincères gratitudes à tous les enseignants du département de pharmacie qui nous ont formés et toute personne qui participé à notre questionnaire

Dédicace

A la mémoire de mon père

Je dédie ce travail marquant de ma vie à la mémoire de mon père disparu trop tôt, qui restera toujours présent dans mon cœur. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde .رحمه الله

A ma très chère Mère

Quoi que fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon cher mari

Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu Je prie Dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves

A mon cher oncle

Mon second père, merci pour ton amour inconditionnel, ton soutien et tes encouragements. Tu étais toujours à mes côtés, un remerciement particulier et sincère pour tout ce que tu as fait pour moi

A mes adorables sœurs

Imane, Samia, samah et anfel

Qui m'ont toujours soutenu, encouragés et poussés à donner la meilleure de moi-même.

A tous mes collègues et les membres de ma famille Ouahab

Ouahab Ouafa

Dédicace

A mes très chers parents

Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance envers les deux personnes les plus chères à mon cœur.

Vos sacrifices, vos prières, votre amour et votre soutien inconditionné m'ont comblé tout au long de mon existence. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi.

Que dieu tout puissant vous protège et vous accorde une meilleure santé et longue vie afin que je puisse vous rendre un peu de ce que vous méritez.

A mon cher mari pour leur aide, leur encouragement et sa compréhension

A mon cher grand- père paternel

A ma chère sœur et mon cher frère

A mes chers : belle-mère et beau- père

A ma chère et spéciale amie : Habali Fatima

A ma chère amie et binôme : Ouahab Ouafa

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

Mohcini Romaissa

LISTE DES ABREVIATION :	i
LISTE DES TABLEAUX	ii
LISTE DES FIGURES	iii
Introduction Générale :	2
Etude Bibliographique	3
Chapitre I :	4
Présentation de la plante étudiée	4
I.1 Généralités :.....	5
I.2 Position dans la systématique:	5
I.3 Appellation :.....	6
I.4 Description botanique :	6
I.5 Distribution géographique en Algérie :.....	8
I.6 Utilisation du Ruta montana en médecine traditionnelle :	8
I.7 Activités pharmacologiques :.....	8
I.8 Toxicité de la plante :.....	9
I.8.1 Activité mutagène et carcinogène :.....	9
I.8.2 Action sur les enzymes:	9
I.8.3 Action sur phototoxicité:.....	9
I.8.4 Circonstances et symptomatologie de l'intoxication :	9
Chapitre II :	11
Les huiles essentielles.....	11
II.1 Bref historique :	12
II.2 Définition :	12
II.3 Localisation et lieu de synthèse :.....	13
II.4 Rôle des Huiles essentielles pour le règne végétal :.....	13
II.5 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :.....	14
II.6 Composition chimique des huiles essentielles :	14
II.6.1 Les composés terpéniques :	14
II.6.2 Les composés aromatiques :	15
II.6.3 Les composés d'origines diverses :.....	15
II.7 Activités biologiques des huiles essentielles :	15
II.7.1 Activité antioxydant :	15
II.7.2 Activités antibactérienne :.....	16

II.7.3	Activité antifongiques :.....	16
II.7.4	Activité anti-inflammatoire :	17
II.7.5	Activité antiparasitaire :	17
II.7.6	Activité antiseptique :	17
II.8	Méthode d'extraction d'huile essentielle :.....	17
II.8.1	Les méthodes conventionnelles d'extraction :	18
II.8.1.1	Entrainement à la vapeur d'eau :.....	18
II.8.1.2	Expression mécanique à froid :	20
II.8.1.3	Enfleurage :.....	20
II.8.1.4	Extraction par les solvants :.....	20
II.8.2	Les méthodes innovantes d'extraction :	21
II.8.2.1	Extraction par les gaz supercritiques :.....	21
II.8.2.2	Extraction assistée par micro-ondes :	21
II.9	Intérêt des huiles essentielles :.....	22
II.9.1	Intérêt thérapeutique :.....	22
II.9.2	Intérêt des HE en cosmétologie :	23
II.9.3	Intérêt des HE en agroalimentaire :	23
II.10	Toxicité des HE :	23
Chapitre III	:	25
Les activités Antioxydantes	25
III.1	Radicaux libre :.....	26
III.1.1	Définition :	26
III.1.2	Principaux radicaux libre :	26
III.1.3	Les sources de production des radicaux libres :.....	27
III.2	Stress oxydant :	28
III.2.1	Définition :	28
III.2.2	Les conséquences du stress oxydant :.....	29
III.2.3	Les maladies liées au stress oxydant :	30
III.3	Antioxydants :	30
III.3.1	Définition :	30
III.3.2	Systèmes antioxydants :.....	31
III.3.2.1	Les antioxydants enzymatiques :	31
III.3.2.2	Les antioxydants non enzymatiques :	32
III.3.3	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :	33

III.3.3.1 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl "DPPH" :.....	33
III.3.3.2 Pouvoir antioxydant réducteur ferrique "FRAP" :.....	33
III.3.3.3 Test de piégeage de l'ABTS :.....	33
III.3.3.4 Capacité d'absorption des radicaux oxygénés "ORAC" :.....	34
III.3.3.5 Test de blanchissement de la Béta-carotène :.....	34
III.3.4 Toxicité :	34
Partie Pratique	35
Matériels et Méthodes	36
I Objectifs de l'étude :.....	37
I.1 Objectif principal :	37
I.2 Objectif secondaire :	37
II Matériels et Méthodes :	37
II.1 Type de l'étude :.....	37
II.2 Matériel.....	37
II.2.1 Matériels végétale :.....	37
II.2.1.1 Récolte du matériel végétale :.....	37
II.2.2 Réactifs :	38
II.2.3 Matériels :	38
II.3 Méthodes :	39
II.3.1 L'enquête ethnobotanique	39
II.3.2 Détermination de l'humidité :.....	40
II.3.3 Extraction des HE par hydrodistillation :.....	40
II.3.3.1 Détermination du rendement d'extraction :	41
II.3.3.2 Caractérisations de l'huile essentielle :	42
II.3.4 Evaluation de l'activité antioxydante :.....	43
II.3.4.1 Piégeage du radical libre DPPH « 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl » :.....	43
II.3.4.2 Réduction du fer FRAP « Ferric Reducing Antioxidant Power » :	44
II.3.5 L'activité antibactérienne :.....	46
Résultats et discussion	52
III Résultats et discussion :	53
III.1 L'enquête ethnobotanique :	53
III.1.1 Enquête auprès des herboristes :	53
III.1.1.1 Le nom vernaculaire de la plante :.....	53
III.1.1.2 Parties utilisées :	53

III.1.1.3 Mode de préparation :.....	54
III.1.1.4 Pathologies traitées :	55
III.1.2 Enquête auprès des personnes :.....	55
III.1.2.1 Répartition de la population selon le sexe :	55
III.1.2.2 Répartition de la population selon l'âge :.....	56
III.1.2.3 Répartition de la population selon la connaissance de la plante :	57
III.1.2.4 Domain d'utilisation :.....	57
III.1.2.5 Parties utilisées :	58
III.1.2.6 Mode de préparation :.....	59
III.1.2.7 Pathologies traitées :	59
III.1.2.8 Effets indésirables :.....	60
III.1.2.9 Toxicité.....	61
III.2 Taux d'humidité :.....	62
III.3 Le rendement d'HE :.....	62
III.4 Caractérisation de l'huile essentielle :	63
III.5 Evaluation de l'activité antioxydante :.....	63
III.5.1 L'activité antioxydante par DPPH :.....	64
III.5.2 Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) :.....	65
III.6 Evaluation de l'activité antibactérienne :.....	67
Conclusion générale :	72
Références	73
Annexes	82

LSTE DES ABREVIATION :

AAPH: 2,2'-azobis-2-aminopropane dihydrochloride

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association française de normalisation

AINS : Anti inflammatoire non stéroïdiens

AG I: Acide gras insaturé

CO₂: Dioxyde de carbone

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DMSO: Diméthylsulfoxyde

ERO: Especies réactive de l'oxygène

FRAP: Ferric reducing antioxydant power

GPx: Glutathion peroxydases

HE : Huile essentielle

ORAC: Oxygen radical absorbance capacity

RESALA : Recherche en Sciences Appliquées à l'alimentation

RL : Radical libre

SO: Stress oxydant

SOD: Superoxydes dismutases

TEAC: Torlox equivalent antioxydant capacity

USDA: United States Department of Agriculture

UV : Ultra-violet

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux radicaux libre et leur structure chimique (98).....	26
Tableau 2 : Les souches utilisées pendant l'évaluation des activités antibactériennes.	46
Tableau 3 : Degré de sensibilité selon le diamètre d'inhibition.....	51
Tableau 4 : Caractères physicochimiques d'HE de <i>Ruta montana</i>	63
Tableau 5 : les valeurs de l'IC50 des HE de <i>Ruta montana</i> et l'acide ascorbique.....	65
Tableau 6 : diamètre de la zone d'inhibition des huiles essentielles de la plante de.....	69

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : La plante <i>Ruta montana</i> (21)	7
Figure 2 : L'hydrodistillation simple.....	18
Figure 3 : Distillation à vapeur saturée (77).....	19
Figure 4 : L'hydro diffusion (76)	19
Figure 5 : Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse	20
Figure 6 : Dispositif d'extraction assistée par micro-ondes (77)	22
Figure 7 : Origine des différents RL oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (99)	28
Figure 8 : lésion de l'ADN formées par attaque radicalaire patrimoine génétique des cellules (99)...	29
Figure 9 : Nature de quelques modifications des chaines latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (99).....	30
Figure 10 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (97).....	32
Figure 11 : Présentation de la zone de récolte.....	38
Figure 12 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de type Clevenger.	41
Figure 13 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (128).	43
Figure 14 : Mécanisme réactionnel de la réduction de fer (127).....	45
Figure 15 : Préparation des disques.....	47
Figure 16 : Préparation des différentes dilutions.....	48
Figure 17 : Ensemencement par écouvillon.	49
Figure 18 : Dépôt des disques.	50
Figure 19 : Incubation des boîtes pétris.....	50
Figure 20 : Principe de la méthode de diffusion par disque.	51
Figure 21 : Diagramme en secteur représente les noms vernaculaires de la plante	53
Figure 22 : Fréquence d'utilisation des différentes parties de la plantes par les herboristes.....	54
Figure 23 : Fréquence d'utilisation de différentes modes de préparation par les herboristes.	54
Figure 24 : Les différentes pathologies traitées de <i>Ruta montana</i>	55
Figure 25 : Répartition de la population selon le sexe.	56
Figure 26 : Répartition des populations selon la catégorie d'âge.....	56
Figure 27 : Répartition de la population selon la connaissance de la plante.	57
Figure 28 : Domaine d'utilisation de la plante par la population.	58
Figure 29 : Fréquence d'utilisation des différentes parties de la plantes par la population.....	58
Figure 30 : Fréquence d'utilisation de différente mode de préparation par la population.	59
Figure 31 : Les différentes pathologies traitées par la plante.	60
Figure 32 : Diagramme en secteur représente les effets indésirables de la plante.	60
Figure 33 : Diagramme en secteur représente la toxicité de la plante.	61
Figure 34 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH par les HE.	64
Figure 35 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.....	64
Figure 36 : Pouvoir réducteur d'HE de <i>Ruta montana</i>	65
Figure 37 : Pouvoir réducteur d'acide ascorbique.....	66
Figure 38 : la souche testée E. Coli.	67
Figure 39 : La souche testé S.aureus.	68
Figure 40 : la souche testée Pseudomonas aeruginosa.	68

Introduction Générale

Introduction Générale :

Selon l'OMS : « la médecine traditionnelle existe depuis toujours : elle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales » (1).

Les plantes médicinales sont utilisées de façon traditionnelle depuis des siècles pour traiter diverses maladies. De nombreux médicaments ont été conçus à base de plantes utilisées traditionnellement : saule (aspirine), digital (cardiotonique), pavot (morphine)...

L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques (2).

La rue est une plante médicinale connue sous le nom scientifique de *Ruta montana* appartient à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale Fidjel. Elle est spontanée, largement répandue en Afrique du nord, particulièrement en Algérie. Cette plante est connue pour sa richesse en produits des métabolites secondaires et particulièrement en huiles essentielles et alcaloïdes.

Malgré sa prépondérance, ce genre de la rue reste une plante très peu étudiée notamment en Algérie ! ce travail vise principalement à évaluer les activités biologiques du *Ruta montana* : l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne. Et secondairement, mener une enquête ethnobotanique sur la plante dans la région de Tlemcen.

Cette étude, est organisée de la manière suivante : une première partie bibliographique se focalise sur la description de la plante, quelques détails sur les huiles essentielles et les activités antioxydantes. Une deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés et une troisième partie consacrée à la présentation des résultats obtenus et la discussion.

Etude Bibliographique

Chapitre I :
Présentation de la plante
étudiée

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée

I.1 Généralités :

La famille des Rutaceae a été décrite initialement en 1782 par Durande, puis par de Jussieur en 1789. Elle comprend près de 1500 espèces regroupées en 150 genres environ. Cette famille est plus ou moins cosmopolite, avec une forte concentration dans la zone intertropicale et dans les régions tempérées de l'hémisphère "Australie, Afrique du sud"(3).

Les Rutaceae sont caractérisées par des poches sécrétrices d'un type qui n'est rencontré dans aucune autre famille dites « schizolysigènes »(4) . Ces poches, d'origine épidermique, sont toujours superficielles et libèrent leur contenu, une HE, à la moindre pression.

La Rue s'est largement répandue dans le monde à cause de ses propriétés ornementales et médicinales. Elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variété de couleur bleue ou panachée et parfois naturalisée(5).

Ruta vient du grec " rhyté " qui signifie sauvé, prévenir, ou de " reo " qui signifie qui coule faisant certainement référence à sa vertu emménagogue (6).

Ce genre comprend 8 espèces d'arbustes, de sous-arbrisseaux et de vivaces herbacées à souche ligneuse, caducs ou persistants, vivant dans les lieux secs et rocailleux, de la région méditerranéenne, et du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest de l'Asie. Les fleurs, jaunes, dentées ou fimbriées, à quatre ou cinq pétales, s'épanouissent en cymes terminales(7).

Le genre *Ruta* L. est représenté en Algérie par 4 espèces : *R. montana* (clus) L ; *R. angustifolia* (pers) P ; *R. chalepensis* L ; cout et *R. latifolia* (salib) Lindb. Les espèces diffèrent entre elles par l'allure des feuilles, de la grappe fructifère, des sépales et bractées(8, 9).

I.2 Position dans la systématique:

La classification systématique de l'espèce « *Ruta montana* L. » est décrite ci-dessous(10) :

- **Règne** : Plantae.
- **Sous règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires).
- **Super division** : Spermatophyta (plantes à graine).
- **Division** : Magnoliophyta.
- **Sous division** : Angiospe.
- **Classe** : magnoliopsida (dicotylédons).
- **Sous classe** : Rosid.
- **Ordre** : Sapindales.
- **Famille** : Rutaceae.
- **Genre** : *Ruta*.
- **Espèce** : *Ruta montana*.

I.3 Appellation :

Cette plante est désignée par un grand nombre de dénominations depuis qu'elle est connue. Elle est indiquée par son nom français « rue de montagne » dont la signification fait allusion à ses vertus emménagogues(11). Dans la médecine grecque et latine, la rue est tirée du nom « *Réuo* » qui signifie libre de maladie(12). La plante est citée par Ibn-Baytar sous les termes de *sadzab* et *fidjen* (13). Alors que le nom vernaculaire est le « Fidjel el Djbel » en arabe et « Awernii » en berbère(14).

I.4 Description botanique :

Ruta montana appelée communément rue des montagnes est un arbrisseau des Rutaceae, du genre *Ruta*. C'est une plante méditerranéenne semi arbustive, de 40 cm à un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base (15-17).

❖ La partie aérienne

- **Tiges :** Droites, cylindrique, très rameuses, glauques et glabres de 2 à 5 pieds de hauteurs.
- **Feuilles :** Pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovales, épaisses, obtuses, légèrement dentées sur les bords ou entières.
- **Fleurs :** Jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment 10 étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal (18, 19).
- **Fruits :** Des capsules globuleuses à lobes arrondies et pédoncule court "4 mm" et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents ; libérant à maturité de petites graines noirâtres(17).
- **Semences :** Réniformes, à embryon renfermé dans un album charnu (20).
- **Odeur :** Nauséabonde et saveur chaude et amère.

❖ Partie souterraine

- **Racine :** blanches, fibreuses et à nombreuses racicules(20).



Figure 1 : La plante *Ruta montana* (21).

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée

I.5 Distribution géographique en Algérie :

La Rue pousse dans les régions tempérées et chaudes, elle vit à l'état spontané dans les rochers, collines sèches et elle est abondante dans les terrines calcaires dans régions méditerranéennes(9), sur les lieux arides de presque toute la France, l'Europe méridionale et l'Afrique du nord. En Algérie, elle est présente dans les zones montagneuses de l'intérieur jusqu'à l'Atlas saharien(22).

I.6 Utilisation du *Ruta montana* en médecine traditionnelle :

Ruta montana est une plante à usage thérapeutique par excellence, les parties les plus utilisées sont les feuilles et les racines. Cette plante est utilisée sous différentes préparations à savoir la décoction, la macération et l'infusion, de plus, ses HE ont aussi des vertus médicinales. Une pincée pendant une semaine est la posologie la plus recommandée, pour éviter d'éventuelles intoxications.

- **Pour l'usage interne :**

- ✓ Comme emménagogue puissant, pour les règles douloureuses, les accouchements difficiles et, à doses fortes, comme aphrodisiaque et comme abortif.
- ✓ Pour les affections respiratoires sévères, les gastralgies, les spasmes, les troubles intestinaux, la goutte, les troubles nerveux, épilepsie, la paralysie et comme vermifuge.
- ✓ En injection vaginales comme abortif, en lavements comme anthelminthique.

- **Pour l'usage externe :**

- ✓ La décoction dans l'huile, en friction, soulage les rhumatismes, les courbatures et, appliquée sur la peau, a la réputation d'améliorer le psoriasis et le vitiligo.
- ✓ l'infusion en collyre est employée contre les ulcérations de la cornée, en gouttes auriculaires pour les otites et les bourdonnements d'oreille, par voie nasale, les gouttes traitent l'ozène.
- ✓ Ainsi que les fièvres et les vomissements du nourrisson et du jeune enfant (17).

I.7 Activités pharmacologiques :

Les feuilles de la plante sont irritantes et vésicantes, propriétés dues à l'HE et en particulier à la méthylnonylcétone qui est un rubéfiant (1).

Les HE de rue de montagne a un potentiel antioxydant et une activités antimicrobienne (23, 24).

La méthyles-cétone contenue dans la plante provoque une congestion pelvienne et des contractons utérines conduisant aux hémorragies utérines et à l'avortement en cas de grossesse, c'est un abortif puissant (25).

Parmi des propriétés reconnues par l'USDA «United States Département of Agriculture» est de sa capacité pour abaisser la pression artérielle comme hypotenseur, ce qui en fait une plante utile pour le traitement des vaisseaux sanguins(26).

I.8 Toxicité de la plante :

Si depuis Hippocrate bien des utilisations ont traversé les siècles, la toxicité, mieux connue, a probablement contribué à éliminer plusieurs usages(27).

C'est une plante à manier avec précaution car son HE est toxique ; elle contient des flavonoïdes, des alcaloïdes, de la vitamine C et des furo-coumarines(28).

I.8.1 Activité mutagène et carcinogène :

Certaines furocoumarines, associées à des rayonnements UV, présente une activité mutagène, voire létale, vis-à-vis de micro-organismes bactériens ou fongiques(29). Leur propriété d'intercalation dans l'ADN est invoquée par les caractères mutagènes et carcinogènes potentiels de ces molécules(30). L'addition des dérivés du psoralène peut affecter également les acides gras insaturés « AGI » membranaires ainsi que certaines protéines. D'autres furocoumarines activent la croissance de certaines cellules tumorales (31).

I.8.2 Action sur les enzymes:

Les furocoumarines linéaires sont des inhibiteurs d'enzymes de type cyto P450 dans le foie des mammifères ou chez les insectes(32, 33). Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, lors d'une prise médicamenteuse, associée à une consommation d'aliments contenant des furocoumarines comme le jus de pamplemousse, intervient une inhibition des enzymes hépatique, ce qui conduit à une accumulation, potentiellement toxique, du médicament chez le sujet.

I.8.3 Action sur phototoxicité:

Les furocoumarines sont photo sensibilisantes et causent de graves dommages cutanés, en particulier le 5-méthoxypsoralène (bergaptène) et le 8-méthoxypsoralène (xanthotoxine), composés volatils présents dans les HE de *Ruta montana* et *Ruta graveolens*.

Plusieurs cas de réactions phototoxiques sont signalés chez l'homme, à la suite de contact cutané avec des espèces appartenant à la famille des Rutaceae. Cela se traduit par des érythèmes, des dermatites bulleuses parfois sévères, simulant des brûlures, qui diffèrent des réactions de photo allergie(34).

I.8.4 Circonstances et symptomatologie de l'intoxication :

Les cas d'intoxication les plus fréquents sont observés à la suite de tentatives d'avortement au cours desquelles la rue fraîche, sèche ou en poudre, est administrée sous forme de décoction buvable et/ou sous forme d'injections vaginales. Elle est souvent associée à d'autres espèces toxiques (*Cannabis*, *Peganum*, etc..). Ce qui potentialise la toxicité et égare le diagnostic. La symptomatologie se manifeste par une salivation importante avec gonflement de la langue, une gastroentérite violente, des signes neuropsychique (vertige, excitation, puis somnolence,

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée

Voire de prostration, tremblements). Des douleurs abdominales et des hémorragies utérines suivent. Dans les cas graves, coma et mort peuvent intervenir(35).

Chapitre II :

Les huiles essentielles

II.1 Bref historique :

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des HE datent de l'an 3000 avant J.C.(36). Les HE semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

Les égyptiens, puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, médecine, rites religieux, coutumes, alimentation, païennes, etc.(37).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec la civilisation arabe, l'HE devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. La Syrie et l'Iran deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques (36).

Par la suite, les HE ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les HE, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches(37).

II.2 Définition :

Le terme huile essentielle a été conçu empiriquement. Le mot "huile" souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances ; cependant, le mot "essentielle" se comprenant comme étant le caractère principal de la plante (38).

Les HE sont des produits organiques aromatique, liquide, volatiles, d'origine végétales. Elles sont très concentrées, sensible à la décomposition sous l'effet de la chaleur (39).

L'HE est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou d'arbres aromatiques pour en extraire l'essence. L'HE est donc l'essence distillée. Toutefois dans l'usage courant le terme "essence" est souvent utilisé pour parler d'HE. Mais Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HE ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol d'amande douce,, de maïs, etc. ...)(40).

L'association française de normalisation (AFNOR) définit une HE comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation à sec, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus.

L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par procédés physiques (41). Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

II.3 Localisation et lieu de synthèse :

Parmi les espèces végétales (800000 à 1500000 selon les botanistes) 10% seulement sont dites "aromatiques". Les genres capables d'élaborer les constituants des HE sont réparties dans un nombre de familles limité, exemple : *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Lauraceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae* (42).

Les HE peuvent être stockée dans divers organe fleur (origan), feuillés (citronnelle), fruits (badiane), écorce (cannelier), rhizomes (acore), bois (bois de rose), ou grain carvi (43).

Il est bien connu que la plupart des HE 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 Verbénacées, des Géraniacées, entre autre. 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, Rosacées, Hypériacées, Rubiacées et autres exemple : l'*Encalyptus globulus*.

3) Les canaux glandulaires lysigènes : on retrouve de canaux glandulaires dans tous les bois résineux et en particulier chez les Cupressacées et les Abiétacées; le pin maritime en est un exemple. Les familles suivantes contiennent aussi des espèces avec ce type de glande : les Apiacées (les fruits), les Burséracées, les Dipterocarpacees et les Anacardiées (44).

II.4 Rôle des Huiles essentielles pour le règne végétal :

Beaucoup de plantes produisent les HE en tant que métabolites secondaires mais leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante est inconnu (45). Il Ya beaucoup de spéculation au sujet du " rôle " d'HE des plantes.

Les HE jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antifongique, antiviral, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante(46).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autre considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réaction chimique, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques(47).

D'autre part, les HE reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques , agissant sur la personne dans sa globalité(48). Elles Soulagent la nervosité et les douleurs rhumatismales.

Il semble que les HE extraites de certaines aromatiques ont un rôle important dans notre vie soit physiologiques ou bien thérapeutique, sans oublier le rôle biologique de ces huiles

(inhibiteurs des germination et protecteurs les plantes des prédateurs insectes, champignons)(49).

II.5 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Les HE forment un groupe très homogène en ce qui concerne leurs propriétés physico-chimiques qui sont les suivantes(50):

- ✓ Elles sont généralement liquides à température ambiante.
- ✓ Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- ✓ Elles sont volatiles et très rarement colorées.
- ✓ La densité des HE à forte teneur en monoterpènes est faible.
- ✓ L'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- ✓ Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- ✓ La solubilité dans l'éthanol à 80% est en relation directe avec la teneur en hydrocarbures aliphatiques, mono et sesquiterpènes. Plus leur teneur est élevée et plus la solubilité est faible.
- ✓ Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.

Les HE sont très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux.

II.6 Composition chimique des huiles essentielles :

Les compositions chimiques des HE sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimique dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : des terpénoides d'une part et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (51).

II.6.1 Les composés terpéniques :

Les terpènes doivent leur nom à Kekulé (ter=térébenthine ; pène=pin). Ce sont des composés formés de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3diène), unité composée de 5 carbones isopréniques (52).

Seuls les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée « monoterpènes et sesquiterpènes » sont rencontrés dans la composition des HE (42, 53).

- Les monoterpènes (composés en C₁₀) : ce sont des hydrocarbures volatils présents dans la quasi-totalité des HE ; ils peuvent être acycliques (Ocimène, Myrcène), monocyclique (Terpinène, p-Cymène) ou bicyclique (Camphène, Pinènes, Sabinène, 3-Carène) (53).

- Les sesquiterpènes (composé en C15) : ils sont constitués de trois éléments isopréniques, disposés de façon à donner des structures monocycliques ou polycycliques.

II.6.2 Les composés aromatiques :

Les HE renferment aussi des composés odorants (phényl-propanoïdes) dont la biogenèse est différente de celle des terpènes (38)

Parmi ces divers composés aromatiques, on peut citer :

- les aldéhydes (cuminique, anisiques, cinnamique).
- les phénols et éthers (thymol, anéthol, eugénol).
- les coumarines (ombellifèrone, bergapteine).

Des composés acycliques tels que les acides organiques à faible poids moléculaire (acétique, valérique formique) En générales, les HE peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible poids moléculaire peuvent être également rencontrés.

II.6.3 Les composés d'origines diverses :

Les composés à faible poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation : acides, aldéhydes, lactones et esters acycliques (53).

II.7 Activités biologiques des huiles essentielles :

Les HE possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses, cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (54, 55).

L'activité biologique d'une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son "totum" ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (56).

II.7.1 Activité antioxydant :

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (57).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène (58).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation de H.E directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, yaourt, purées de fruit, ...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, poulet, charcuterie, fruits et légumes entiers ...) contribuent à le préserver des phénomènes d'oxydation (59).

II.7.2 Activités antibactérienne :

La résistance contre les agents antimicrobiens est devenue de plus en plus un problème majeurs et urgent dans le monde (60), ce qui a orienté les recherches des agences et des autorités de la santé vers les ressources phylogénétiques pour trouver une solution à ce problème(61).

Comme agents antibactériens, l'utilisation des HE semble être une solution alternative intéressante pour contrôler la présence des bactéries pathogènes dans les aliments, dont beaucoup de ces huiles ont des activités antibactériennes remarquables contre un large spectre (62).

Les propriétés antibactériennes des HE sont plus fortement expliquées par l'effet additif de leurs principaux composés antimicrobiens en raison de leurs constituants mineurs qui apparaissent, à jouer un rôle significatif en synergie(63).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (64).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le carvacrol et le thymol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (65).

II.7.3 Activité antifongiques :

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HE ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (66).

Les HE les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *labiatae* : thym, lavande, origan, menthe, sauge, romarin, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des HE, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6diméthoxyphénol) sont plus antifongique et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très

marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative (67).

Cette activité estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : **Phénols**›**Alcools**›**Aldéhydes**›**Cétones**›**Ethers**›**Hydrocarbures**.

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composées phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol› thymol› iso Eugénol› eugénol) (68).

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique optimal. L'activité des terpènes des HE est en corrélation avec leur fonction chimique. Avec leurs travaux ils ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait(69).

II.7.4 Activité anti-inflammatoire :

Les HE ont une place particulièrement intéressante dans de l'inflammation. Elles constituent une alternative aux traitements allopathiques classiques de type AINS « Anti-inflammatoires non stéroïdiens » qui sont connus pour leur effet secondaire digestif au long court. Bien utilisées, ces HE n'induisent pas d'effets nocifs. Seul un risque d'irritation cutanée peut être observé si l'on ne dilue pas suffisamment l'HE dans une HV.

Les aldéhydes monoterpéniques comme citrals, curminal, citronellal. Ils sont utiles par voie externe et interviennent par une action hyperhémiant en favorisant les mécanismes physiologiques de défense anti-inflammatoire naturelle impliquant les leucocytes. Cette activité hyperhémiant est concomitante de la levée des spasmes artériolaires favorisant l'état inflammatoire(70). Ils modulent également la réponse immunitaire par voie interne.

II.7.5 Activité antiparasitaire :

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (71).

II.7.6 Activité antiseptique :

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (71).

II.8 Méthode d'extraction d'huile essentielle :

Plusieurs méthodes sont connues pour extraire les essences aromatiques des végétaux. Les principales méthodes d'extractions sont basées sur l'entraînement à la vapeur d'eau, l'expression, la volatilité et la solubilité. Chacune d'elles donne une image différente de la composition de l'HE du produit.

L'extraction des HE de la matière végétale peut être réalisée au moyen de plusieurs techniques. Le choix de ces derniers se fait en fonction de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation (72).

Il y a deux groupes : les méthodes conventionnelles dites classiques et les méthodes innovantes.

II.8.1 Les méthodes conventionnelles d'extraction :

II.8.1.1 Entraînement à la vapeur d'eau :

Il existe trois méthodes de distillation qui repose sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation simple, la distillation à la vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (51).

➤ Hydrodistillation simple :

Cette méthode est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique (73). Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'HE se sépare par différence de densité (74).

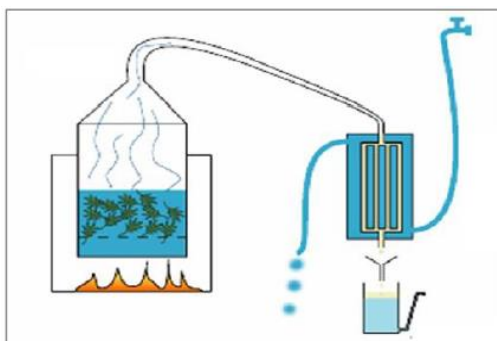


Figure 2: L'hydrodistillation simple.

➤ Distillation à vapeur saturée

L'entraînement à la vapeur d'eau pure est le procédé qui donne les meilleures garanties de qualité (75).

Dans ce procédé, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées (74).

Chapitre II : les huiles essentielles

La vapeur fait éclater les cellules à essences. Les molécules aromatiques sont captées par la vapeur qui se charge de molécules volatiles. A la sortie de la cuve, la vapeur s'est combinée aux HE. La condensation et le refroidissement s'effectuent dans un serpentin.

A la sortie du serpentin, un essencier recueille la vapeur refroidie et revenue à l'état d'eau et l'HE. La différence de densité entre les deux liquides facilite la séparation de cette dernière qui, à quelque exception près, est plus légère que l'eau (75).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (76).

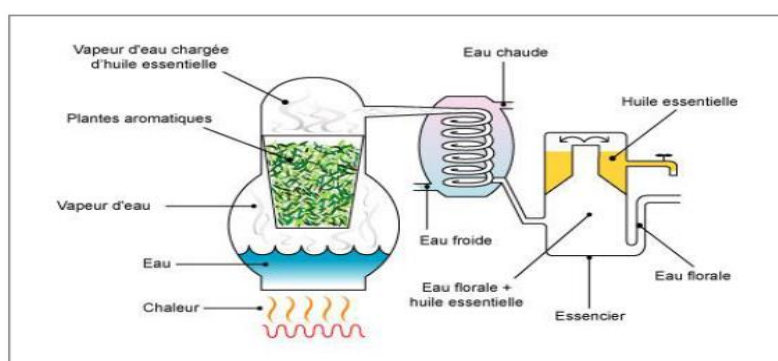


Figure 3: Distillation à vapeur saturée (77)

➤ Hydro diffusion

L'hydrodiffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (76).

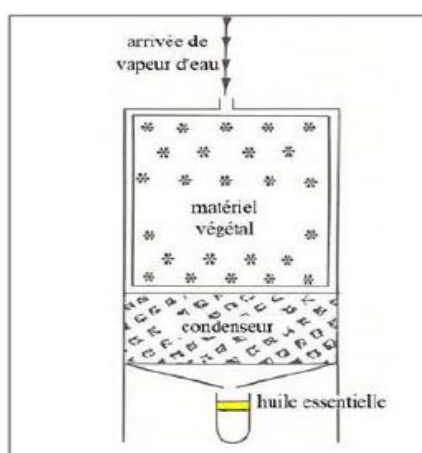


Figure 4: L'hydro diffusion (76)

II.8.1.2 Expression mécanique à froid :

Ce mode d'obtention particulier est réalisé uniquement pour les fruits de la famille botanique des *Rutaceae* (citron, bergamote, orange, mandarine, etc.). C'est une méthode simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches oléifères localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu (76). L'HE est séparé du jus de fruit par un procédé mécanique de décantation à froid.

De nos jours, l'expression mécanique reste le procédé le plus simple et le seul ne modifiant pas le produit obtenu. Ainsi, l'HE recueillie porte le nom d'essence.

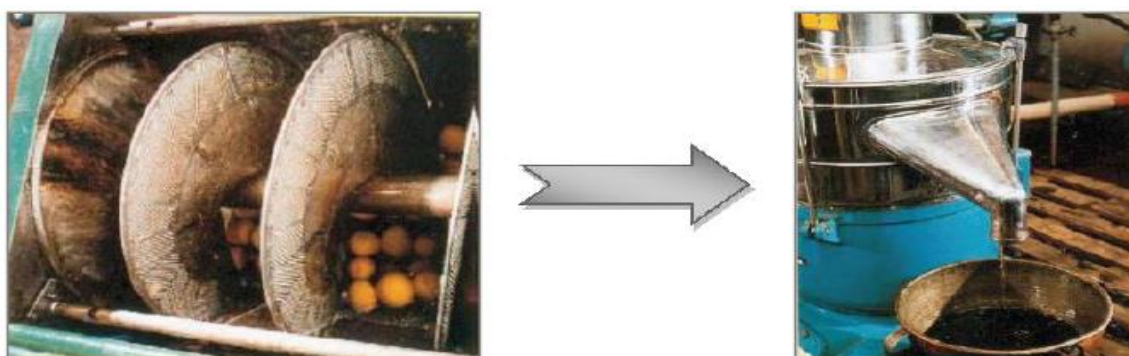


Figure 5: Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse

Séparatrice de l'essence de *Citrus* (78).

II.8.1.3 Enfleurage :

L'enfleurage est l'un des plus anciens procédés, elle a été au départ utilisée par les égyptiens. Il semblerait que l'application majeure soit en parfumerie, et ne concerne que les fleurs fragiles, qui gardent l'odeur après la cueillette, mais dont l'hydro distillation risque de dégrader les molécules odorantes présentes. Cette méthode consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé.

Lorsque les fleurs sont peu fragiles à la chaleur (par exemple, les fleurs d'oranger, de mimosa, d'acacia), un enfleurage à chaud est plus rapide que celle à température ambiante (79).

II.8.1.4 Extraction par les solvants :

L'extraction par les solvant est couramment employée pour l'industrie des arômes, mais doit impérativement être proscrite pour un usage thérapeutique, excepté si le seul solvant est l'alcool pur (80). Elle est généralement précédée d'une division de la drogue : contusion des organes frais, concassage des racines et rhizomes, hachage des drogues herbacées, réduction en copeaux des bois (81).

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne la concrète : mélange odorant et consistante pâteuse. L'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue (82).

Elle est utilisée avec les plantes dont l'extraction d'HE grâce à l'hydrodistillation est inefficace : c'est le cas du jasmin, de certaines roses, du néroli du mimosa, du narcisse (83).

II.8.2 Les méthodes innovantes d'extraction :

II.8.2.1 Extraction par les gaz supercritiques :

Le terme supercritique signifie que le CO₂ sous pression 73.8 bar et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, il est capable de dissoudre les HE. La matière végétale est chargée dans l'extracteur ou est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'HE qui est poché du naturel et sans trace de solvant. De plus le CO₂ est non toxique, inodore, incolore et inflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures (84, 85).

II.8.2.2 Extraction assistée par micro-ondes :

Cette technique consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Les parties du végétal les plus riches en eau, comme les vacuoles, absorbent les ondes puis les convertissent en chaleur, engendrant une augmentation rapide et soudaine de la température au sein de ces structures. Ces dernières éclatent sous la pression régnant l'HE. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation de façon continue du distillat, composé d'eau et d'HE, et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal.

Pour les plantes aromatiques, après seulement 30 minutes d'extraction, les rendements en HE obtenus sont identiques à ceux obtenus après 6 heures d'hydrodistillation (86).

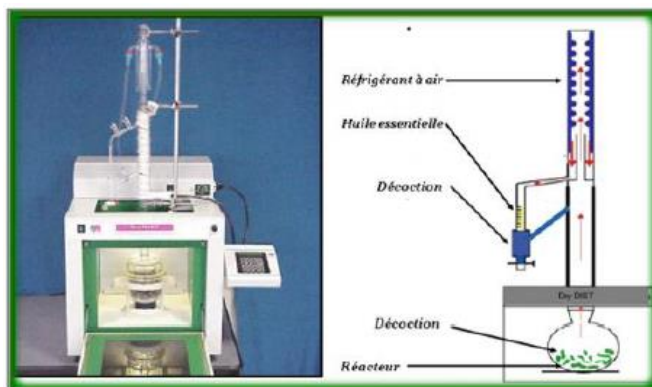


Figure 6: Dispositif d'extraction assistée par micro-ondes (77).

II.9 Intérêt des huiles essentielles :

II.9.1 Intérêt thérapeutique :

Les HE présentent différentes propriétés pharmacologiques sur nombreuses cibles de l'organisme. Elles sont de plus en plus utilisées en pharmacie pures ou au sein de spécialités que ce soit à des fins d'aromatisation (excipient) ou comme principe actif, parmi ces propriétés on cite :

- ❖ **Insecticide** : Certaines huiles sont insecticides ou insectifuges comme celles possédant des fonctions aldéhydes par exemples : le citronellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou citronnelle éloignent les mouches, poux (87, 88).
- ❖ **Anti-inflammatoire** : Les HE possédant de aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'HE du Gingembre (88).
- ❖ **Régulatrices du système nerveux**

- *Anxiolytique, calmante* : Les aldéhydes monoterpénique de type citrals contenu par exemple dans l'HE de Mélisse ou celle de verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil (89).

- *Antalgique, analgésique* : Les HE les plus connus pour leur action antalgique sont celles du Gingembre, Giroflier, Lavande vraie Eucalyptus, citronné (88).

Drainantes respiratoires

-*Expectorantes* : Les HE riches en oxydes (1,8 cinéole) comme l'HE d'*Eucalyptus globulus* agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique (88).

Fluidifiantes : les HE possédant des cétones (comme la verbénone de l'HE du Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse(88).

- ❖ **Cicatrisantes** : Les HE cicatrisantes sont celles de Lavande vraie, de Ciste, d'Immortelle de Myrrhe. On utilise souvent un mélange de plusieurs HE cicatrisante avec une HE végétale tel que l'huile d'amande douce (88).
- ❖ **Digestives** : Certaines HE, comme le cumin ou encore le fenouil, attisent l'appétit et améliorent la digestion. D'autre comme le carvi ou la menthe stimulent les voies biliaires du fait de leurs actions cholérétiques et cholagogues(87).
- ❖ **Dermatologiques** : Les HE de lavande officinale et d'eucalyptus citronné apaisent avec succès les démangeaisons dues aux piqûres d'insectes, de méduse, d'ortie ... l'action lipolytique du citron et du lemon-grass permet de lutter contre la cellulite par dissolution des graisses (87).
- ❖ **Endocrino-régulatrices** : Certaines HE ont la capacité de réguler l'ensemble des glandes endocriniennes de l'organisme : l'HE de myrrhe atténue une hyperthyroïdie en freinant l'activité de la thyroïde (87).

II.9.2 Intérêt des HE en cosmétologie :

Les HE à l'état dilué, sont utilisés dans les parfums et les eaux de toilettes. L'industrie de parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de Jasmin, de Rose, de violettes, de verveine... (73, 90). Les HE sont utilisés depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau et de ses désordres (ride, acné), les cheveux (cheveux, cassants pellicules, ternes, sec...), la silhouette (vergetures, cellulite...).

II.9.3 Intérêt des HE en agroalimentaire :

Plusieurs segments alimentaires utilisent, à différents degrés, des HE qui leur offrent un potentiel important de leurs notes aromatiques dans un registre infiniment varié. On les retrouve presque dans tous les secteurs alimentaires : boissons non alcoolisées, confiseries, produits laitiers, soupes, sauces, produits de boulangerie, produits carnés...etc.(91). Cependant, c'est seulement récemment que beaucoup d'attention a été donnée à l'application potentielle d'HE comme conservateurs et ceci est dû à la présence dans ces dernières de composés ayant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (92).

II.10 Toxicité des HE :

La majorité des intoxications par les plantes connues est la cause d'un surdosage car leur accumulation dans l'organisme crée des affections dégénératives et même des effets secondaires plus banales (vomissements, syncopes, vertiges). L'abus d'essences concentrées peut aussi provoquer l'engorgement du foie et la rétention d'urine (93).

Il existe également des HE qui peuvent provoquer des irritations cutanées lorsqu'on les utilise de façon externe (94) Les effets toxiques se manifestent par des réactions allergiques (abcès, eczéma). Ce sont surtout les HE et purifiées qui provoquent ces inflammations (93).

Chapitre II : les huiles essentielles

Les HE sont des médicaments et une dose peut entraîner des troubles très graves, seul un praticien averti et apte à vous prescrire par contre les baumes, les huiles de corps, les huiles de bains vendus dans le commerce, sont sans danger, si bien sûr en respectent la posologie (95).

En général, chez l'homme, l'ingestion de 10 à 30 ml d'HE peut être mortelle. Aux doses plus faibles, on note d'hypothermie, des troubles digestifs et une confusion mentale(42).

Chapitre III :

Les activités Antioxydantes

III.1 Radicaux libre :

III.1.1 Définition :

Le radical libre est un atome ou d'une molécule qui contient un ou plusieurs électron(s) non paire(s), comme conséquence de la perte d'un ou plusieurs électron(s) de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi liaison qu'il faut satisfaire par pillage local d'électron(s) (96).

Les RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres atomes ou molécules, essayant de capturer l'électron nécessaire pour devenir plus stable.

III.1.2 Principaux radicaux libre :

Les principaux RL entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes ($O_2^{\circ-}$) et hydroxyles (OH°), mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le Peroxynitrite ($ONOO^{\circ}$) (97).

Tableau 1: Principaux radicaux libre et leur structure chimique (98).

Radicaux libres « nomenclature »	Structure chimique
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$
Radical hydroxyle	OH°
Oxygène singulet	1O_2
Monoxyde d'azote	NO°
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Nitroxyde	NOO°
Peroxynitrite	$ONOO^{\circ}$
Radical peroxy	ROO°

Chapitre III : les activités antioxydantes

III.1.3 Les sources de production des radicaux libres :

Des RL sont produites par un grand nombre de mécanisme tant endogène qu'exogènes.

- La mitochondrie est la source de production majeure d'anion superoxyde " $O_2^{\circ-}$ " dans la cellule intacte. La formation de ce radical est liée à l'activité physique et par la même à l'intensité d'oxygénation.
- L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par le complexe enzymatique «NADPH» oxydase des cellules phagocytaires activées. De plus les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines p, par ex : le TNF- α qui est capable de faire produire des RL par mitochondries des cellules ciblent.
- Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des RL au cours de réaction biochimiques « xanthine oxydase, cytochrome P450, hème oxygénase, ... ». Une autre espèce radicalaire NO° est elle aussi produite par des systèmes enzymatiques que sont les différents NOS à des fins de médiations cellulaires.
- Une autre source importante de radicaux est les mécanismes de cycles rédox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules : les quinones. Ces différentes molécules endogènes «acrobate; flavine ; adrénaline » réagissent spontanément avec l'oxygène et sont conduisent à la formation de $O_2^{\circ-}$.
- Les métaux toxique comme le chrome ; cuivre ; vanadium .., mais aussi le fer libres "existant lors de surcharges générales ou localisées "génèrent en présence de H_2O_2 des radicaux OH° 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 de $O_2^{\circ-}$ ou 1O_2 après activation de photosensibilisants (98).

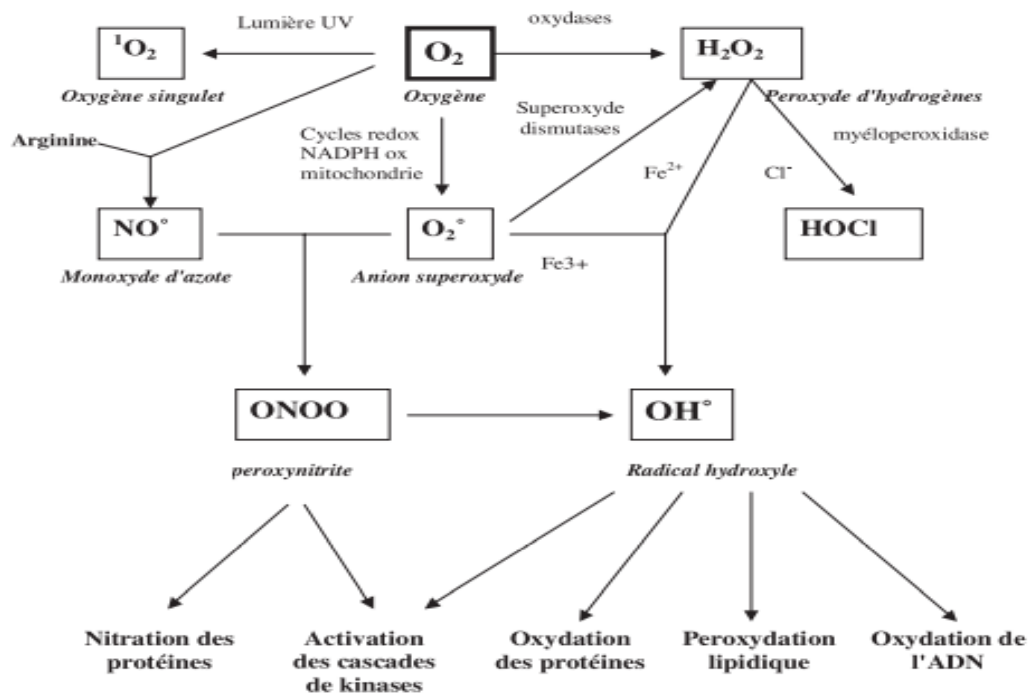


Figure 7 : Origine des différents RL oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (99).

III.2 Stress oxydant :

III.2.1 Définition :

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydants (100).

Le SO est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydant et les capacités anti oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelle de vie cellulaire. Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule. Ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense antioxydantes présentes dans la cellule. Si les ERO continuent à s'accumuler, une adaptation plus consistante de la cellule est nécessaire avec l'induction de gène codant des enzymes antioxydantes, des protéines chaperons, des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN et des protéines. On observe aussi une répression des systèmes susceptible de libérer des ERO. Dans ces conditions, nous pouvons parler de stress dans la mesure où la cellule a adapté ses fonctions biologiques. Souvent, l'induction des enzymes antioxydantes est perçue comme le révélateur de l'existence d'un SO (101).

III.2.2 Les conséquences du stress oxydant :

La production excessive de RL provoque des lésions directes de molécules biologiques, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique.

Les lipides et principalement leurs AG polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical OH° capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée "peroxydation lipidique" forme une réaction en chaîne car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre AG qui forme un nouveau radical diène conjugué.

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. Au bas mot, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH° peuvent être générées : les bases oxydées ; les sites abasique ; des adduits intra-caténaires ; des cassures de brins et des pontages ADN-protéine (99).

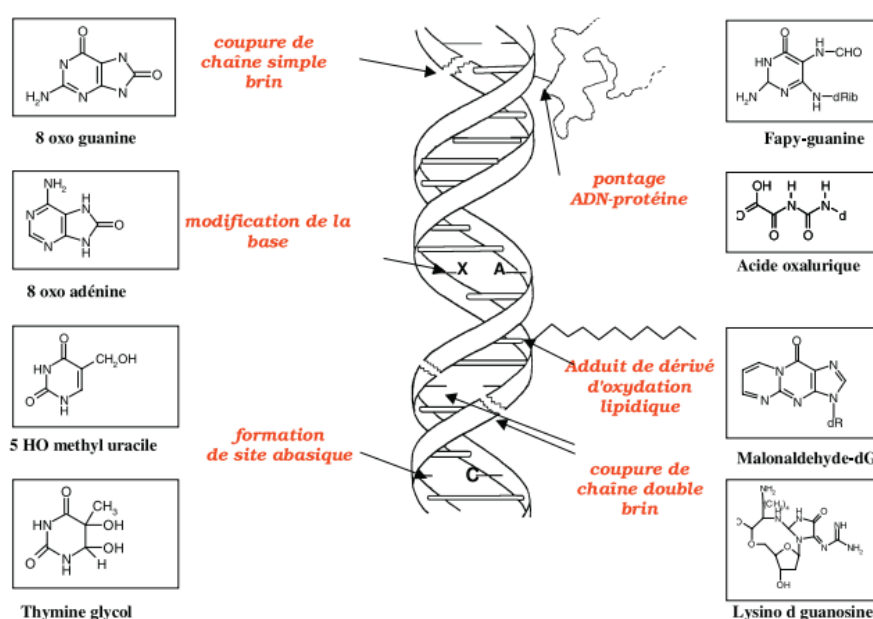


Figure 8 : lésion de l'ADN formées par attaque radicalaire patrimoine génétique des cellules (99).

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Parmi elles, les plus sensibles à leur action : tryptophane, la tyrosine, la cystéine, l'histidine et la méthionine. Les ERO sont aussi capable de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (102).

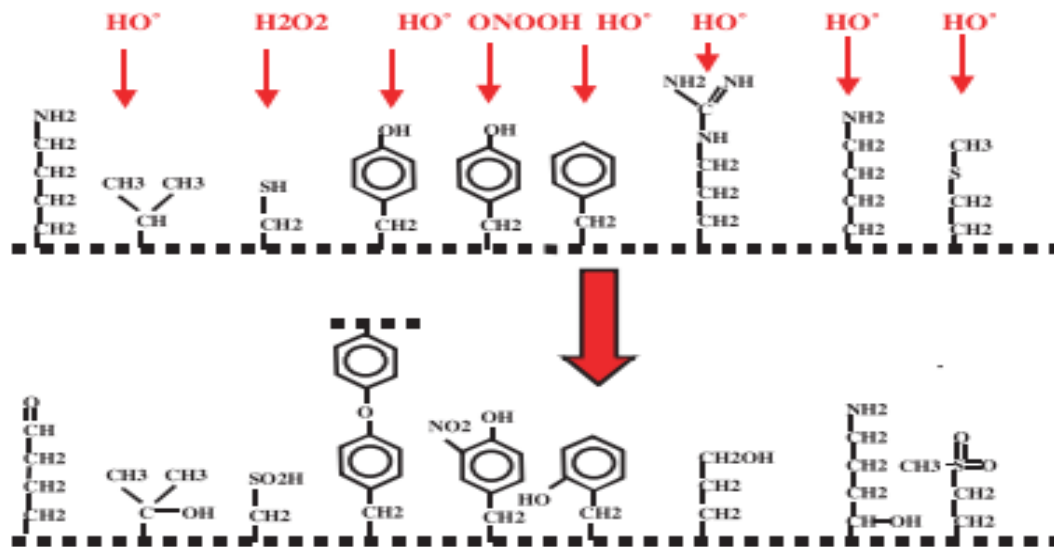


Figure 9 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (99).

III.2.3 Les maladies liées au stress oxydant :

Le SO est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge parce que le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le SO sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'œdème pulmonaire et le vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre SO et cancer s'avèrent très étroites, les RL intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53. Il est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (99).

III.3 Antioxydants :

III.3.1 Définition :

Les antioxydants jouent un rôle vital dans les systèmes alimentaires ainsi que dans le corps humain pour réduire les processus d'oxydation et les effets nocifs d'ERO.

Dans une d'autre définition, un antioxydant est une molécule capable d'inhibe l'oxydation d'autre molécule. En terme d'alimentation, il a été défini comme "toute substance qui lorsqu'elle est présente à de faibles concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat" mais ils ont ensuite été

Chapitre III : les activités antioxydantes

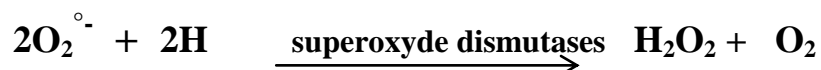
définis comme toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible(103).

III.3.2 Systèmes antioxydants :

III.3.2.1 Les antioxydants enzymatiques :

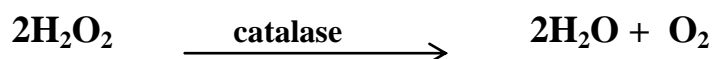
➤ Les superoxydes dismutases (SOD) :

Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H₂O₂ et en OH⁺ et OH⁻ «Mn SOD dans la mitochondrie», «CuZn SOD dans le cytosol et les érythrocytes». Elles permettent d'éliminer les radicaux O₂^{°-} mais provoquent l'apparition de H₂O₂ diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de H₂O₂. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc(97).



➤ Les catalases :

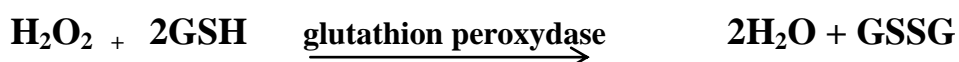
Les catalases sont des enzymes localisées dans les peroxysomes et catalysent la conversion du peroxyde d'hydrogène en l'eau et l'oxygène. tandis que la glutathion peroxydase éliminent le H₂O₂ par son utilisation dans l'oxydation du glutathion "GSH" en glutathion oxydé "GSSG" et requièrent le sélénium dans leurs site actif pour cette activité (104).



➤ Les glutathion peroxydases (GPx) :

La GPx est une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale (105).

La GPx réduit d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Dans cette réaction, elle demande l'intervention de deux molécules de glutathion "GSH", celles-ci se transforment en glutathion-disulfure "GSSG" (106).



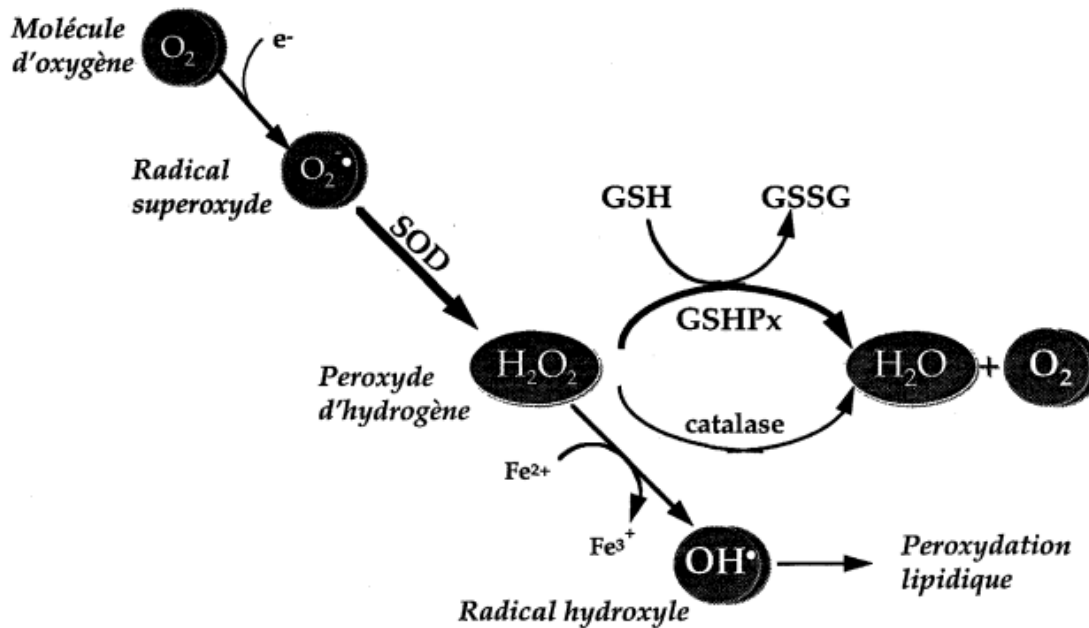


Figure 10 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (97).

III.3.2.2 Les antioxydants non enzymatiques :

➤ Vitamine E :

La réduction du vit E oxydé est assurée par le vit C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre la peroxydation lipidique. Le vit E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire. La vit E permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL (97).

➤ Vitamine C "acide ascorbique" :

Le vit C ou acide ascorbique est un antioxydant puissant. Elle participe dans les réactions avec la vit E et l'enzyme glutathion peroxydase pour neutralisation des RL (107). Elle est présente dans les agrumes, les fruits rouges, les brocolis, les pommes (108). Elle joue un rôle important dans régénération de la vit E (109).

➤ Caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules notamment le lycopène et β -carotène, précurseurs de la vit A. Ils sont présents dans les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates(110). Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cyto- et à la génotoxicité de nombreux agents (97).

➤ Glutathion :

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de SO, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GPx. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vit C ou la vit E (97).

III.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :

Il existe de plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de RL (107), par exemple : FRAP « Ferric reducing antioxidant power », ORAC « Oxygen radical absorbance capacity », et DPPH « 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ». Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (111, 112).

III.3.3.1 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl "DPPH" :

Dans ce test, le DPPH de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (113). Ce radical possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (114).

Cette méthode est un test simple, facile, économique, rapide et efficace, couramment utilisée pour mesurer l'activité antioxydant et l'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux des antioxydants non enzymatiques (103).

III.3.3.2 Pouvoir antioxydant réducteur ferrique "FRAP" :

Le test FRAP repose sur l'utilisation d'antioxydants pour réduire le fer ferrique en complexe fer ferreux de couleur bleu intense en milieu acide. Il est réalisé à un pH acide de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer. La réaction à un pH faible diminue le potentiel d'ionisation qui entraîne le transfert d'électrons et augmente le potentiel d'oxydoréduction ce qui entraîne un changement dans le mécanisme de réaction dominant (103).

La formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur et déterminera la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant (115, 116).

III.3.3.3 Test de piégeage de l'ABTS :

Dans la méthode TEAC « Trolox equivalent antioxidant capacity », l'activité antioxydant total d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+} obtenu à partir de l'ABTS. Le contact de l'ABTS avec l'enzyme de peroxydation permet d'obtenir le radical cation (117).

Chapitre III : les activités antioxydantes

Ce test est basé sur la neutralisation d'un radical cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3- éthyl Benzo thiazoline -6-sulfonique acide)(118) .

III.3.3.4 Capacité d'absorption des radicaux oxygénés "ORAC" :

Le test ORAC « Oxygen Radical Absorbance Capacity » permet de déterminer si une source organique possède un effet antioxydant en le comparant à un analogue du vit E : le Torlox.

Dans cet essai, l'AAPH « 2,2'-azobis-2-aminopropane dihydrochloride » est utilisé comme source génératrice de radicaux peroxydes. L'addition de fluorescéine comme sonde fluorescente permet de quantifier, à l'aide d'une analyse spectrophotométriques, en fonction du temps, la perte de fluorescence associée à la réaction avec les radicaux libres fournit par l'APPH par mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène. La présence d'antioxydants empêche ou ralenti la perte de fluorescence qui calculée par l'aire sous la courbe en fonction du temps. Celle-ci peut être détectée à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et d'émission de 520 nm. Donc, cette méthode permet de mesurer la capacité antioxydante contre les radicaux peroxydes (119).

III.3.3.5 Test de blanchissement de la Béta-carotène :

L'activité antioxydant d'un extrait végétal peut être évaluée par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β -carotène. Dans cette méthode, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaquent les onze doubles liaisons du β -carotène, ce qui entraîne une décoloration de cette dernière mesurée spectrophotométriquement à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β -carotène (120).

L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur 50°C. Cette technique est sensible, rapide et simple (121-123).

III.3.4 Toxicité :

Les antioxydants sont des molécules en général faiblement toxiques. Pourtant, pour certains d'entre eux, leur utilisation à forte dose n'est pas dénuée de danger. Par exemple, le radical α -tocophérol « α -TO» stabilisé par mésomérie, peut initier des réactions d'oxydation avec les AG mono et poly insaturés des phospholipides membranaires « LH, LOOH » à l'origine de RL, et peut ainsi contribuer à la phase de propagation des réactions radicalaires survenant dans la peroxydation lipidique. Ce rôle pro oxydant de l' α -tocophérol en tant qu'initiateur des réactions radicalaires n'est néanmoins possible que si le radical α -tocophéryl est présent en forte concentration dans les membranes et que la vitamine C n'assure pas sa régénération (124).

Partie Pratique

Matériels et Méthodes

I Objectifs de l'étude :

I.1 Objectif principal :

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer les activités : antioxydante et antibactérienne d'huile essentielle de la plante « *Ruta montana* ».

I.2 Objectif secondaire :

L'objectif secondaire est de réaliser une étude ethnobotanique dans la région de Tlemcen sur la plante « *Ruta montana* ».

II Matériels et Méthodes :

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche à la faculté central d'IMAMA et du laboratoire analytique de la faculté de médecine Tlemcen.

II.1 Type de l'étude :

Il s'agit d'une enquête ethnobotanique de type transversale descriptive qui vise à recenser les utilisations de la plante médicinale par les patients.

L'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de la plante *Ruta montana* est une étude expérimentale.

II.2 Matériel

II.2.1 Matériels végétale :

II.2.1.1 Récolte du matériel végétale :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est représenté par l'espèce de rue de montagne : *Ruta montana* connu sous le nom vernaculaire "Fidjel El djabali". Cette espèce a été récoltée durant le mois de Mars 2021, de la région de Tessala, située au nord de wilaya de Sidi Bel Abbes. La plante a été identifiée par le Dr Belifa Nazim maître-assistant en pharmacognosie.

La commune de Tessala fait partie d'un ensemble de communes montagneuses à cheval entre trois wilayas « Sidi Bel Abbes, Oran et Ain Témouchent ». Les coordonnées géographiques:

* Latitude : 35.243 , Longitude :-0.773163

Nord 35° 14' 35" , Ouest 0° 46' 23"

Elle est éloignée à peu près de 15 km de la wilaya Sidi Bel Abbe, à une altitude de 562 m. Son climat est semi-aride sec et froid.

- Fiole jaugées ambrées.
- Flacon ambrées.
- Micropipettes, Embouts.
- Bain-marie.
- Souches bactériennes.
- Papier wattman.
- Flacon de gélose "Muller-Hinton, Nutritif".
- Boite pétri et écouvillon.
- Pince.
- Bec bunsen.
- Balance analytique.
- Agitateur magnétique.
- Spectrophotomètre UV-visible.
- Cuve pour spectrophotomètre.
- L'étuve.
- Réfractomètre.

II.3 Méthodes :

II.3.1 L'enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique a effectuée durant le mois janvier, février et mars 2021 dans la wilaya de Tlemcen. Elle est basée sur une fiche questionnaire avec entretien oral direct avec les personnes. Elle est divisée en deux parties :

Le premier questionnaire a été réalisé auprès de 25 herboristes. Elle a été préparée incluant quatre variables : le nom vernaculaire de la plante, la partie utilisée, le mode de préparation et la ou les pathologie(s) traitée (annex I).

Le deuxième questionnaire est constitué de neuf variables (annex II). Le nombre personne interrogés est de 154 personnes.

Les données recueillies ont été inscrites dans une base de données puis traitées et analysées statistiquement à l'aide du logiciel Excel 2010.

II.3.2 Détermination de l'humidité :

La perte à la dessiccation correspond à la détermination de la teneur en eau d'une drogue végétale. La teneur en eau des plantes fraîches varie de 5 à 95% suivant les organes, elle est de 5 à 15% pour les drogues sèches. Cette détermination dans les drogues végétales permet de vérifier leur bonne conservation.

La perte à la dessiccation est déterminée par méthodes gravimétrique et est exprimée en m/m.

La teneur d'humidité des plantes est déterminée par le procédé de séchage à l'étuve à une température de 105°C pendant deux heures, jusqu'à obtention d'un poids constant (125).

Ainsi, le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité(\%)} = [(P_f - P_s) / P_f] * 100$$

P_f : Poids frais de l'échantillon (feuilles fraîches).

P_s : Poids sec de l'échantillon (feuilles sèches).

II.3.3 Extraction des HE par hydrodistillation :

L'extraction des huiles essentielles est effectuée par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger(126).

La matière végétale sèche de la plante *Ruta montana* (100 g) est introduite dans un ballon de 2 L contenant d'eau distillé, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 heures à 3 heures. Les vapeurs chargée d'HE passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau. Voir le montage d'hydrodistillation dans **Figure 12**.

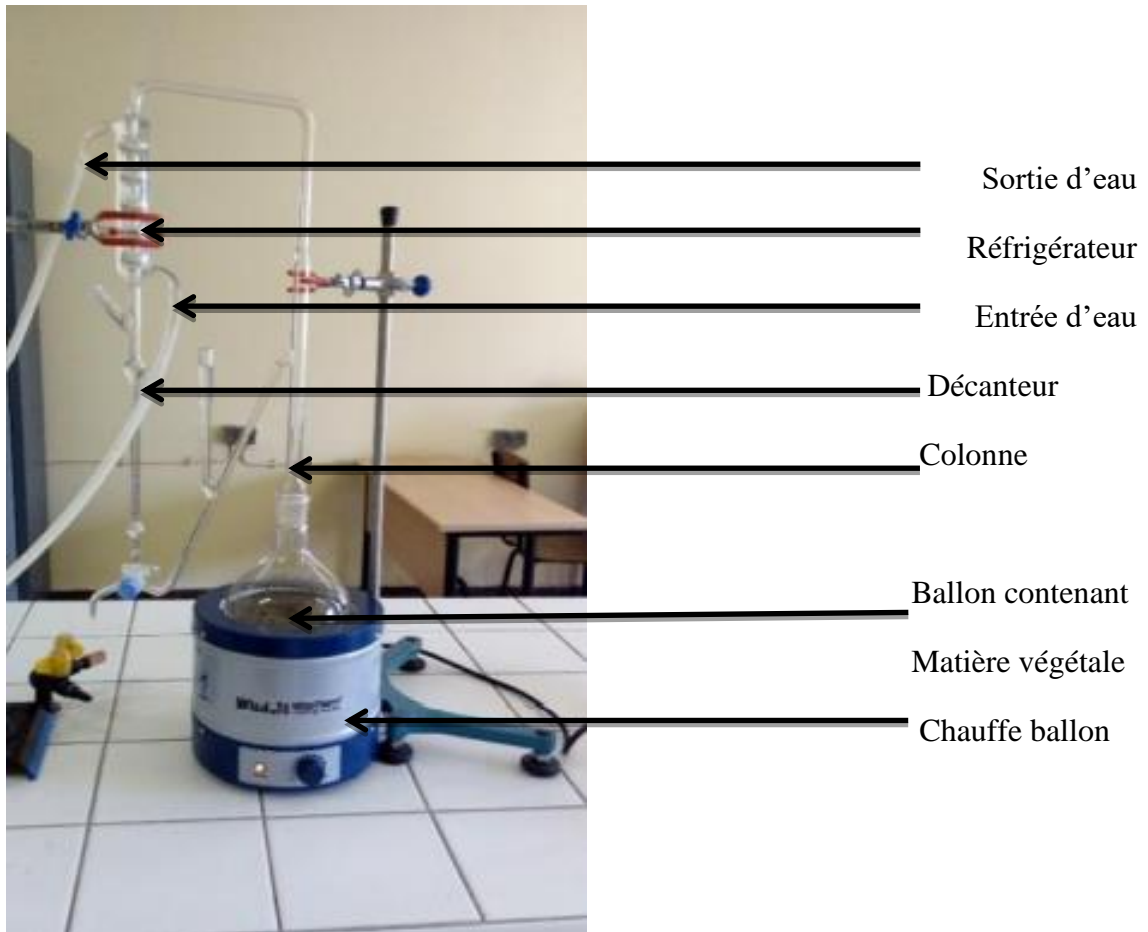


Figure 12 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de type Clevenger.

II.3.3.1 Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la relation suivante (41) :

$$R_{HE} (\%) = M_{HE} / M_{MV} * 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (%).

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

M_{MV} : Masse de matière végétale séchée en (g).

II.3.3.2 Caractérisations de l'huile essentielle :

❖ Caractères organoleptique :

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des HE nécessite l'utilisation de nos sens afin d'évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur ainsi que la flaveur.

❖ La densité relative à 20°C :

Selon AFNOR (41), La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C.

Calcule de la densité de l'HE à partir de la relation suivante :

$$D = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

m_0 : masse du pycnomètre à vide.

m_1 : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée à 20°C.

m_2 : masse du pycnomètre remplie d'HE à 20°C.

❖ L'indice de réfraction à 20°C :

Selon AFNOR, L'indice de réfraction d'une HE est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence du rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon réfracté dans le milieu considéré.

Elle est mesurée à l'aide d'un refractomètre à la température ambiante puis utiliser la formule suivante pour calculer à la valeur de référence de 20°C (41).

$$n_{T'} = n_T + 0,0004(T' - T)$$

$n_{T'}$: indice de réfraction de référence 20°C.

n_T : indice de réfraction mesurée de l'HE à la température ambiante.

T : température de mesure de l'indice de réfraction de l'HE.

T' : température de référence qui est de 20°C.

*Préparation de la galerie d'essais :

- ✓ Ajouter 2 ml de la solution méthanolique de DPPH dans chaque flacon ambré. qui contient l'AA ou HE.
- ✓ Incuber 60 min.
- ✓ la lecture est effectuée au spectrophotomètre à 517nm.

La courbe qui exprime le pourcentage (%) de piégeage du DPPH est tracée en fonction de la concentration d'HE et de l'acide ascorbique ($\mu\text{g/mL}$).

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé par la formule suivante (129) :

$$\text{DPPH} = (A_0 - A_{\text{eq}}) / A_0 * 100$$

A_0 : l'absorbance de la solution de DPPH additionnée de méthanol pur.

A_{eq} : l'absorbance de la solution de DPPH additionnée de l'antioxydant après 30 min.

Le méthanol pur a été utilisé comme blanc. 2 ml de méthanol a été utilisé avec 2 ml de la solution méthanolique DPPH comme témoin négatif.

Calcul des concentrations inhibitrices à 50% "CE₅₀" :

La courbe exprimant le pourcentage (%) de piégeage du DPPH en fonction de la concentration de l'antioxydant permet de déterminer la valeur de concentration efficace médiane "CE₅₀" qui est défini comme la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration initiale du DPPH de 50% (130).

II.3.4.2 Réduction du fer FRAP «Ferric Reducing Antioxidant Power» :

❖ Principe :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer dans les extraits est déterminée selon la méthode OYAIZ (1986) (131).

La méthode de FRAP est basée sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}).

Cette réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert (ou bleu de Berlin) du fer ferreux.

L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits (132).

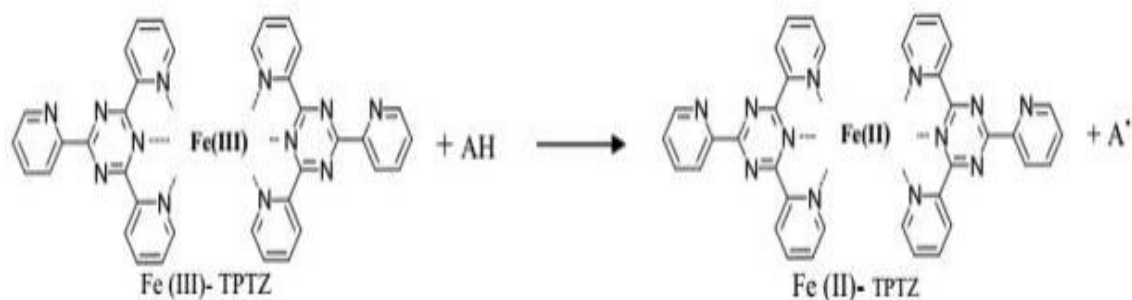


Figure 14: Mécanisme réactionnel de la réduction de fer (127).

❖ Mode opératoire :

*Préparation des réactifs et dilutions :

- ✓ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% est solubilisé dans l'eau distillée.
- ✓ TCA à 10% est solubilisé dans l'eau distillée.
- ✓ FeCl_3 à 0.1% est solubilisé dans l'eau distillée.
- ✓ L'acide ascorbique à 0.1mg/mL est solubilisé dans le MeOH pour obtenir une solution mère.
- ✓ Réaliser les dilutions methanolique de l'acide ascorbique dans les tubes à hémolyse.
- ✓ Réaliser les dilutions methanolique d'HE dans les tubes à hémolyse.

*Préparation de la galerie d'essais :

- ✓ Prendre de 10 tubes à hémolyses pour différente concentration d'HE.
- ✓ Prendre de 10 tubes à hémolyse pour différente concentration de l'Acide ascorbique.
- ✓ Dans un chaque tube à hémolyse, introduire à l'aide d'une pipette 0,5 mL de différentes concentrations de HE ou l'acide ascorbique ; 0,5 mL de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ et 0,5 ml de solution tampon.
- ✓ Pour le blanc en remplaçant l'HE par MeOH pou calibrer l'appareil.
- ✓ L'ensemble est incubé au bain-marie à 50° pendant 20min puis laisse refroidir à la température ambiante.
- ✓ Ajouter 0,5 mL de TCA pour stopper la réaction ensuite centrifuger à 3000 T/min pendant 10min.
- ✓ Prélever et introduire dans d'autres tubes à hémolyse 0,5 ml de surnageant ; 0,5ml d'eau distillée et 0,1 ml FeCl_3 .

✓ la lecture se fait au spectrophotomètre à 700 nm.

Tracer la courbe exprimant l'absorbance de chaque dilution en fonction de la concentration des extraits et celle de l'acide ascorbique exprimée en µg/ml.

II.3.5 L'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'HE de l'espèce de *Ruta montana* est réalisée par la méthode de diffusion sur disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

❖ Souches microbiennes utilisées :

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, les germes utilisées dans cette étude ont été prises du laboratoire de microbiologie du CHU de Tlemcen, on a choisis trois souches : deux gram négative : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et un gram positive : *staphylococcus aureus*.

Tableau 2: Les souches utilisées pendant l'évaluation des activités antibactériennes.

Souche	Type de la bactérie	Référence	Famille
Escherichia coli	Bacille Gram négative	ATCC 25922	Entérobacteriaceae
Staphylococcus aureus	Cocci Gram positive	ATCC 25923	Staphylococcaceae
Pseudomonas aeruginosa	Bacille Gram négative	ATCC 27853	Pseudomonadaceae

❖ Choix des milieux de culture :

La **gélose Muller-Hinton** est le milieu de culture qui est utilisée pour étudier de l'activité antibactérienne. C'est un milieu le plus employé pour les tests de la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens (133-135).

La **gélose Nutritif** pour favoriser la croissance des bactéries.

❖ Préparation des disques :

Les disques sont préparés à partir du papier wattman, avec un diamètre de 6 mm. Ces disque sont placés dans un flacon en verre ambré et stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 120 C°, puis stockés à une température ambiante.



Figure 15 : Préparation des disques.

❖ Préparation des boîtes de Pétri :

- ✚ Mettre le flacon de gélose « **gélose Muller-Hinton ; gélose Nutritif** » dans un bain marie bouillant (100°) jusqu'à fusion complète.
- ✚ Laisser refroidir le flacon à l'air libre.
- ✚ Couler dans des boîtes de pétri stériles, de l'épaisseur toujours 4mm.
- ✚ Laisser solidifier la gélose à coté de bec bunsen.
- ✚ Conserver les boîtes dans réfrigérateur à 4°.

❖ Préparations des dilutions d'HE :

Pour l'étude de l'activité antimicrobienne, les huiles essentielles de *Ruta montana* employées sont à l'état pur et une série de dilution avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO).

-Le premier contient 0.5 ml d'huile essentielle et 0,5 ml de DMSO.

-0,5 ml de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube (1/2) auquel on ajoute 0,5 ml de DMSO, puis agiter.

-Des dilutions à 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128 sont préparés de la même manière selon du schéma suivante :

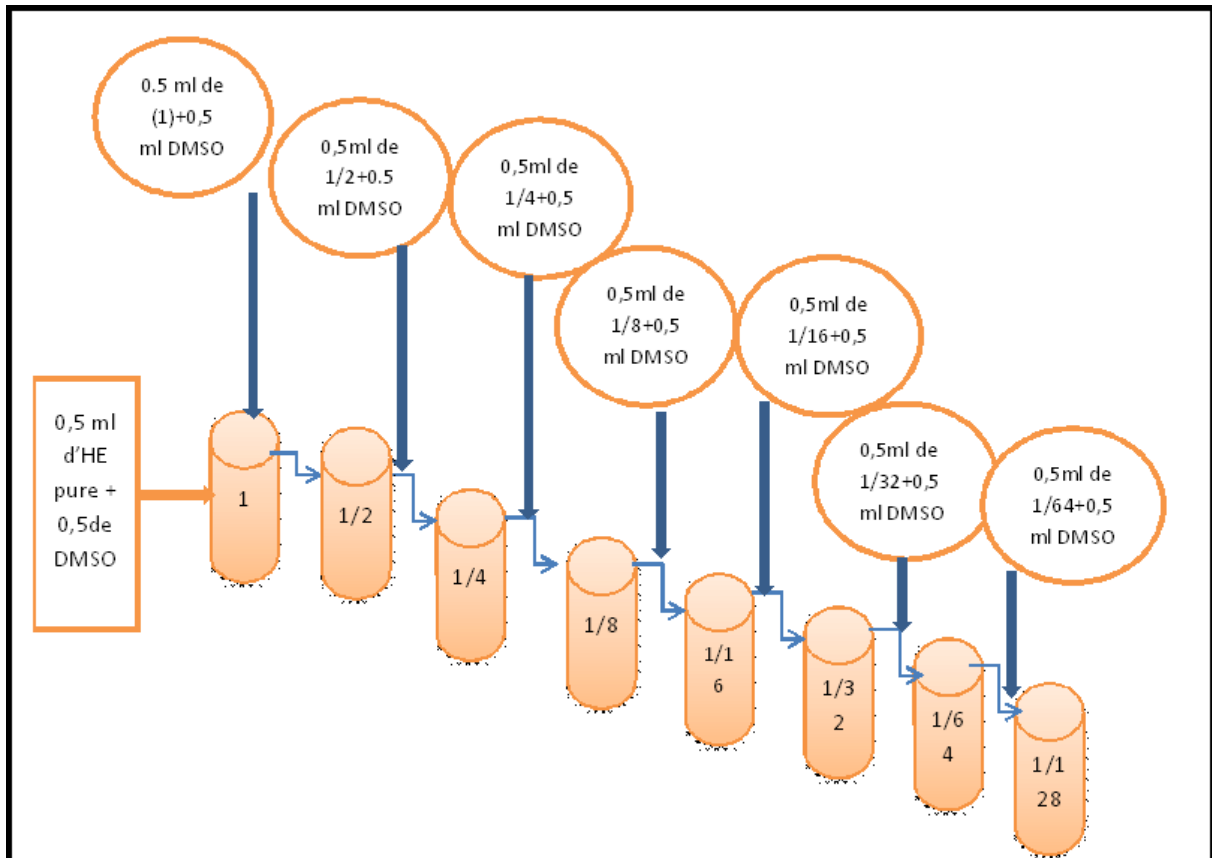


Figure 16: Préparation des différentes dilutions.

❖ Préparations de l'inoculum

-L'ensemencement de chaque souches sur gélose nutritive et incubation à 37°C pendant 24h pour obtenir des colonies bien isolées.

- à l'aide d'un écouvillon, choisir 3 à 5 colonies et inoculer dans un 5 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser la suspension bactérienne.

❖ L'ensemencement

-L'ensemencement se fait dans la zone stérile en présence de bec bunsen.

-Plonger l'écouvillon dans la suspension bactérienne.

-Prendre une goutte de la suspension sans toucher la paroi de tube et étaler en stries sur la surface de gélose.

-Faire tourner les boîtes pétries d'un angle 60° et étaler en deuxième fois.



Figure 17 : Ensemencement par écouvillon.

❖ Dépôt des disques

- Positionner le flacon en verre contenant les disques dans la zone de stérilité à côté du bec bunsen.
 - Faire chauffer la pince de prélèvement.
 - Prélever un disque et l'imbiber des gouttes de solution de HE.
 - Ouvrir la boîte de pétri et déposer le disque sur la gélose puis fermer le couvercle de boîte de pétri.
 - Laisser les boîtes pendant 30 min pour assurer une bonne diffusion d'HE.
- Recommencer cette manipulation pour chaque disque "dans chaque boîte contient 4 disques ont été réalisés à différentes concentrations de HE".



Figure 18 : Dépôt des disques.

❖ Incubation des disques

Incuber la boîte de pétri dans l'étuve pendant 17-24 h à 37C°.



Figure 19: Incubation des boites pétris.

❖ Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre des zones d'inhibition "Zone claire autour du disque" à l'aide d'une règle graduée.

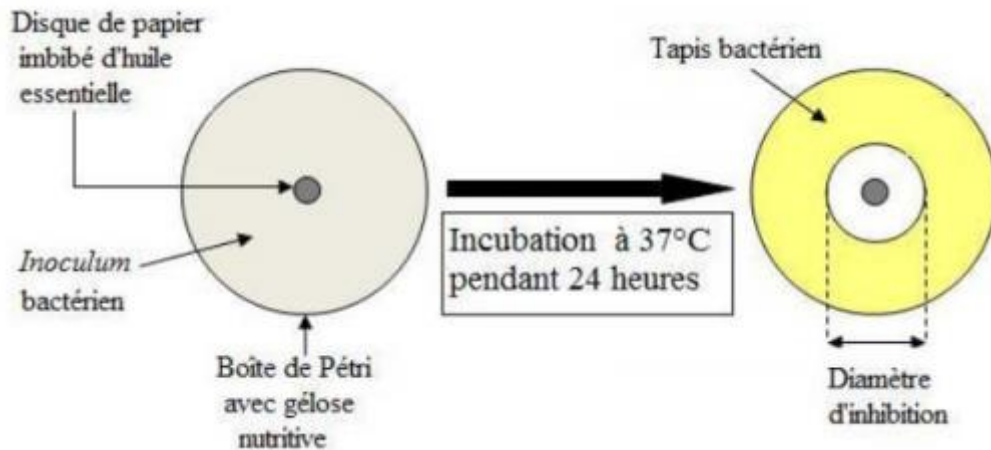


Figure 20: Principe de la méthode de diffusion par disque.

La sensibilité des souches étudiées a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition dans l'une des catégories suivantes : résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible(136) (**Tableau 3**).

Tableau 3: Degré de sensibilité selon le diamètre d'inhibition.

Diamètre	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8$ mm	Résistance	-
$8 \text{ mm} < X < 14$ mm	Sensibilité limité	+
$14 \text{ mm} < X < 20$ mm	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20$ mm	Très sensible	+++

❖ Détermination de la concentration minimale inhibitrice "CMI"

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle qui empêche la croissance visible des bactéries(137, 138).

Cette CMI a été déterminée selon la méthode des dilutions sur milieu gélosé(139)" Muller Hinton pour les bactéries ".

Résultats et discussion

III Résultats et discussion :

III.1 L'enquête ethnobotanique :

L'enquête ethnobotanique est menée auprès de 154 personnes de la population cible et 25 des herboristes à la région de Tlemcen, nous avons recueillis les résultats suivant :

III.1.1 Enquête auprès des herboristes :

III.1.1.1 Le nom vernaculaire de la plante :

Selon les résultats de l'enquête, 77% des herboristes ont déclaré que le nom vernaculaire de la rue de montagne est fidjel tandis que le reste a déclaré que le *Ruta montana* a autre nom : sedab (23%).

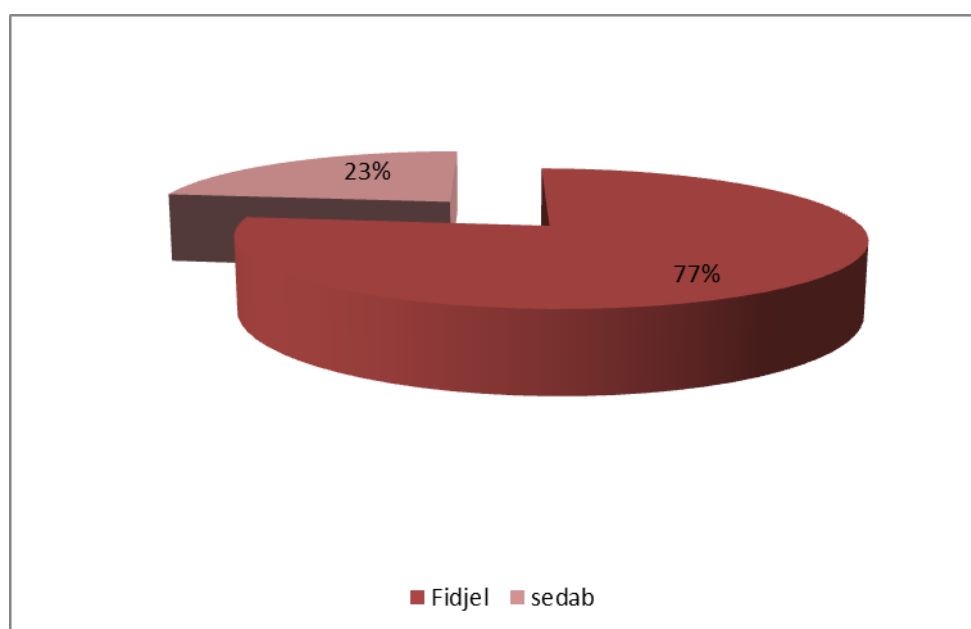


Figure 21: Diagramme en secteur représente les noms vernaculaires de la plante

III.1.1.2 Parties utilisées :

D'après l'enquête menée, parmi les herboristes interrogées utilisent les feuilles (38%), et d'autre utilisent aussi des fleurs, les tiges et les racines avec des pourcentages respectivement : 31%, 28% et 3%.

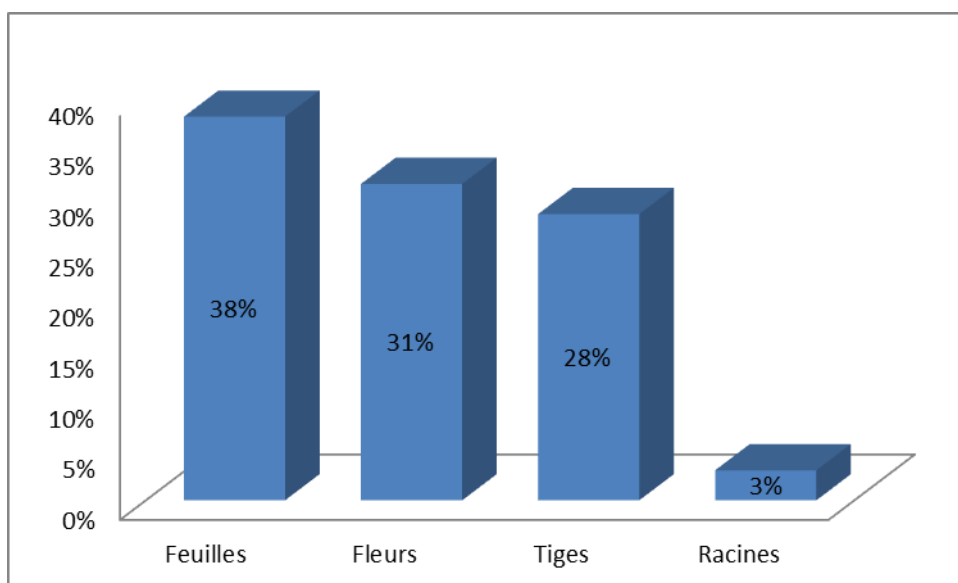


Figure 22: Fréquence d'utilisation des différentes parties de la plantes par les herboristes.

III.1.1.3 Mode de préparation :

Les modes de préparation, les plus répandus sont classé comme suit : huile fixe (36%), infusion (26%), et décoction (20%) et d'autre mode qui présente un faible pourcentage.

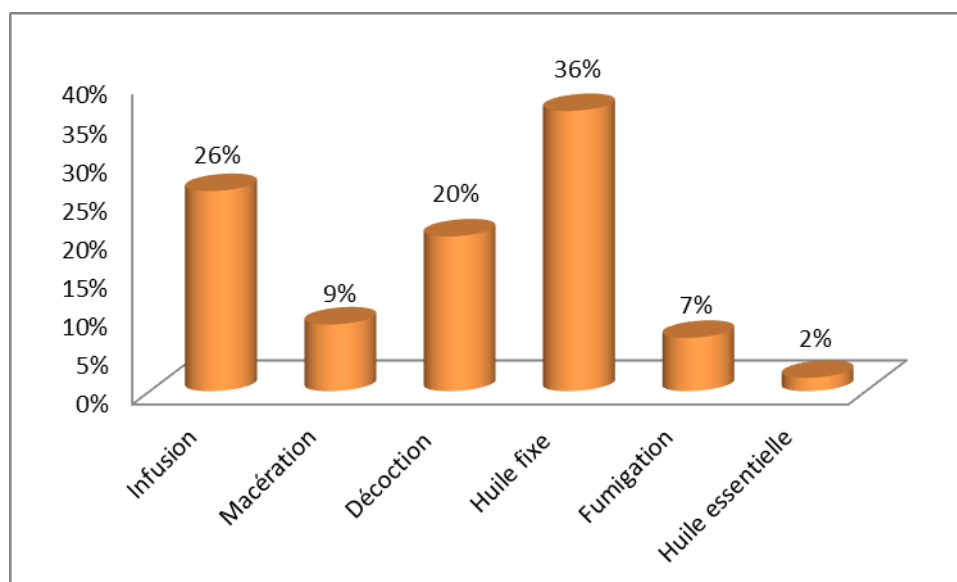


Figure 23: Fréquence d'utilisation de différentes modes de préparation par les herboristes.

III.1.1.4 Pathologies traitées :

Concernant les pathologies traitées, les résultats ont permis d'enregistrer que *Ruta montana* traite des affections dermatologique (19%), des affections ostéo-articulaires (13%), des affections neurologiques (12%), des maladies de tube digestif 11%).

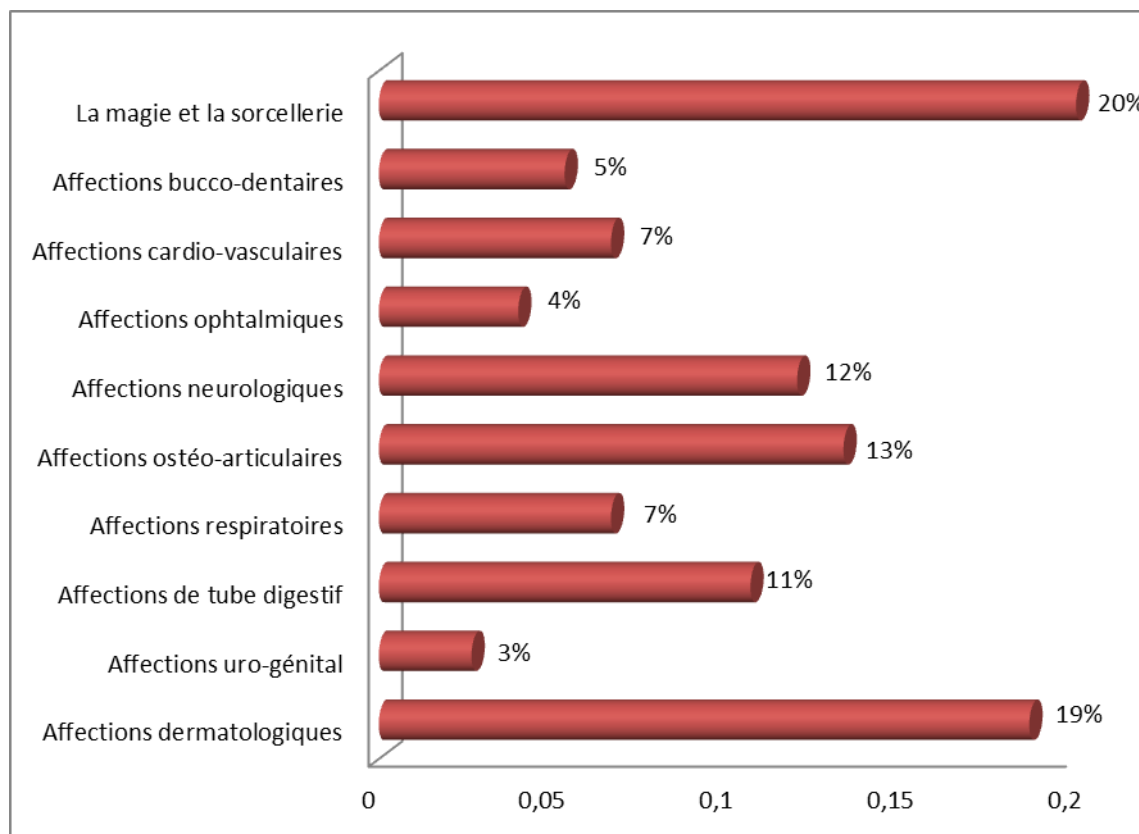


Figure 24: Les différentes pathologies traitées de *Ruta montana*.

III.1.2 Enquête auprès des personnes :

III.1.2.1 Répartition de la population selon le sexe :

Pendant l'étude ethnobotanique de la plante, 60% de la population étudiée soit 92 personnes sont des femmes. Les hommes représentent 40% (en nombre de 62). Ces résultats obtenus confirment que les femmes plus utilisent les plantes médicinales comparativement aux hommes.

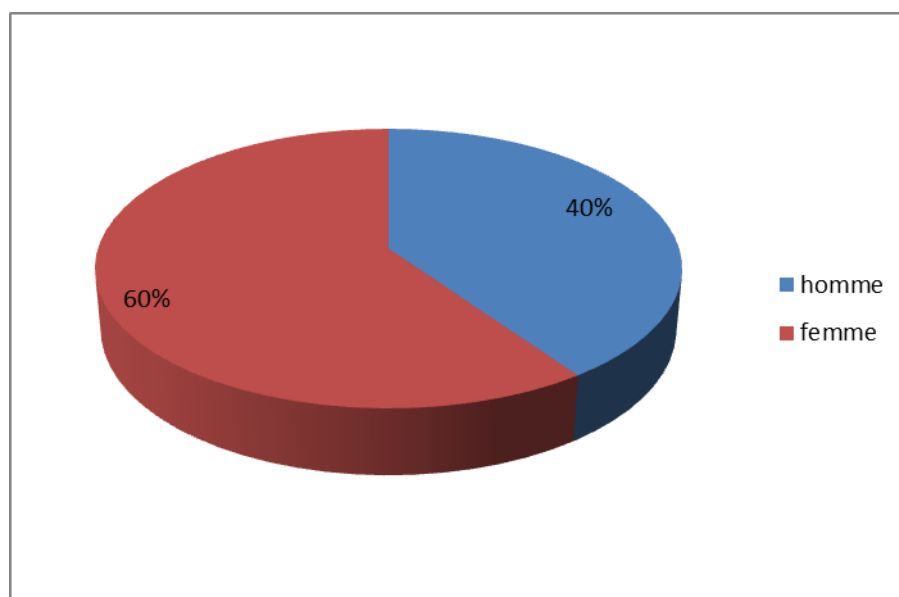


Figure 25: Répartition de la population selon le sexe.

III.1.2.2 Répartition de la population selon l'âge :

Le sondage réalisé auprès de populations a touché différentes classes d'âge, La classe d'âge dominante est celle de 20 à 35 ans avec un pourcentage de 41.60%, suivis de ceux ayant un âge entre 0 et 20 ans avec un pourcentage de 29.20%. Les personnes qui ont l'âge de 35-50 ans et qui représentent 17.5% de la population. La classe d'âge plus de 50 ans représente 11.7%.

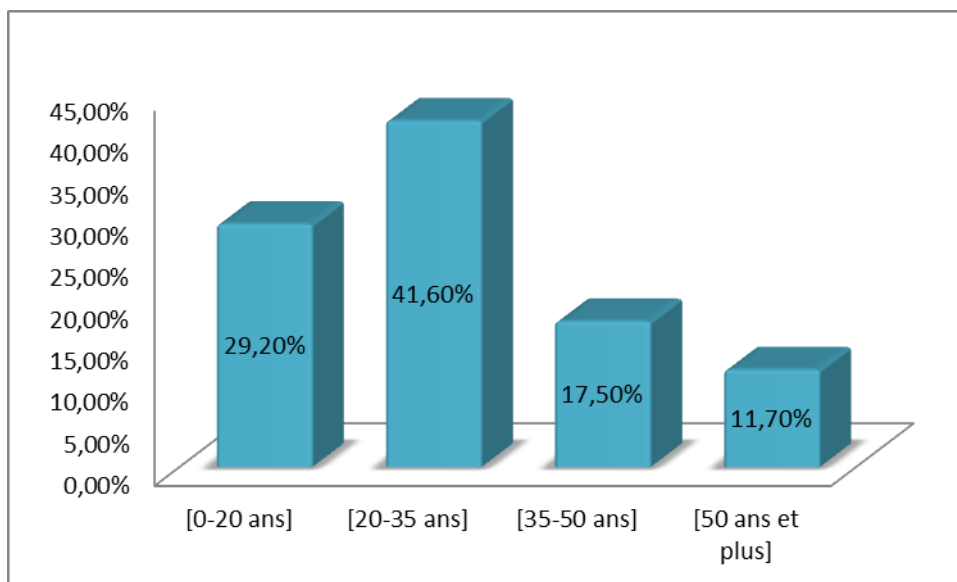


Figure 26: Répartition des populations selon la catégorie d'âge.

III.1.2.3 Répartition de la population selon la connaissance de la plante :

Parmi les 154 personnes interrogées, la majorité connaît la plante avec un taux de 82%, alors que 18% ne la connaît pas. Ceci peut être que la rue de montagne est une plante connue au niveau de l'environnement social.

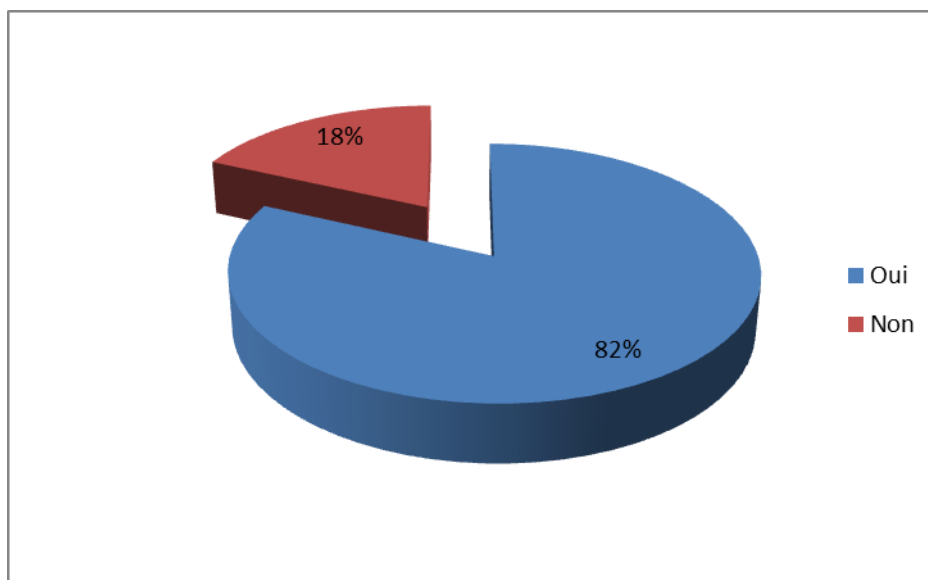


Figure 27: Répartition de la population selon la connaissance de la plante.

III.1.2.4 Domain d'utilisation :

D'après l'enquête, la majorité de la population sont utilisé la plante de *Ruta montana* dans le domaine thérapeutique avec un pourcentage de 73.65%. Ensuite dans le domaine cosmétique et culinaire avec pourcentage respectivement 14.19% et 12.16%. Ceci témoigne que *Ruta montana* a une grande utilité dans les soins traditionnels.

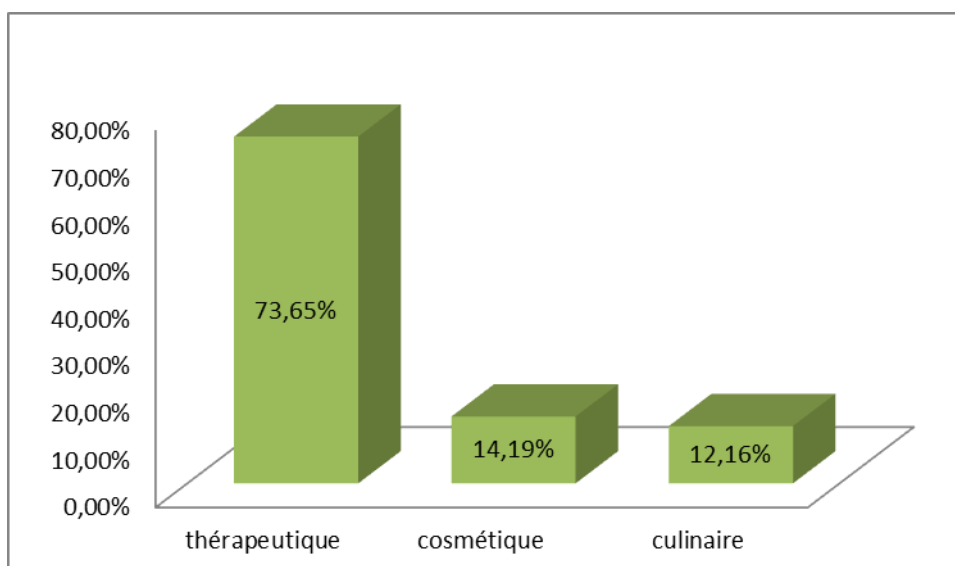


Figure 28: Domaine d'utilisation de la plante par la population.

III.1.2.5 Parties utilisées :

L'enquête montre que la plus part des personnes interrogées utilisent les feuilles avec un pourcentage de 56.46%, suivies par fleurs (18.66%) ; tiges (16.27%) et racines (8.61%). Ceci peut être expliqué par l'aisance et la rapidité de la récolte et par le fait que les feuilles sont le siège de la photosynthèse et des parties très riches en principes actifs.

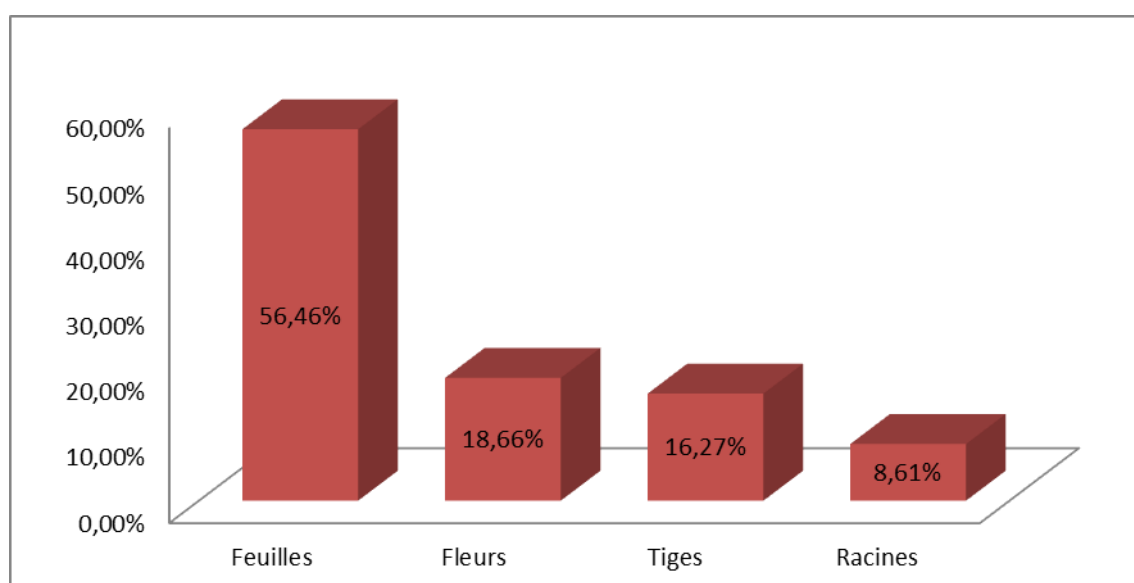


Figure 29: Fréquence d'utilisation des différentes parties de la plantes par la population.

III.1.2.6 Mode de préparation :

Le mode de préparation le plus utilisé est l'infusion avec de pourcentage 42.62%. Ceci s'explique par la simplicité de cette méthode pour préparer les recettes thérapeutiques et permet de réserver la plante leurs principes actifs. Vient ensuite la décoction (18.18%), la macération (14.77%) et l'huile fixe (17.05%). D'autre mode, le pourcentage le moine faible est celui de broyage (2.84%), fumigation (1.70%), huile essentielle 1.14%) et cuit avec huile d'olive (1.70%).

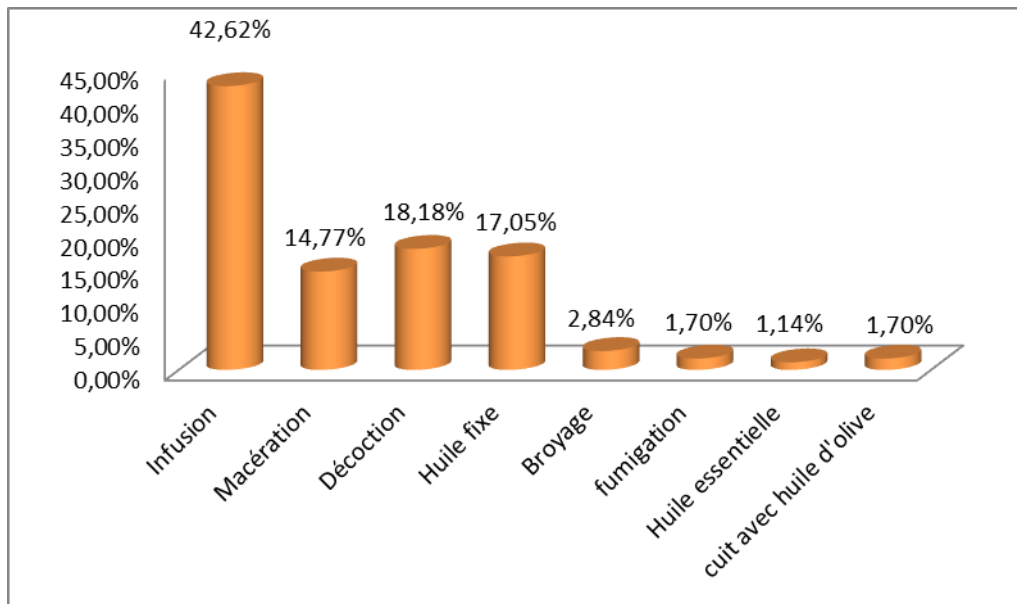


Figure 30: Fréquence d'utilisation de différente mode de préparation par la population.

III.1.2.7 Pathologies traitées :

Les différentes maladies traitées par la plante de *Ruta montana* dans la région d'étude sont illustre dans la figure. Les pathologies la plus traitée sont par l'affection respiratoire (16.33%), suivi par l'affection de tube digestif (15.54%), l'affection bucco-dentaire (13.14%) et l'affection dermatologique (11.16%). D'autres maladies ont été citées avec presque même pourcentage (7%) : affection uro-génital, ostéo-articulaires, neurologiques, ophtalmiques et cardio-vasculaires. En suite les autre maladies qui présente par un faible pourcentage.

La rue de montagne a une large activité thérapeutique, elle traite plusieurs affections, ce qui montre leur importance dans la phytothérapie.

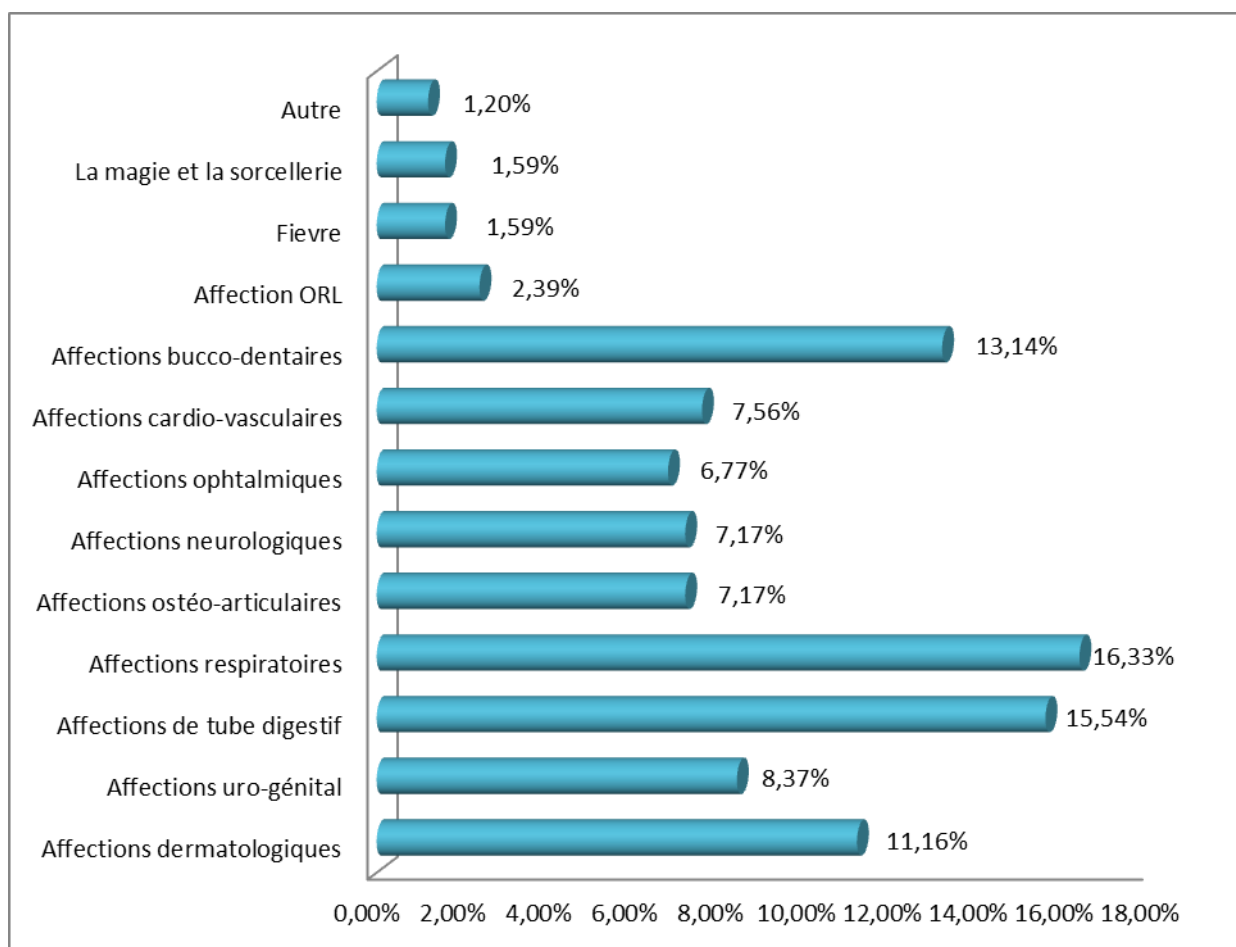


Figure 31: Les différentes pathologies traitées par la plante.

III.1.2.8 Effets indésirables :

Concernant les effets indésirables, 52% de la population indique l'absence des effets indésirables de la rue alors que 48% indique le contraire.

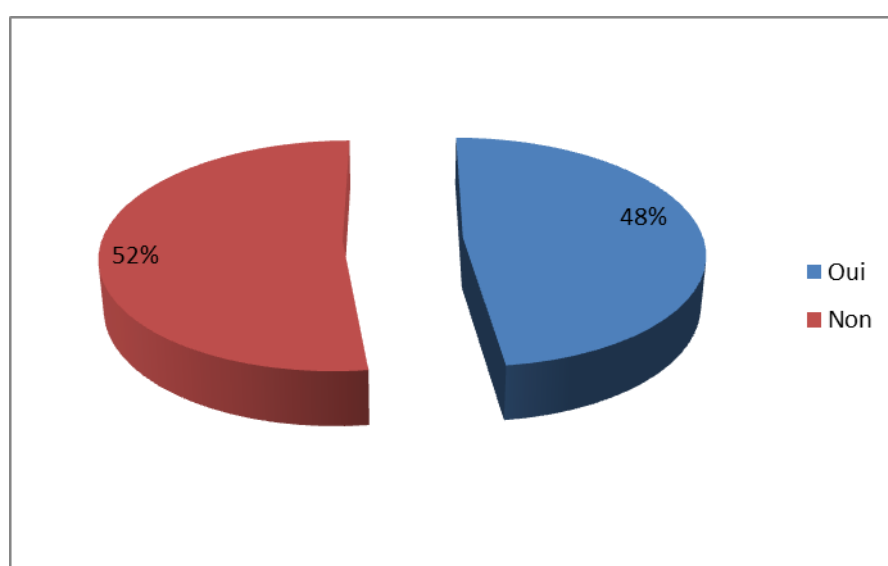


Figure 32: Diagramme en secteur représente les effets indésirables de la plante.

III.1.2.9 Toxicité

La figure montre que les résultats d'enquête ethnobotanique ont noté que 73% de la population interrogé indique l'absence de la toxicité de la plante, cependant seulement 27% indique la présence de la toxicité de la rue. Cela reflète la mentalité de la population qui vois que les remèdes traditionnelles à base de plante sont sur et inoffensifs.

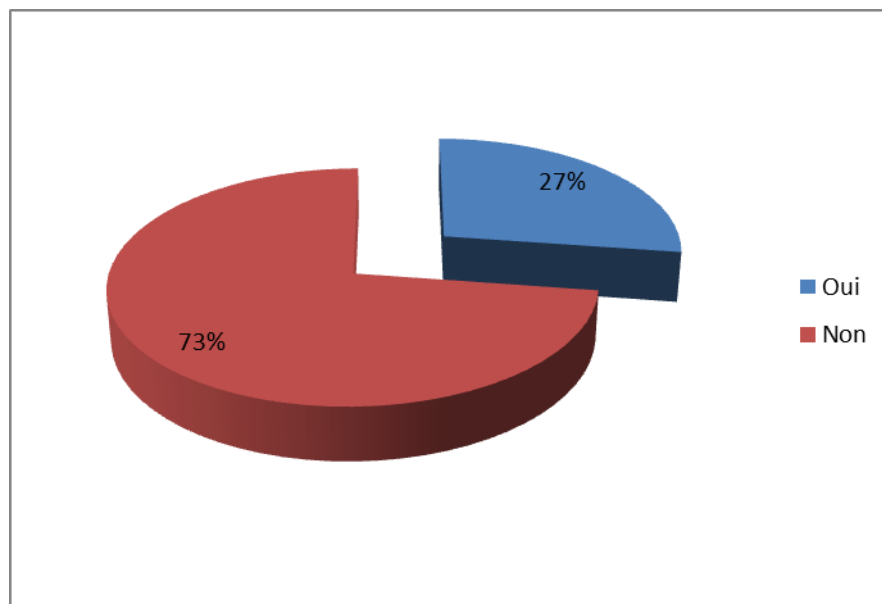


Figure 33: Diagramme en secteur représente la toxicité de la plante.

D'après l'étude de **Daoudi A et al.2016 (14)**, l'enquête ethnobotanique de la rue dans la région Meknès a confirmé que Ruta est une plante à usage thérapeutique. Cette étude a montré aussi que les parties de la plante les plus utilisées sont les feuilles et les racines avec des pourcentages très élevés respectivement : 100% et 95%.

Selon l'étude de **Najem M et al.2018 (140)**, toutes les parties de la plante sont utilisées : feuilles (100%), racine (96%), fleurs (68%) et les tiges (64%).

Une autre étude menée par **Kemassi A et al.2019 (141)** sur la plante *Ruta tuberculata*, ont montré que les feuilles sont les parties majoritairement utilisées dans différentes préparations thérapeutiques.

L'étude de **Daoudi A et al.2016(14)**, a montré que le mode de préparation le plus répandu est l'infusion, avec un taux très élevés 95%.

Par ailleurs, **Najem M et al. 2018(140)** ont démontré que la décoction, le cataplasme et l'infusion sont des modes de préparations les plus utilisées avec des pourcentages respectivement : 100%, 100% et 91.67%.

Ces études confirment nos résultats avec une différence relative des pourcentages.

Selon l'étude **Najem M et al (2018)(140)**, *Ruta montana* soigne plusieurs maladies : dermatologique (100%), pneumologue (100%), dentaire (100%), urogénitales (83.33%), tandis que **Daoudi A et al 2016 (14)** dit que la rue est sollicitée pour traiter plusieurs pathologies notamment les affections dermatologiques.

D'autres résultats similaires aux nôtres, notamment les travaux réalisés au niveau de la région chef (Maamar sameut et al .2020)(142) et au niveau de la région m'Aïdid (Delaldja I et al.2017)(143) où la feuille est la partie de la plante la plus utilisée sous forme des infusions.

Les résultats obtenus sont très logique par exemple la partie la plus utilisée de la plante est les feuilles car la plupart des composés actifs (huile essentielle, polyphénols...) se retrouvent dans la partie aérienne de la plante. Outre la méthode de préparation la plus utilisée est l'infusion car c'est une méthode d'extraction efficace, simple, fiable et non destructive pour extraire les principes actifs.

La différence relative des pourcentages entre notre enquête et les autres peut être expliquée par : la région de récolte de la plante (conditions géo-climatique), différent genre de la rue, population différente (âge, sexe, niveau intellectuel, niveau social...) par exemple nous avons enregistré un taux de 20% disant que la plante traite la magie et la sorcellerie. Au regard de ce résultat, il convient de souligner que la médecine traditionnelle est fortement influencée par les croyances populaire et religieuse.

III.2 Taux d'humidité :

Le taux d'humidité de la plante *Ruta montana* est égal à 70.81%.

Selon **Daoudi et al, 2015 (14)**, l'humidité relative de *Ruta montana* est 60%, plus de la moitié de la plante est donc constituée par l'eau.

III.3 Le rendement d'HE :

Le rendement moyen en huiles essentielles des parties aériennes de *Ruta montana* extraites par hydrodistillation a fourni un taux de 0.7%.

Il apparaît que la teneur en HE de notre échantillon est nettement inférieur à ceux enregistré par **Kambouch et al, 2018 (23)** pour la même espèce recueillis dans la région d'Oran avec un taux de rendement égale à 1.63% .en revanche l'hydrodistillation des parties aériennes de *Ruta montana* provenant de la région de Bouira enregistré par **Alloun et al, 2013 (144)** a donné un rendement en HE de 0.8%, alors que celui des régions : Mila et Oum Boaghi enregistré par **Zellagui et al, 2012(145)** obtenu par la même technique d'extraction sont respectivement 1% et 4.5%.

Les études sur les autres genres ont conduit à des résultats différents, selon **Bourouis et Merazka, 2018(146)**, l'extraction d'HE des parties aériennes de *Ruta chalepensis* a fournis un rendement égale à 0.52%, **Daoudi et al, 2016(14)** ont obtenu une teneur de rendement de 1%, alors que **Dob et al, 2008 (147)** et **Mejrid et al, 2010 (148)** ont enregistré des valeurs

respectives de 0.27% et 5 %. Cependant, *Ruta chalepensis* de la Tunisie a donné un taux de rendement de 5.51% D'après les travaux du **Soleiman et al, 2009 (149)**.

La différence existante entre les rendements d'extraction est probablement liée aux facteurs suivants : le temps d'hydrodistillation, la durée de séchage, le rapport eau/matière végétale et la température de chauffage.

Elle peut être liée également aux :

- ✓ Facteurs climatiques : chaleur, froid.....
- ✓ Facteurs géographiques : altitude, nature du sol.
- ✓ Facteurs génétique : croisement naturel (150).
- ✓

III.4 Caractérisation de l'huile essentielle :

- **Caractère organoleptique :**

L'HE obtenue est un liquide mobile de couleur jaune pâle avec une odeur caractéristique, désagréable et prononcée.

- **Densité relative à 20°C :**

La densité relative à 20°C d'HE de *Ruta montana* est égale à 0.983.

- **L'indice de réfraction à 20°C :**

L'indice de réfraction à 20°C d'HE de *Ruta montana* marque une valeur de 1.328.

A titre comparatif, l'étude d'**Alloun et al, 2013 (144)** sur *Ruta montana* rapporte les caractères physicochimiques dans le **Tableau 4**.

Tableau 4: Caractères physicochimiques d'HE de *Ruta montana*.

HE	Densité relative à 20°C	Indice de réfraction à 20°C
<i>Ruta montana</i>	0.804	1.43

III.5 Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante a été évaluée in vitro par deux méthodes différentes : le test du DPPH et FRAP. A des fins comparatives on a pris l'acide ascorbique comme référence.

III.5.1 L'activité antioxydante par DPPH :

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH par les HE de *Ruta montana* et celle d'acide ascorbique sont représentés dans les **Figure 34** et **35**.

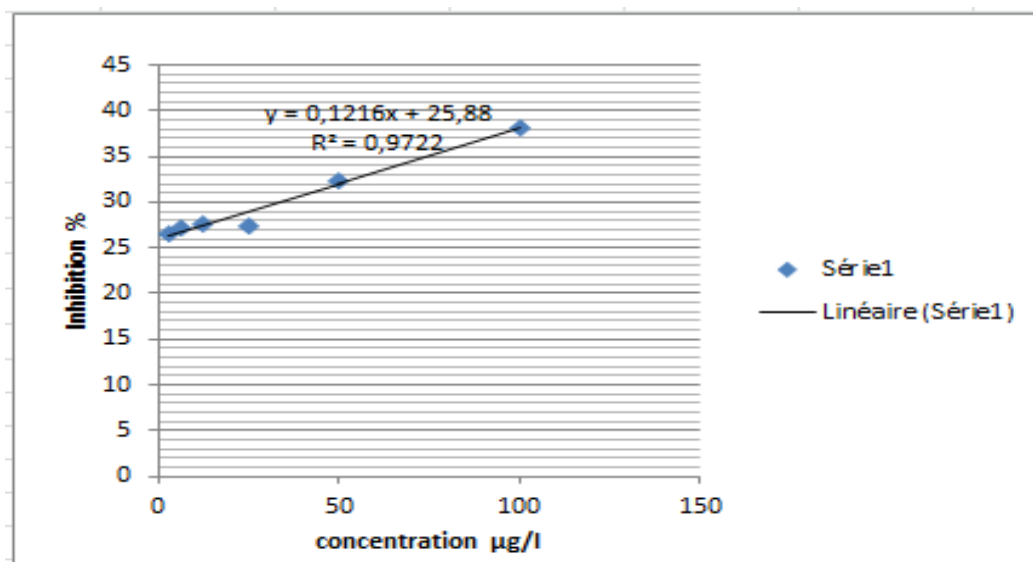


Figure 34: Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH par les HE.

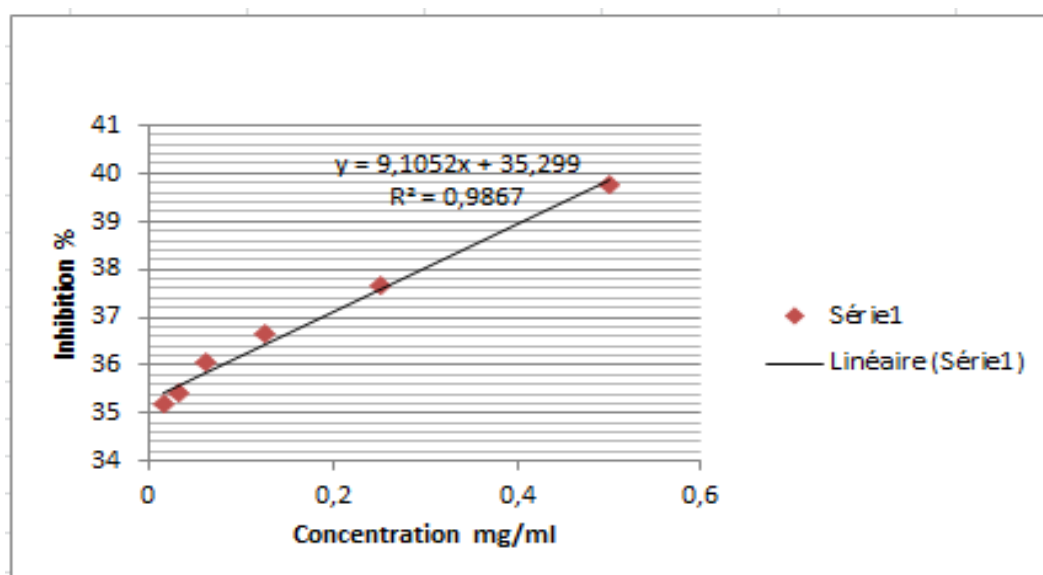


Figure 35 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration des HE ou l'acide ascorbique nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH.

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (151). La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire a été calculée à partir des équations de la droite de régression représentées dans la figure 34 et 35. Les valeurs des IC50 sont présentées dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : les valeurs de l'IC50 des HE de *Ruta montana* et l'acide ascorbique.

Les produits	HE	Acide ascorbique
IC50	198 µg/l = 0.198mg/l	1mg/l

Les profils d'activité anti radicalaire obtenus révèlent que l'HE possède une activité antioxydante dose dépendante, dont le pouvoir de piégeage augmente proportionnellement avec la concentration de HE.

L'huile essentielle de notre échantillon a une activité antioxydante très puissante en comparant avec l'acide ascorbique.

III.5.2 Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) :

La méthode de FRAP est fondée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}).

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (5). Les résultats sont présentés dans **Figure 36** et **37**.

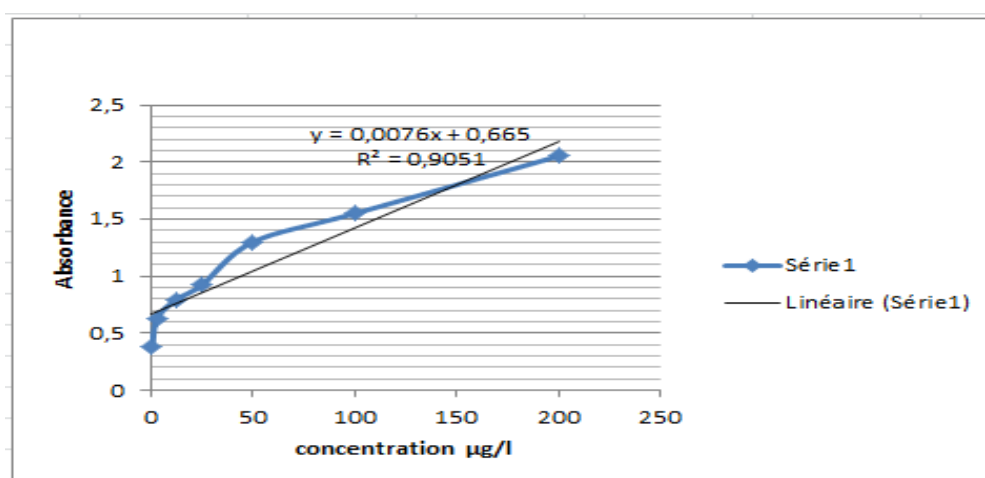


Figure 36: Pouvoir réducteur d'HE de *Ruta montana*.

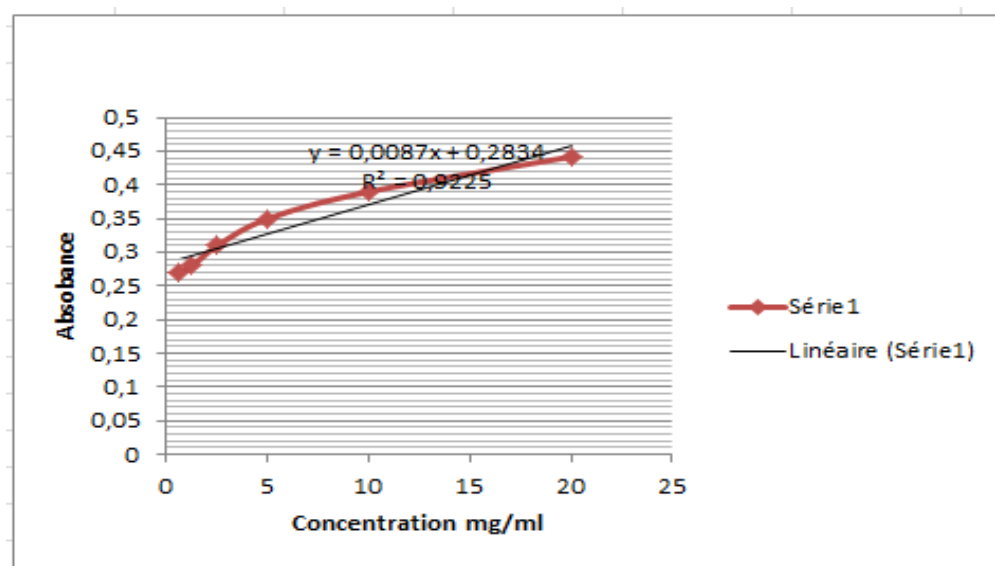


Figure 37: Pouvoir réducteur d'acide ascorbique.

Figure 36 et **37** montrent que la capacité de réduction d'HE et d'acide ascorbique est importante et elle est dose dépendante, elle augmente avec l'augmentation de concentration.

Concernant l'activité de piégeage du radical DPPH, l'étude de **Benziane et al, 2007** (152) montre que l'HE de *Ruta montana* augmente proportionnellement avec la concentration d'HE. D'après l'étude de **Belhadi et al, 2013** (153), L'activité antioxydante des HE de *Ruta montana* des trois régions Batna, Blida et Bejaia a donné les valeurs suivantes : 47.887, 39.141, 55.198 mg/ml respectivement.

Selon les résultats de **Bourouis et al, 2018 (146)** , la concentration d'inhibition, IC50, de *Ruta chalepensis* égale à 57.31µg/ml.

Concernant le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) nos résultats sont identiques avec ceux trouvés par l'étude d'**Alloun et al, 2013** (144) qui ont montré que la capacité antioxydante d'HE de *Ruta montana* augmente avec l'augmentation des concentrations.

Nos résultats des activités antioxydantes notamment l'activité de piégeage du radical DPPH montrent que notre huile essentielle possède une activité antioxydante très puissante. Cette activité témoigne que notre HE est très riches en composés réducteurs cétoniques tel que : 2-Decanone, 2-Undecanone...qui sont souvent présents dans HE de la rue selon la littérature.

III.6 Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des huiles essentielles testée sur trois souches bactériennes :

- Staphylococcus aureus « Gram positive ».
- Escherichia coli « Gram négative ».
- Pseudomonas aeruginosa « Gram négative ».

Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition par les HE en utilisant le test de l'aromatogramme sont regroupés dans les figures et le tableau suivant :

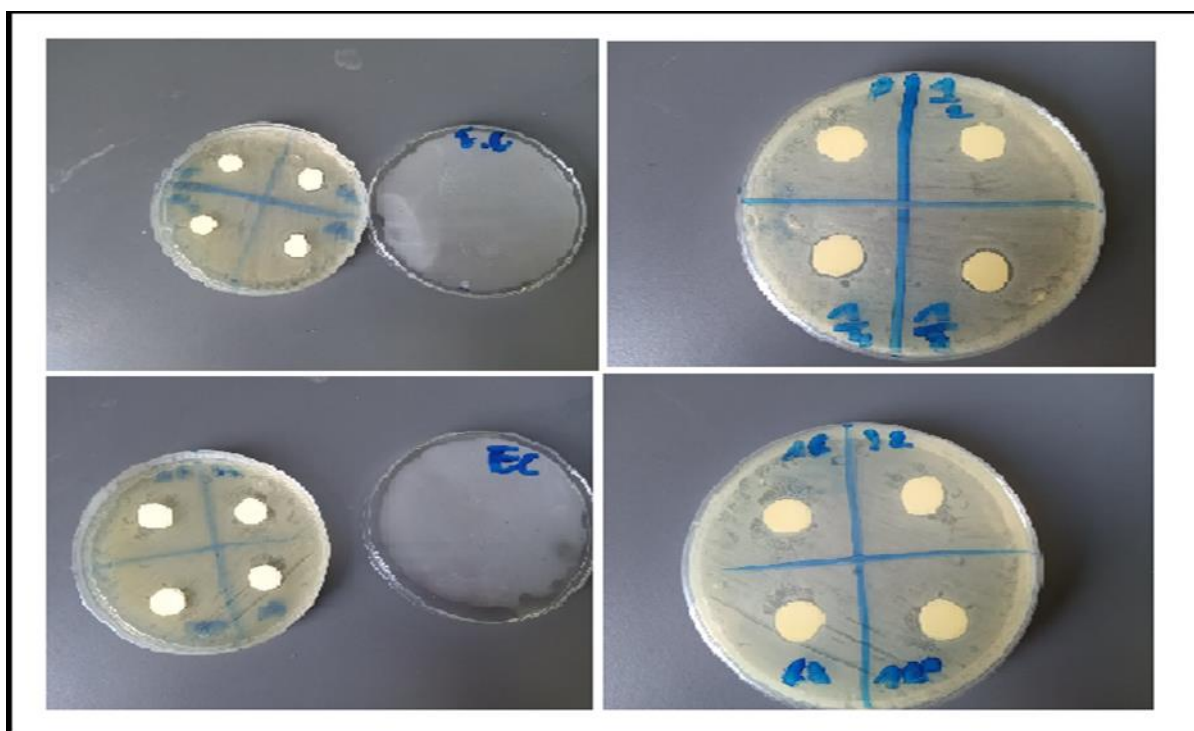


Figure 38: la souche testée E. Coli.

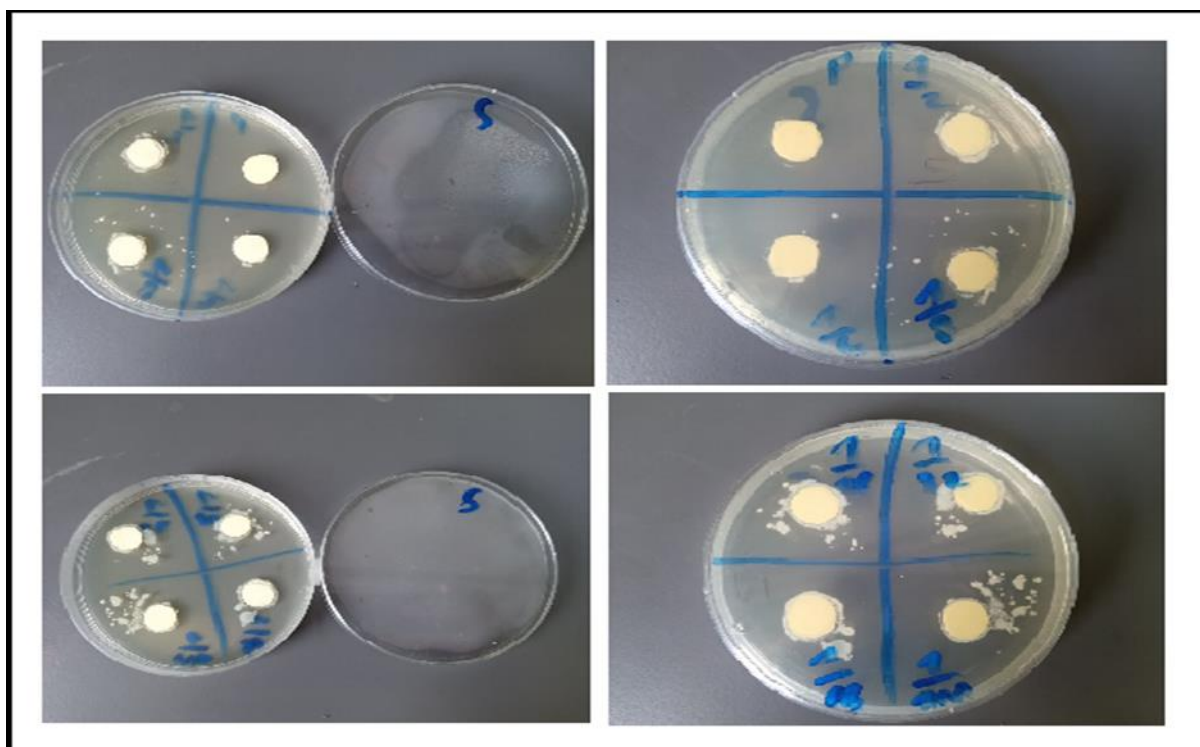


Figure 39: La souche testé S.aureus.

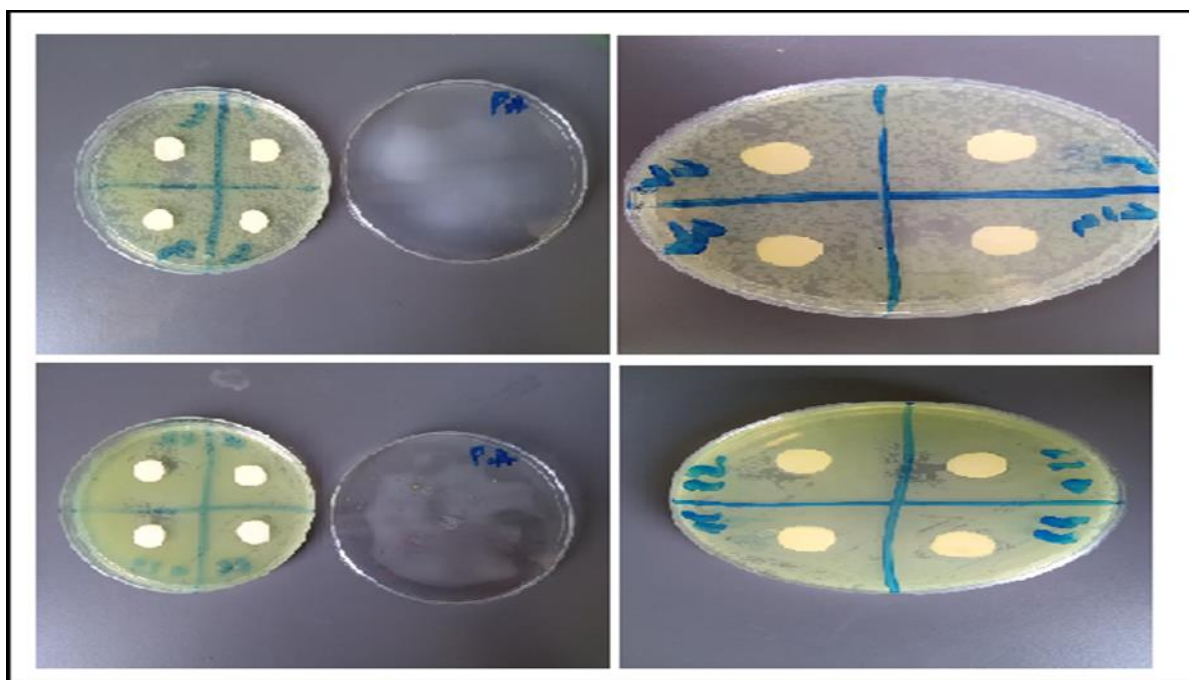


Figure 40: la souche testée Pseudomonas aeruginosa.

Tableau 6: diamètre de la zone d'inhibition des huiles essentielles de la plante de

Ruta montana L.

Les souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne (mm)								sensibilité
	Dilution des huiles essentielles du <i>Ruta montana</i> L.								
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
Escherichia coli	0	0	0	0	0	0	0	0	-
Staphylococcus aureus	0	0	0	0	0	0	0	0	-
Pseudomonas aeruginosa	0	0	0	0	0	0	0	0	-

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Ruta montana* n'a aucune activité contre les trois bactéries quel que soit gramme positif ou négatif.

Les résultats obtenus par **Belkassam et al, 2011 (24)** ont montré qu'HE de *Ruta montana* a empêché la croissance de la bactérie staphylococcus aureus avec un diamètre de la zone d'inhibition qui varie de 9.33 à 24 mm augmentant proportionnellement avec la concentration des échantillons testés.

Selon l'étude de **Zellagui et al, 2012 (145)**, HE de *Ruta montana* des deux régions (Mila et Oum Boaghi) montre une forte activité contre les bactéries gramme (+) et (-), avec un diamètre de zone d'inhibition qui varie de 6.33 à 26.66 mm. Les souches testées sont classées par ordre de croissance de sensibilité : Pseudomonas aeruginosa < S. aureus < E. coli.

Selon l'étude d'**Alloun et al, 2013 (144)**, HE de *Ruta montana* montre un léger pouvoir inhibiteur vis-à-vis S. aureus et E. coli avec des diamètres d'inhibition 13.5mm et 10.25mm respectivement. Alors que pour P. aeruginosa, elle présente une résistance avec un faible diamètre de 6.75mm. Ces résultats ne concordent pas avec les nôtres.

Par contre l'étude de **Belhadi et al, 2013 (153)**, a confirmé nos résultats, notamment les travaux sur les huiles essentielles de *Ruta montana* des deux régions (Bejaia et Batna) n'ont aucune activité sur les germes testés (E. coli, S. aureus, P. aeruginosa).

Le mode d'action d'huile essentielle dépend du type de microorganisme(154). En général, les bactéries gramme négatif sont plus résistantes que les grammes positifs grâce à la structure de leur membrane interne vu que les bactéries gramme négatif possèdent une double membrane qui les protège contre les agents antibactériens (90).

L'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs :

- L'espèce de la plante.
- La préparation de l'extrait.
- Le solvant utilisé.
- La sensibilité des bactéries.
- Biais de manipulation.

Conclusion générale

Conclusion générale :

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

Notre travail a été mené sur les huiles essentielles de « la rue » du genre *Ruta montana* récoltée de la région de Sidi Bel Abbès connue sous le nom de Fidjel. Ainsi, l'étude ethnobotanique nous a fourni des informations intéressantes concernant les parties les plus utilisées de la plante, le mode d'utilisation, les maladies traitées...

L'extraction des huiles essentielles des parties aériennes de la plante par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif type Clevenger a donné un rendement de 0.7%.

L'activité antioxydante d'HE de *Ruta montana* a été évaluée par la méthode de piégeage de radical DPPH et pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP). Les résultats montrent que les HE possèdent une activité de piégeage de radical DPPH très importante supérieure à celui de standard (acide ascorbique). Avec un $IC_{50}=0.198\text{mg/l}$. Concernant le FRAP, les huiles essentielles ont une activité antioxydante équivalente au standard.

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la méthode de diffusion sur disque ou aromatoگرامme sur 3 espèces : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les trois souches ont montré une résistance à l'HE testé.

Tous ces résultats ont permis la valorisation de la « *Ruta montana* » et fournir les informations nécessaires afin d'élaborer une monographie de la plante. Malheureusement ce travail demeure incomplet principalement à cause de la pandémie qui a engendré beaucoup de difficultés :

- Difficultés de se dépasser (transports et confinement).
- L'analyse chimique d'HE par CPG/MS (CPG en panne).
- Pénurie importante des réactifs qui nous a privés de beaucoup de tests importants : β -Carotène, test de blanchissement...
- Tester l'activité antifongique.
- Tester l'activité antibactérienne sur d'autres souches.
- L'évaluation in vivo des HE.

Références

Références

1. Lahsissene H, Kahouadji A, Hseini S. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*. 2009.
2. Dif M, Benali-Toumi F, Benyahia M, Becheikhi F. Enquête sur l'utilisation phytothérapeutique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala. *Phytothérapie*. 2015;13(5):295-7.
3. Heywood, V, H. les plantes à fleurs, Ed. Nathan, Paris 1996.
4. Paul O. Les Végétaux : Organisation et diversité biologique, Ed. Dunod, 2000. 425 p.
5. Bezanger, B, L, Pinkas, M, Torck, et al. Les plantes Dans La Thérapeutique Moderne 2^{eme} Ed ed 1986.
6. Doerper S. Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique: Institut National Polytechnique de Lorraine; 2008.
7. P. M. Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins ; Larousse ; ED : PROTEA ; p.p. 7-502004.
8. René B, pierre C. Arbres Et Arbustes D'ornement Des Régions Tempérées Et Méditerranéennes, Paris, France 1986.
9. P Q, S S. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertique méridionales. Tome 2. CNRS, Paris. P-590-593. 1963.
10. A T. Flowering Plants; Ed 2 : Springer. P-33 ; 41;3752009. 375 p.
11. François, CD, Niestlé, SA. Dictionnaire Etymologique de Botanique, Ed. Lausanne (Switzerland), Paris. 2000.
12. Somon E. Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. Office des publications universitaires Alger-Ed, 6861987.
13. Aissa B, F. Encyclopédie des plants utiles EDAS Librairie moderne. Rouiba ed 1999.
14. Daoudi A, Hrouk H, Belaidi R, Slimani I, Ibjibij J, Nassiri L. Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*. 2016;7(3):685-1063.
15. Fournier, P. Les plantes médicinales et vénéneuses en France. Ed Paul Lechvalier, tome 3 romania---, Paris, p : 356-361 1948.
16. Hammiche V, Azzouz M. Les rues: ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité. *Phytothérapie*. 2013;11(1):22-30.
17. Hammiche V, Merad R, Azzouz M. Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen: Springer Paris; 2013.
18. Miller, P, 1785. Dictionnaire des jardiniers, ouvrage traduit de l'Anglais sur la huitième édition. p 410-411 1785.
19. M V. Histoire des plantes de Dauphiné (Contenant les espèces, les caractères, les synonymes et les vertus générales), p 582- 583 1789.
20. Armand T. Flore médicale Belge, p 255-256 1862.
21. Amien, A. *Ruta montana* L. eFlore électronique de Tele Botanica. 3 : 52. 1976.
22. Clevely, A, Richmond, K. Plantes Et Herbes Aromatiques, Connaître Et Préparer, Larousse, Paris 1997.
23. Kambouche N, Merah B, Bellahouel S, Bouayed J, Dicko A, Derdour A, et al. Chemical composition and antioxidant potential of *Ruta montana* L. essential oil from Algeria. *Journal of medicinal food*. 2008;11(3):593-5.

24. Abdelwahab B, Amar Z, Noureddine G, Mesbah L, Salah R. 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*. 2011;5(3):264-9.
25. Claisse, R. Plantes à usage dermatologique de la pharmacopée traditionnelle marocaine. *Médicaments et aliments : L'approche ethnopharmacologique*. 172-173.1993.
26. Metzger FW, Grant DH. Repellency to the Japanese beetle of extracts made from plants immune to attack. 1932.
27. Pollio A, De Natale A, Appetiti E, Aliotta G, Touwaide A. Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp.(rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *Journal of ethnopharmacology*. 2008;116(3):469-82.
28. Elizabeth L, . *Les Plantes : Aromatiques et Médicinales*; Ed : Molière (Paris). P-922001.
29. Roelandts R. Mutagenicity and carcinogenicity of methoxsalen plus UV-A. *Archives of dermatology*. 1984;120(5):662-9.
30. Dardalhon M, de Massy B, Nicolas A, Averbek D. Mitotic recombination and localized DNA double-strand breaks are induced after 8-methoxypsoralen and UVA irradiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current genetics*. 1998;34(1):30-42.
31. Pathak MA, Fitzpatrick TB. The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1992;14(1-2):3-22.
32. Fouin-Fortunet H, Tinel M, Descatoire V, Letteron P, Larrey D, Geneve J, et al. Inactivation of cytochrome P-450 by the drug methoxsalen. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1986;236(1):237-47.
33. Zumwalt J, Neal J. Cytochromes P450 from *Papilio polyxenes*: adaptations to host plant allelochemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 1993;106(1):111-8.
34. Allouni, R, . *Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante Ruta montana*: Thèse de doctorat en sciences. Université,Ferhat Abbas Sétif 2018.
35. Bellakhdar J. *Pharmacopée marocaine traditionnelle*: Ibis press; 1997.
36. Baser, K.H.C., Buchbauer, G. *Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications*. Ed.Taylor and Francis Gro

37. Besombes C. *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées*: Université de La Rochelle; 2008.
38. Bernard T, Perineau F, Bravo R, Delmas M, Gaset A. *Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie*. *Informations chimie (Paris)*. 1988(298):179-84.
39. F P, MT L. *Les huiles essentielles pour retrouver la vitalité, le bien-être, la beauté*. Ed. Vecchi S.A- Paris.95P. 1997.
40. Anton, R, Lobstein, A. *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris, Lavoisier, 522P (Technoque et documentation)2005.
41. Afnor. *Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle*. Ed. Afnor, Paris. Afnor,Paris ed2000.
42. Bruneton, J. *Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales*. Paris, Lavoisier, 585p. (Technique et documentation)1999.
43. Ekayn BN, Hadjer BG. *L'effet antibactérien de Nigelle sativia*. Mémoire de fin d'études. : Université Kasdi merbah- ouargla. Département des Sciences de la Nature

- et de la Vie. Faculte des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers; 2010.
44. Garneau, F., X. Le matériel végétal et les huiles essentielles. LASEVE-UQAC, Chicoutimi. Québec. 2001.
 45. Rai M, Acharya D, Wadegaonkar P. Plant derived-antimycotics; potential of Asteraceous plants. Plant-derived antmycotics; Current Trends and Future Prospects, Haworth Press, New York, London, Oxford. 2003:165-85.
 46. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Idaomar M. Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2005;585(1-2):1-13.
 47. Belaiche, P, . L'aromatogramme, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, édition Maloine S.A. Paris1979.
 48. Abrassart, J-L. Guide pratique d'aromathérapie : usages et biens faits des huiles essentielles des plantes. Masson ed1992.
 49. Daniel P. Urgences et soins intensifs en médecine aromatique intégrée.P.255.1992.
 50. Bruneton, J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. Paris, Lavoisier, 623p.(Technique et documentation).1993.
 51. Somate D, J. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation: Université Ouagadougou DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES; 2002.
 52. Mady C, Véronique C, Cécile V. Chimie des couleurs et des odeurs. Ed Cultures et techniques, Nantes. 255 P. (Formation).1993.
 53. Bruneton, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris; Lavoisier , 915p. (Technique et documentation). 1995.
 54. HADDOUCHI F, BENMANSOUR A. Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire. 2008;3(8).
 55. M F, I K, A L. Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. Le Diplome des etudes Supérieures en Biologie (DES). Universite Mohamed Boudiaf-Msila.Faculté des sciences et des sciences de l'ingeniorat. Département de biologie. 2009.
 56. Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2004;18(6):435-48.
 57. F R. Manuel des corps gras. Paris Ed Lavoisier Tec Doc. 1992;1228–1242.
 58. Madhavi DL, Deshpande S, Salunkhe DK. Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives: CRC Press; 1995.
 59. Caillet S, Lacroix M. Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA. 2007:1-8.
 60. Cushnie TT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*. 2005;26(5):343-56.
 61. Sudano Roccaro A, Blanco AR, Giuliano F, Rusciano D, Enea V. Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(6):1968-73.
 62. Pirbalouti A, Rahimi E, Moosavi S. Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Acta agriculturae Slovenica*. 2010;95(3):219.

63. Lattaoui N. Individual and combined antibacterial activity of the main constituents of three essential oils. *European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin*. 1994;3:13-9.
64. Davidson P. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food technology*. 1989;43:148-55.
65. Dorman HD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*. 2000;88(2):308-16.
66. Maria L-B. *Lavender: the genus Lavandula*, Taylor and Francis, London, p. 37, 402002.
67. Vokou D, Kokkini S, Bessiere J. *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece: distribution, volatile oil yield, and composition. *Economic Botany*. 1988;42(3):407-12.
68. Utree A, Slump R, Steging G, Smid E. Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection*. 2002;63:620-4.
69. Chao SC, Young DG, Oberg CJ. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of essential oil research*. 2000;12(5):639-49.
70. Pierr F, JOLLOIS R, Daniel P. *L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits*.
71. Nisrin B. *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. : Projet de recherche*. Université Mohammed V- Agdal. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair. Département de Chimie. Faculté des Sciences d; 2008.
72. Marouf A, G T. *Abrégé de biochimie appliqué*. EDP Sciences, France, 490.2009.
73. Jacques K, Hadji-Minaglo F. *La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie*. Paris. Edition Springer2012.
74. N F. *Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre Pinus poussant en Algérie* Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen; 2015.
75. CHOUITAH O. *Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra*: Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella; 2012.
76. El Haib A. *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*: Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; 2011.
77. M B. *Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristica fragrans en fonction du temps et de la technique utilisée*. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, 2013. [En ligne]. [Consulté en Juin 2018]. Disponible sur: www.memoireonline.com.
78. Bousbia N. *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires*: Université d'Avignon; 2011.
79. PAUL I. *Encyclopédie des plantes médicinales 2ème édition*. Paris: Larousse. Edition 20012001.
80. Jorite S. *La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel* 2015.
81. Max W, Robert A. *Plantes thérapeutiques. Tradition pratique officinales, science et thérapeutique*. 2ème édition. Paris : Edition TEC et DOC.
82. Chabrier J-Y. *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*: UHP- Université Henri Poincaré; 2010.

83. Jammaleddine, M, 2010. Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas [Mémoire]. Université sidi mohammed ben abdellah. Fès 2010.
84. K K, M G, . Keville K et Green M., 1995, Aromatherapy, A complete guide to healing art, Ed 1, THE crossing press, p 120-140. 1995.
85. Baysal T, Starmans D. Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and limonene from caraway seed. *The Journal of supercritical fluids*. 1999;14(3):225-34.
86. Jorg G, christof J. Guide de la PHYTOTHERAPIE. 2ème édition. Edition MARABOUT. Italie 2006.
87. Muther L. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant: Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université d'Auvergne; 2015.
88. Mayer F. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite: Université de Lorraine; 2012.
89. Velé, H. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments [thèse]. Université Angers 2015.
90. Naouel O. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil [thèse]. Université d'Oran: Thèse doctorat en chimie organique, université d'oran; 2015.
91. H R. Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339. 1992.
92. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in applied microbiology*. 1998;26(2):118-22.
93. P S, F P. Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, 2010.
94. W KH. 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres Editions. 2007.
95. Jean-Luc S. Les huiles essentielles : Synthèse d'aromathérapie et introduction à la Sympathicothérapie, Ed. Frison Roche, Paris. 1987.
96. Berger MM. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*. 2006;20(1):48-53.
97. Goudable J, Favier A. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*. 1997;11(2):115-20.
98. Hininger-Favier. Le stress oxydant : Laboratoire de Biologie du stress Oxydant. Faculté de Pharmacie. Grenoble.
99. Favier A. Le stress oxydant. *L'actualité chimique*. 2003;108(10):863-32.
100. Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J-O. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*. 2002;16(4):233-9.
101. Barouki R. Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*. 2006;22(3):266-72.
102. Koechlin-Ramonatxo C. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 2006;20(4):165-77.
103. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*. 2020;94(3):651-715.
104. PhD OIA. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 1999;8(1):53-63.
105. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 2006;160(1):1-40.

106. Marfak A. Radiolyse gamma des flavonoïdes: étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. 2003.
107. Traoré M. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au mali: Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto ...; 2006.
108. Benbrook CM. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. The organic center. 2005:6-8.
109. IPL. B. Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoyloides* Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9. 2002.
110. Marc F, Davin A, Deglene-Benbrahim L, Ferrand C, Baccaunaud M, Fritsch P. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. M/S: médecine sciences. 2004;20(4):458-63.
111. Diouf P-N, Merlin A, Perrin D. Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. *Annals of Forest Science*. 2006;63(5):525-34.
112. S G, L B, G A. Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *revue de génie industriels*. 2010:124-32.
113. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
114. Popovici C, Saykova I, Tytkowski B. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 2009;4:25-39.
115. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 1996;239(1):70-6.
116. Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000;48(8):3396-402.
117. Miller NJ, Rice-Evans CA. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*. 1997;60(3):331-7.
118. Sochor J, Ryvolova M, Krystofova O, Salas P, Hubalek J, Adam V, et al. Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: Advantages and disadvantages. *Molecules*. 2010;15(12):8618-40.
119. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001;49(10):4619-26.
120. Kubola J, Siriamornpun S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food chemistry*. 2008;110(4):881-90.
121. von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1997;45(3):632-8.
122. Moure A, Franco D, Sineiro J, Domínguez H, Núñez MJ, Lema JM. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000;48(9):3890-7.
123. Koleva II, Van Beek TA, Linssen JP, Groot Ad, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*. 2002;13(1):8-17.

124. Pastre J, Priymenko N. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de médecine vétérinaire*. 2007;1(4):180-9.
125. Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Fougrach H, Bourkhiss B, et al. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*. 2007;146:85-96.
126. Clevenger J. Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912). 1928;17(4):345-9.
127. Moon J-K, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57(5):1655-66.
128. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J sci technol*. 2004;26(2):211-9.
129. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*. 2000;14(5):323-8.
130. Torres R, Faini F, Modak B, Urbina F, Labbé C, Guerrero J. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*. 2006;67(10):984-7.
131. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*. 1986;44(6):307-15.
132. Hubert J. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja: étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines 2006.
133. Hussain AI, Anwar F, Chatha SAS, Jabbar A, Mahboob S, Nigam PS. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41:1070-8.
134. Gachkar L, Yadegari D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*. 2007;102(3):898-904.
135. Mayachiew P, Devahastin S. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT-Food Science and Technology*. 2008;41(7):1153-9.
136. Ponce A, Fritz R, Del Valle C, Roura S. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*. 2003;36(7):679-84.
137. De Billerbeck V-G, Roques C, Vanière P, Marquier P. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes (Lyon)*. 2002;10(3):248-51.
138. BASSOLE H, KABORE Z, TRAORE A. ETUDE DES PROFILS BACTERIOSTATIQUES ET BACTERICIDES D'EXTRAITS VEGETAUX VIS-A-VIS DE GERMES PATHOGENES IMPLIQUES DANS LA CONTAMINATION DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE.
139. Rajbhandari M, Schöpke T. Antimicrobial activity of some Nepalese medicinal plants. *Pharmazie*. 1999;54(3):232-4.
140. NAJEM M, BELAIDI R, BOUIAMRINE H, IBIJBIJEN J, NASSIRI L. La rue de montagne « *Ruta montana* L. » : Usages en pharmacopée traditionnelle au Moyen Atlas central et risques de toxicité 2018:62-6.
141. Abdellah K, Zineb¹ S, Halima¹ MO, Amel¹ H, Zineb¹ B, Nouredine B, et al. Recherche des plantes à caractère hypotenseur utilisées dans la pharmacopée des populations de la vallée du M'Zab (Sahara Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*. 2019;6(2):1050-61.

142. Yamina MS. ETUDE ETHNOBOTANIQUE DANS LE SUD-EST DE CHLEF (ALGERIE OCCIDENTALE). *AGROBIOLOGIA*. 2021;10(3):2044-61.
143. DELALDJA DII. Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales, de la région sud de Maâdid: Université de m'sila; 2017.
144. ALLOUN K. Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) 2013.
145. Amar Z, Abdelwahab B, Abdelhakim B, Noureddine G. 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*. 2012;6(10):2684-8.
146. Bourouis NE, Merazka F, Benterrouche IE. Etude des huiles essentielle de *Ruta Chalepensis* et *Achillealigustica* et évaluation du leur activité biologique: Université de Jijel; 2018.
147. Dob T, Dahmane D, Gauriat-Desrudy B, Daligault V. Volatile Constituents of the Essential Oil of *Ruta chalepensis* L. subsp. *Angustifolia* (Pers.) P. Cout. *Journal of Essential Oil Research*. 2008;20(4):306-9.
148. Mejri J, Abderrabba M, Mejri M. Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*. 2010;32(3):671-3.
149. Soleimani M, Azar PA, Saber-Tehrani M, Rustaiyan A. Volatile composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran. *World Applied Sciences Journal*. 2009;7(1):124-6.
150. Mahfouf N. Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L: Université Chadli Benjedid-El Tarf (Algérie); 2018.
151. Yanishlieva-Maslarova NV. Inhibiting oxidation. *Antioxidants in food: Practical applications*. 2001:22-70.
152. BENZIANE MM. Screening phytochimique de la plante *Ruta montanam*: Extraction de l'huile essentielle et de la rutine: Activité antioxydante de la plante: Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella; 2007.
153. BelhadiSarah. L'activité antimicrobienne et antioxydantes des extraits et des huiles essentielles de *Ruta montana* L. de différents région (Batna, Blida et Bejaia) et influence des surfactants 2013.
154. A S. Contribution à l'évaluation de la sensibilité d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires aux quinolones et au extrait d'*Origanum glandulosum* et *cynoglossum cheirifolium*. Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. P- 32 2014.

Annexes

Annex I : Enquête ethnobotanique sur *Ruta montana* auprès les herboristes

➤ **Le nom vernaculaire**.....

➤ **Partie utilisée**

Feuilles

Racines

Tiges

Fleurs

➤ **Mode de préparation**

Décoction

Infusion

Macération

Huile fixe

Autre.....

➤ **Maladies traitées**

Affections dermatologiques

Affections uro-génitales

Affections de tube digestif

Affections respiratoires

Affections ostéo-articulaires

Affections neurologiques

Affections ophtalmiques

Affections cardio-vasculaires

Affections bucco-dentaires

Autre.....

Annex II : Enquête ethnobotanique sur *Ruta montana* auprès les habitants

➤ Le sexe

Homme Femme

➤ Age

- [0- 20ans]
 [20-35 ans]
 [35- 50 ans]
 [Plus 50 ans]

➤ Connaissez-vous Fidjel ?

Oui Non

➤ Usage

Thérapeutique Cosmétique culinaire

➤ Partie utilisée

Feuilles Fleurs Racine Tige

➤ Mode d'emploi

Infusion Décoction Macération huile fixe

Autre :

➤ Maladies traitées

- Affections dermatologiques
 Affections uro-génitales
 Affections des glandes
 Affections de tube digestif
 Affections respiratoires
 Affections ostéo-articulaires
 Affections neurologiques

Affections ophtalmiques

Affections cardio-vasculaires

Affections métaboliques

Affections bucco-dentaires

➤ **Effet indésirable**

Oui

Non

➤ **Toxicité de la plante**

Oui

Non

Résumé :

Les plantes aromatiques sont des sources inépuisables de substances naturelles douées de propriétés biologiques présentant un intérêt réel. Dans ce contexte, notre travail a été mené sur l'étude des huiles essentielles de la plante *Ruta montana* récoltée de la région de Sidi Bel Abbes connu sous le nom de Fidjel.

L'étude ethnobotanique de la plante a confirmé l'importance de l'utilisation traditionnelle de cette espèce, notamment les parties utilisées de la plante, le mode d'utilisation, les pathologies traitées...

L'huile essentielle de la partie aérienne de *Ruta montana* récoltée a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif type Clevenger avec un rendement d'extraction a montré un taux de 0.7.

L'activité antioxydante a été déterminée par deux méthodes : piégeage de radical DPPH et pouvoir réducteur d'ion de fer « FRAP ». L'activité antibactérienne a été testée sur trois souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) par la méthode de diffusion sur disque.

Une puissante activité antioxydante a été démontrée par les deux méthodes. En revanche, l'activité antibactérienne a marqué une résistance pour toutes les souches.

Mots clés : *Ruta montana*, Huile essentielle, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract:

Aromatic plants are inexhaustible sources of natural substances with biological properties of real interest. In this context, our work was conducted on the study of essential oils of the plant *Ruta Montana* harvested from the region of Sidi Bel Abbes known as Fidjel.

The ethnobotanical study of the plant confirmed the importance of the traditional use of this species, including the parts used of the plant, the mode of use, the treated pathologies...

The essential oil of the aerial part of *Ruta montana* harvested was extracted by hydrodistillation using a Clevenger type device with an extraction yield showed a rate of 0.7.

Antioxidant activity was determined by two methods: DPPH radical scavenging and iron ion reducing power «FRAP». Antibacterial activity was tested on three strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*) by the disk diffusion method.

A potent antioxidant activity was demonstrated by both methods. In contrast, antibacterial activity marked resistance for all strains.

Key words: *Ruta Montana*, essential oil, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص:

النباتات العطرية هي مصادر لا تنضب للموارد الطبيعية التي تتمتع بخصائص بيولوجية ذات أهمية حقيقية. وفي هذا السياق، اجري عملنا على دراسة الزيوت الأساسية لنباتة روتا مونتانا المحسودة من منطقة سيدي بلعباس المعروفة باسم الفجل.

أكدت الدراسة العرقية النباتية للنبات أهمية الاستخدام التقليدي لهذا النوع، ولاسيما اجزاء النباتات المستخدمة؛ وطريقة الاستخدام؛ والامراض المعالجة.....

تم استخلاص الزيت العطري للجزء العلوي من *Ruta montana* بالتقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger بإنتاجية الاستخلاص 0.7.

تم تحديد نشاط مضاد الأكسدة بطريقتين: ازالة الجذور لـ DPPH وتقليل طاقة أيون الحديد "FRAP". تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا على ثلاث سلالات (*Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas (aeruginosa)*) بطريقة الانتشار القرصي.

تم اثبات نشاط قوي مضاد للأكسدة من خلال كلتا الطريقتين. في المقابل اظهر النشاط المضاد للبكتيريا مقامة لجميع السلالات.

الكلمات المفتاحية: *Ruta montana* زيت عطري نشاط مضاد للأكسدة نشاط مضاد للبكتيريا.