

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie (S.N.V)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Etude *in vitro* de l'activité antioxydante
des extraits de la plante *Ruta tuberculata* L.**

Présenté par :

M^{lle}. HAMAMI Imane

M^{lle}. HAILAMI Affaf

M^{lle}. SAOUDI Safia

Membre de jury :

Président(e) : M^{lle} NIA Samira MCB

Examineur: M^r BOUBRIMA Youcef MAA

Promotrice : M^{me} BOUSSOUSSA Hadjer MCA

Co-promotrice : M^{me} KHACHEBA Ihen MCA

Promotion 2019/2020

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Allah tout puissant qui nous a donné la force

et la patience pour accomplir ce modeste travail ;

*Nos remerciements s'adressent à **M^{lle} NIA Samira** d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance et à **M^r BOUBRIMA Youcef** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nos remerciements vont particulièrement à notre promotrice

***M^{me} BOUSSOUSSA Hadjer** pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant et pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée ,pour ses remarques et ses conseils avisés qui nous ont permis de mener à bien ce travail.*

Nos remerciements s'adressent également à notre

*Co- promotrice **M^{me} KHACHEBA Ihen** pour nous avoir guidées de la meilleure façon qui soit.*

Ce travail de mémoire s'est déroulé au laboratoire pédagogique

du département de Biologie et au laboratoire des sciences fondamentales de 'université

Amar Telidji - Laghouat - .

*dont nous remercions ses directeurs **M. HADJOUJA Mustafa***

*et **M^r. YOUSFI Mohamed** pour l'accueil et les conditions matérielles et scientifiques qui nous ont été offertes.*

Nous souhaitons aussi saluer et remercier nos collègues, étudiant(es)

avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant ces cinq années.

Enfin, nous remercions toute l'équipe administrative et pédagogique du département

*de biologie de **l'Université Amar Telidji** à notre formation*

et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragement durant la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A **mes chères parents** pour tous leurs sacrifices, amour, tendresse,
pour leur soutien tout le long de mes études.

A mes frères :**Oussama** et **Abdelnour**

A ma sœur :**Maria**

Pour leur encouragement et je souhaite que Allah leur donne
la santé et succès dans leur vie .

A Toute ma famille, À mes Amis.

Que toute personne qui m'a aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma
reconnaissance.

Imane

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie à mes chers parents pour leurs soutiens durant le long chemin de mes études ;

Mon cher frère **Hailami Bachir**, Je le souhaite la réussite dans tous les domaines.

Mes cousins et cousines ;

Toute la famille **Benziane** et **Hailami** ;

Mes amis (es) tous ceux que je connais et qui me connaissent ;

Toute la promotion de **biochimie appliquée**.

Affaf

Dédicace

En Premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents pour tous leurs sacrifices leur tendresse leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

À mes chères sœurs pour leurs patiences et leur soutien moral dans les moments les plus difficiles.

À mes chers frères pour leur appui et leur encouragement

À toute la famille «**SAOUDI**»

À mes chers trinômes merci pour les super moments qu'on a partagé afin de donner naissance à ce projet. Et à leurs familles.

À tous les étudiants de la promotion 2020 « biochimie appliquée »

Safia

المخلص :

يتمثل عملنا في تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات للجزء العلوي من نبات *Ruta tuberculata L*

التي تم قطفها من منطقة واد مرة ولاية الأغواط في أبريل 2019.

تتمثل الخطوة الأولى فياستخلاص المركبات الفينولية عن طريق سلسلة من النقع في مذيبات ذات قطبية متزايدة (ثنائي كلورو الميثان ، أسيتات الإيثيل ، الميثانول والإيثانول) ;تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام كواشف *Folin-Ciocalteu* وكمية الفلافونويد باستخدام كلوريد الألومنيوم.

تتضمن الخطوة الثالثة في تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات بإختبارين مختلفين:النشاط المضاد للجذرين

DPPH و *FRAP*

كل المستخلصات أظهرت نشاطا مضادا للأكسدة حيث أن مستخلص الميثانول الأعلى نشاطا ب IC_{50} يساوي

$0,203 \pm 0,0007$ غ/ل. ونسبة تثبيط للجذور الحرة 53.23% بتركيز قيمته $0,22$ غ/ل .

الكلمات المفتاحية: *Ruta tuberculata L*;المركبات الفينولية، الفلافونويد , النشاط المضاد للأكسدة,*DPPH*.

.*FRAP*

Résumé

Notre travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Ruta tuberculata* L, récolté de la région d'Oued Morra wilaya de Laghouat au mois d'Avril 2019.

La première démarche consistait à une extraction successive des composés phénoliques dans une série de macération par des solvants à polarité croissante (dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol et éthanol), une quantification par la suite des phénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par le chlorure d'aluminium. La troisième démarche comprend à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts par deux tests (DPPH et FRAP).

Tous les extraits ont montré des effets antioxydants sachant que la fraction méthanolique présente une activité la plus élevée avec IC_{50} égale $0,203 \pm 0,0007$ g/l et un pourcentage d'inhibition de 53,23% à concentration de 0,22 g/l.

Mots-Clés : *Ruta tuberculata* L, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante DPPH, FRAP.

Abstract

Our study focuses on antioxidant activity of extracts from the aerial part of *Ruta tuberculata L* plant, collected from the region Algeria (Oued Morra, Wilaya of Laghouat) in April 2019.

The first step in this study consisted of excessive extraction of the phenolic compounds by a series of macerations with solvents of increasing polarity (dichloromethane, ethyl acetate, methanol and ethanol).The second step consisted to quantify the total phenols using the reagent of Folin-Ciocalteu and the aluminum chloride detects the contents of flavonoids.

The third step involves the evaluation of the antioxidant activity of extracts by two tests: (DPPH and FRAP)..

All the extracts showed antioxidant effects ,the methanolic fraction has the highest activity with $IC_{50} = 0.203 \pm 0.0007$ g / l and a percentage of inhibition equal to 53.23% with concentration equal 0.22 g / l .

Keywords: *Ruta tuberculata L*, phenolic compounds, flavonoids, DPPH, FRAP.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	4
I. Généralités sur les métabolismes secondaires	5
I.1. Composés phénoliques	5
I.2. Classification des composés phénoliques	5
I.2.1. Acides phénoliques	5
I.2.2. Flavonoïdes	7
I.2.3. Tannins	9
I.2. Alcaloïdes	9
I.3. Terpènes	9
I.2. Stress oxydatif	10
I.2.1. Définition du stress oxydatif	10
I.2.2. Conséquences du stress oxydatif	10
I.3. Radicaux libres	11
I.4. Système antioxydant	12
Chapitre II : Matériel et Méthodes	13
II.1. Généralité sur <i>Ruta tuberculata</i> L	14
II.1.1. Description botanique	14
II.1.2. Classification systématique	14
II.1.3. Utilisations dans la médecine traditionnelle	14
II.2. Préparation de la matière végétale	15
II.2.1. Récolte de la plante	15
II.2.2. Séchage	16
II.2.3. Broyage	16
II.3. Préparation des extraits	16
II.3.1. Délipidation	17
II.3.2. Extraction des composés phénolique par macération	17
II.3.3. Évaporation	17

II.3.4.Expression des résultats	18
II.4. Quantification des composés phénoliques.....	20
II.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux	20
II.4.1.1. Principe.....	20
II.4.1.2.Mode opératoire	20
II.4.1.3.Expression des résultats	21
II.4.2.Dosage des flavonoïdes.....	22
II.4.2.1.Principe.....	22
II.4.2.2.Mode opératoire	22
II.4.2.3.Expression des résultats	23
II.5.Evaluation de l'activité antioxydante	23
II.5.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl)	23
II.5.1.1. Principe.....	24
II.5.1.2.Mode opératoire	24
II.5.1.3.Expression des résultats	24
II.5.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	25
II.5.2.1Principe.....	25
II.5.2.2..Protocole de préparation du réactif FRAP	26
II.5.2.3.Mode opératoire	26
II.5.2.4. Expression des résultats	27
Chapitre III : Résultats et Discussion	28
III.1.Analyses des extraits	29
III.1.1.Préparation des extraits.....	29
III.1.2.Rendement d'extraction.....	29
III.2.Dosage	31
III.2.1.Dosage des composées phénoliques totales.....	31
III.2.2.Dosage des flavonoïdes	33
III.3.Activité antioxydante	34
III.3.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl- I -picrylhydrazyl)	34
III.3.2.Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	39
Conclusion	46
Référence bibliographique	48

Annexes	53
Glossaire.....	56

Liste des abréviations

AA	Activité Antioxydante
Abs	Absorption
Ac -Eth	Acétate d'éthyle
ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
A₀	Absorbance du contrôle
Al³⁺	Anion d'aluminium
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
ARN	Acide ribonucléique
Cl	Anion chlorique
Cu⁺	Anion de cuivre
DCM	Dichlorométhane
D.O	Densité Optique
DPPH	Radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAA/g MS	Equivalent d'Acide Ascorbique par gramme de matière sèche
EAG/g MS	Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche
EQ/g MS	Equivalent de Quercétine par gramme de matière sèche
EtOH	Éthanol
ERO	Espèce Réactive d'Oxygène
Fe₂₊	Ion ferreux
Fe₃₊	Ion ferrique
FeCl₂	Chlorure de fer
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
H⁺	Anion d'hydrogène
IC₅₀	Concentration d'Inhibitrice de 50 %
LDL	Lowdensitylipoprotein « Les lipoprotéines de basse densité »
MeOH	Méthanol
Mg/g	Miligramme/gramme
ml	Mililitre
Min	Minute
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
Q	Quercétine
PI	Pourcentage d'Inhibition
R%	Rendement d'extraction
RL	Radicaux Libres
TPTZ	2, 4, 6-tris 2-pyridyl-1, 3, 5-s-triazine
UV	Ultraviolet
µg	Microgramme
%	Pourcentage

Liste des tableaux

Tableau I: Principales classes des flavonoïdes	8
Tableau II: Les principaux antioxydants non enzymatiques retrouvés dans l'alimentation....	12
Tableau III : Classification de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L	14
Tableau IV: Aspects et couleurs des extraits de <i>Ruta tuberculata</i> L.....	29
Tableau V : Teneurs en phénols totaux des extraits bruts de la plante étudiée.....	29
Tableau VI: Teneurs en flavonoïdes des extraits bruts de la plante étudiée.....	31
Tableau VII: Valeurs d'IC ₅₀ des extraits et des standards obtenues avec le DPPH	33
Tableau VIII : Activité antioxydante des différents extraits de plante étudiée par le test FRAP	44

Listes des figures

Figure 1: Structure du squelette de base des flavonoïdes (ChemDraw).....	7
Figure 2: Structure de base des terpènes (isoprène) (Chem Draw).....	10
Figure 3 : Photo de <i>Ruta tuberculata</i> L.....	14
Figure 4: photographie de la partie aérienne de <i>Ruta tuberculata</i> L.....	15
Figure 5: Localisation géographique du lieu de récolte de <i>Ruta tuberculata</i> L :la commune de Oued Morra de Wilaya de Laghouat	16
Figure 6: Protocole de préparation des extraits de <i>Ruta tuberculata</i> L.....	19
Figure 7: Protocole de dosage des composés phénoliques.....	20
Figure 8: Courbe d'étalonnage d'acide gallique	21
Figure 9: Protocole de dosage des flavonoïdes	22
Figure 10: Courbe d'étalonnage de la quercétine	23
Figure 11: Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de <i>Ruta tuberculata</i> L par la méthode de DPPH.....	24
Figure 12: Protocole de préparation de solution FRAP	26
Figure 13: Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de <i>Ruta tuberculata</i> L..	27
Figure 14: Rendement d'extraction d'extrait de dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L.....	27
Figure 15: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard acide ascorbique en fonction de concentration.....	35
Figure 16: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard acide gallique en fonction de concentration.....	35
Figure 17: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard quercétine en fonction de concentration.....	36
Figure 18: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait de dichlorométhane en fonction de concentration.....	36
Figure 19: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait acétate d'éthyle en fonction de concentration.....	37
Figure 20: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait éthanolique en fonction des concentrations.....	37
Figure 21: Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait méthanolique en fonction de concentration.....	38
Figure 22: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique en fonction de la concentration.....	40
Figure 23: Pouvoir réducteur de la quercétine en fonction de la concentration.....	40
Figure 24: Pouvoir réducteur de l'acide gallique en fonction de la concentration.....	41

Figure 25: Pouvoir réducteur de l'extrait de dichlorométhane de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L en fonction de la concentration.	41
Figure 26: Pouvoir réducteur de l'extrait de l'acétate d'éthyle de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L en fonction des concentrations.	42
Figure 27: Pouvoir réducteur de l'extrait de éthanomique de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L en fonction des concentrations.	42
Figure 28: Pouvoir réducteur de l'extrait de l'acétate d'éthyle de la plante <i>Ruta tuberculata</i> L en fonction des concentrations.	43

Introduction

INTRODUCTION

Depuis des millénaires, les plantes sont utilisées pour aromatiser et conserver les aliments, soigner nombre de maux, éloigner les insectes, prévenir les maladies **(Thomas., 2010)**.

Aujourd'hui plus une personne sur deux utilise des produits à base de plante pour se soigner et 80% de la population des pays en voie de développement dépendraient en quasi-totalité de ces produits pour les soins de santé primaires **(Kasilo et al, 2010)**. C'est dans ce contexte que l'organisation mondiale de la santé (OMS) continue d'appeler à intégrer et valoriser les médecines traditionnelles dans les systèmes nationaux de santé **(Maxime ., 2018)**.

L'oxygène est indispensable à la vie. En effet, c'est cette molécule qui permet l'apport d'énergie à l'être humain par son rôle d'accepteur final d'électron au sein de la mitochondrie. Pourtant, elle est fortement impliquée dans l'initiation du stress oxydant qui, bien qu'il soit utile à l'organisme, peut être délétère et entraîner des pathologies variées dans certaines situations. En effet, ce paradoxe de l'oxygène entraîne la formation de radicaux libres très réactifs : superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde et peroxyde d'hydrogène qui sont regroupés sous le terme d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) **(Guillouty., 2016)**, c'est ce qu'on appelle le stress oxydant.

Le stress oxydant est une épée à double tranchant : dans un état physiologique, il est nécessaire pour la stimulation de prolifération et peut-être la suppression des composants cellulaires sénescents, lorsqu'il est excessif, il nuit à la structure et la fonction des tissus entraînant apoptose ou nécrose. **(Hamma., 2016)**.

La plante *Ruta tuberculata L* est une plante riche en antioxydants qu'ils sont définis comme des substances capables de concurrencer d'autres substrats oxydables à des concentrations relativement basses et donc de retarder ou d'empêcher l'oxydation de ces substrats. **(Fontaine ., 2007)**.

La phytothérapie "le soin par les plantes ". Nous pourrions aller jusqu'à dire que les plantes sont faites pour nous soigner ; C'est pour cela que la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années.

INTRODUCTION

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant les propriétés antioxydantes des polyphénols de la partie aérienne de la plante *Ruta tuberculata* L qui provient de la région d'Oued Morra de wilaya Laghouat (Algérie).

L'objectif sera donc d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits phénoliques de cette plante par les méthodes de **DPPH** et **FRAP**.

Le document est structuré en trois parties :

La première partie est consacrée aux rappels bibliographiques sur les métabolites secondaires et le stress oxydant.

La deuxième partie Une description botanique, classification systématique et l'utilisation traditionnelle de la plante étudiée, ainsi que les méthodes d'extraction et dosage des métabolites secondaires (les polyphénols totaux et les flavonoïdes), l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de la plante *Ruta tuberculata* L par deux méthodes différentes : Test DPPH et le pouvoir réducteur FRAP.

La troisième partie représente les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les métabolites secondaires

Une des originalités majeurs des végétaux réside dans leur capacité à réduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques) ils accumulent fréquemment des métabolites dits (secondaires) (Benarous . ,2010).

Ils appartiennent à trois grandes catégories à savoir :

- Des composés phénoliques.
- Des alcaloïdes.
- Des terpènes.

I.1. Composés phénoliques

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisés) ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation.....) enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (Jean-Jacques et al.,2005)

I.2. Classification des composés phénoliques

I.2.1. Acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux seuls dérivés des acides benzoïques et cinnamiques.

Des propriétés chimiques et analytiques peu différentes ainsi que l'intérêt pharmacologique relativement limité de ces composés (Jean.B., 2009).

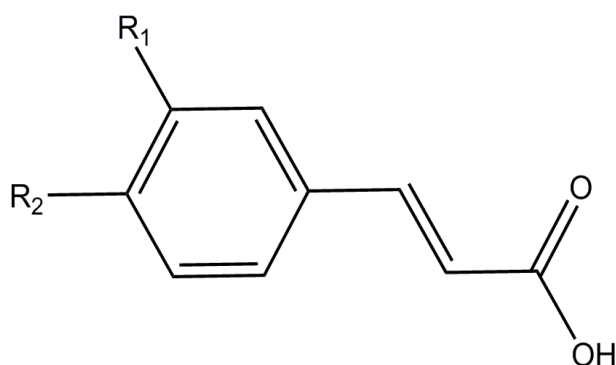
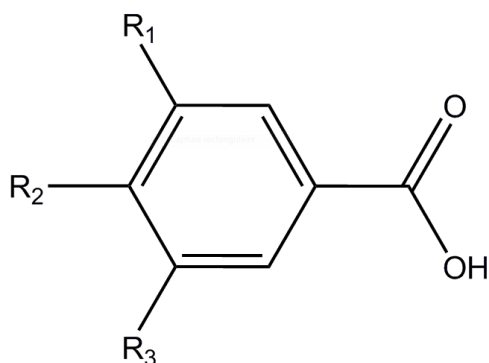
Chapitre I : Synthèse bibliographique

Acides hydroxybenzoïques :

- sont des dérivés de l'acide benzoïque.
- Ont une formule de base de type **C6-C1**.
- Existents fréquemment sous forme d'esters ou de glycosides.

Acides phénols dérivés d'acide cinnamique :

- Dérivent de l'acide cinnamique.
- La structure de base **C6-C3**.
- Rarement présents à l'état libre et ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques (**Jean-Jacques.M et al.,2005**).



Dérivés de l'acide benzoïque

R1=R2=R3=OH : Acide gallique

R1=H, R2=OH, R3=OCH3 :

Acide vanillique

R1=OH, R2=R3=OCH3 :

Acide syringique

Dérivés de l'acide cinnamique

R1=R2=H, R3=R4=OH : Acide caféique

R1=H, R3=OH, R2=R4=OCH3 : Acide cinapique

R1=R2=R4=H, R3=OH : Acide p-coumarique

I.2.2.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés polyphénoliques les plus abondants contenus dans les végétaux .Leur structure comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (**A** et **B**) porteurs de plusieurs fonctions phénols et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone, Ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène. La présence de plusieurs fonctions phénol confère à ces composés des propriétés antioxydantes (**Hamma.,2016**).

Selon le nombre, la position et la nature des substituants des deux cycles aromatiques et du degré d'oxydation et de substitution de la position 3 du cycle C, Les principales classes des flavonoïdes et leurs structures chimiques sont représentées dans le (**Tableau I**).

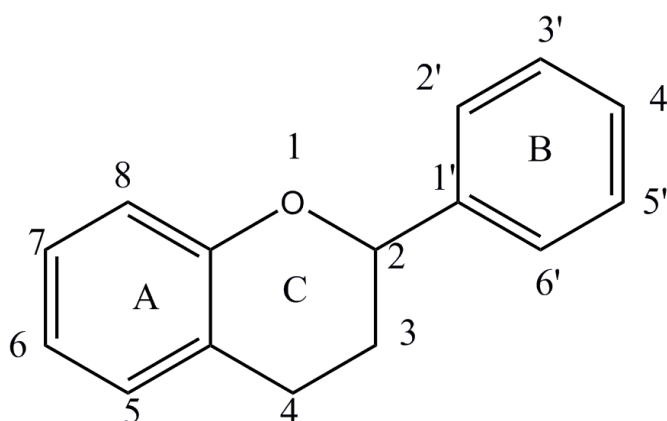
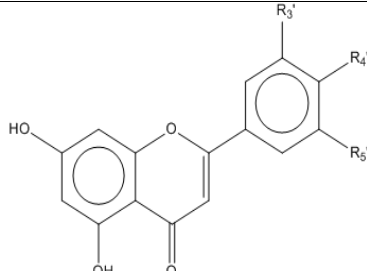
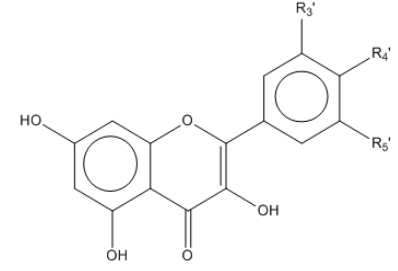
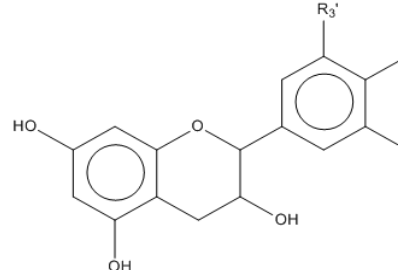
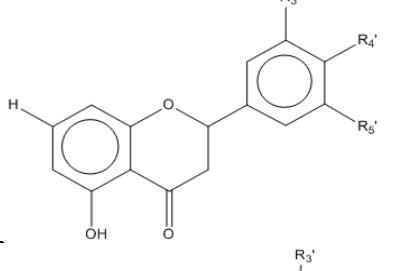
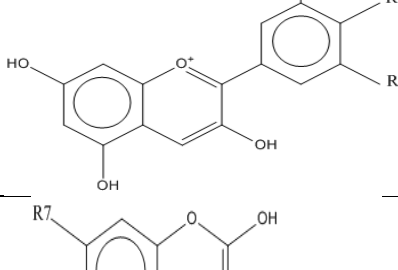
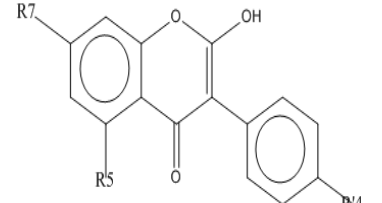


Figure 1 : Structure du squelette de base des flavonoïdes (**ChemDraw**).

Tableau I: Principales classes des flavonoïdes.

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	Exemples
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

I.2.3. Tannins :

Les tannins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solutions et de les précipiter, il est classique de distinguer deux grands groupes des tannins différents à la fois par leur activité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

Les tannins hydrolysables abondants chez les dicotylédones et certains arbres, ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique, ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide d'acide ellagique ; les tannins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavanes -3-ols dérivés de la (+) -catéchine ou de ses nombreux isomères, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader ainsi par trait chaud (**Jean-Jacques.M et al.,2005**) .

I.2.Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont les produits naturels qui contiennent de l'azote, habituellement comme étant un élément d'un système cyclique, les composés de ce type sont nombreux chez les plantes, ils sont synthétisés à partir des acides aminés, des terpènes ou des composés aromatiques selon la structure spécifique d'alcaloïde (**Benarous . ,2010**)

I.3.Terpènes

Les composés terpéniques volatils sont les constituants les plus courants, les plus abondants et les plus diversifiés des huiles essentielles. Ils appartiennent à une famille de molécules plus large (terpènes) présente chez tous les organismes vivants et particulièrement différenciée chez les végétaux, tous les terpènes dérivent d'un précurseur commun unique, l'isopentildiphosphate (IPP), génère par deux voies de biosynthèse distinctes (**Jean-Jacques et al.,2005**)

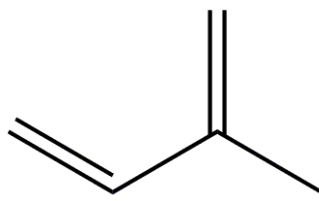


Figure 2 : Structure de base des terpènes (isoprène) (ChemDraw).

L'addition d'un de deux ou trois IPP génère respectivement le géranyldiphosphate (GPP) la farnésyldiphosphate (FPP) et le géranylgeranyldiphosphate (GGPP) à l'origine de trois classe de terpènes volatils (les mono-C10), sesqui-(C15) et diterpènes-(C20) respectivement (**Jean-Jacques et al.,2005**)

I.2.Stress oxydatif

I.2.1.Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (**Bensakhria., 2018**)

I .2.2.Conséquences du stress oxydatif

Les espèces réactives en excès exercent leurs effets néfastes principalement de deux façons : (i) par modifications direct des macromolécules cellulaire ou extracellulaires dont la fonction est alors altérée, conduisant à des effets pathologiques, (ii) par des altérations de leur action physiologique sur l'état d'oxydo-réduction des facteurs impliqués dans la transduction du signal, ce qui conduit à l'hyper-ou hypo-fonctionnalité des voies de signalisation.

Cinq principales catégories de dommages oxydatifs au moins, peuvent être engendrées par le radical OH, ce sont les bases oxydées, les sites abasiques, adduits intra-caténaires (réaction entre les bases aminées de l'ADN et des aldéhydes comme le malondialdéhyde ou le 4-hydroxy-2-nonéanal prouvent de la peroxydation lipidique), les cassures de brins d'ADN et les pontages ou « cross-links » ADN-protéines

Chapitre I : Synthèse bibliographique

L'attaque des espèces réactif d'oxygène sur l'ADN fait partie des mécanismes d'initiation de la mutagenèse, la cancérogenèse et le vieillissement .les lésions de l'ADN peuvent entrainer également l'arrêt ou l'induction de la transcription, l'induction de voies de signalisation, des erreurs de réplication et de l'instabilité génomique, tous étant associés à la carcinogenèse (**Hamma., 2016**).

L'oxydation des protéines entraine un large spectre d'effets secondaires, y compris la fragmentation, la réticulation et le dépliage des chaines polypeptidiques, ce qui peut accélérer ou entraver le turnover protéolytique médié par le protéasome (**Griffiths et al ;2002**).

Le radical hydroxyle est l'un des oxydants les plus importants responsables des dommages protéiques (**Sang et al .;2009**).

I.3.Radicaux libres

Un radical libre est défini comme une molécule possédant un ou plusieurs électrons libres. Le plus souvent l'électron non apparié se trouve sur l'orbitale externe de la molécule. Cet électron libre la rend très réactive. Parmi les composés qui répondent à cette définition, citons :

- L'atome d'hydrogène.
- Les ions métalliques de transition.
- Les molécules dérivées de l'oxygène.
- L'oxyde nitrique. (**Jacques et André . ,2008**)

I. 4. Système antioxydant

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes :

Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation (composés phénoliques et vitamines) (Guillouty ., 2016)

Tableau II : Les principaux antioxydants non-enzymatiques retrouvés dans l'alimentation (Hamma., 2016).

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs
B-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolite de la cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II .1. Généralité sur *Ruta tuberculata* L

II.1.1.Description botanique

Plantes herbacées pérennantes à tiges dressées, à rameaux lisses ,ronds ;feuilles composées pennatiséquées, charnues ;fleurs petites ,jaunes ,en grappes peu fournies, périanthes à 4sépales et 4pétales en croix ,de forme plus ou moins ovale ;8étamines insérées sur un disque présentant autant de fossettes nectarifères ;capsules allongées ou globuleuses ,lobées ,à 4loges ;odeur forte peu agréables .(Baba Aissa .F.,2011)

II.1.2. Classification systématique

Tableau III : Classification de la plante *Ruta tuberculata* L (Bensaci et Khathir.,2016)


Classification systématique	La plante
Règne : Planta	
Sous règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)	
Division : Magnoliophyta (plantes à fleur)	
Classe : Magnoliopsida (dicotylédones)	
Sous classe : Rosidae	
Ordre : Sapindales	
Famille : Rutaceae	
Genre : Ruta	
Espèce : <i>Ruta tuberculata</i> L.	
Non vernaculaire : Faijel الفيجل	

Figure 03 : Photo de *Ruta tuberculata* L (Garcin .A; 21 décembre 2019)

II.1.3.Utilisations dans la médecine traditionnelle

La partie aérienne de *Ruta tuberculata* L est utilisées en décoction, en cataplasme et en pommade contre les piqûres de scorpions, dans le traitement des spasmes digestifs, des algies articulaires et des accouchements difficiles .(Chehma et Djaber, 2008)

II. 2.Préparation de la matière végétale

II.2.1.Récolte de la plante

La récolte de la plante de *Ruta tuberculata* L a été effectuée dans la région d'Oued morra wilaya de Laghouat au mois d'Avril 2019. La récolte de la partie aérienne est faite manuellement, au hasard.

L'échantillon a été donc emballé dans un sac, étiqueté, puis transporté au laboratoire afin de réaliser une étude du point de vue composés bioactifs et activité antioxydant.



Figure 4 : photo de la partie aérienne de *Ruta tuberculata* L

La région de la récolte :



Figure 5 : Localisation géographique du lieu de récolte de *Ruta tuberculata* L : la commune d'Oued Morra de Wilaya de Laghouat. (Michelin.,2020).

II.2.2. Séchage

Après la récolte, l'échantillon a été séché pendant 10 jours à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans un endroit sec et ventilé jusqu'à le séchage complet.

II.2.3. Broyage

La plante sèche est broyée à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisée afin d'obtenir une poudre fine.

Cette dernière a été récupérée et conservée dans un flacon en verre fermés, fumé, étiqueté à température ambiante à l'abri de la lumière à 25 C° jusqu'au moment de l'extraction.

II.3.Préparation des extraits

Le procédé d'extraction des polyphénols utilisé est décrit selon les étapes suivantes :

II.3.1. Délipidation

Une quantité de 1g de la poudre précédemment obtenue est macérée dans 20 ml d'hexane jusqu'à épuisement à température ambiante et à l'obscurité dans un but de dépigmentation et délipidation, ensuite l'extrait est filtré.

II.3.2. Extraction des composés phénolique par macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (Feknous et al, 2014)

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée par fractionnement par une série de macération du résidu après la délipidation par des solvants à polarité croissante afin d'obtenir quatre extraits organiques bruts ; macération dans un volume de 20 ml de dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol successivement répétée chaque 24h à température ambiante et à l'obscurité , les trois filtrats de chaque extrait sont réunis et menant à l' évaporation .L'extraction par l'hexane a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles. L'extraction par le dichlorométhane a été faite pour obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires. La deuxième extraction grâce l'acétate d'éthyle a été faite pour obtenir un extrait riche en composés polaires. la troisième extraction par éthanol a été faite pour obtenir un extrait riche en composés très polaire.

La dernière extraction a été faite par le méthanol qui extrait les composés franchement polaires.

II.3.3. Évaporation

Les extraits bruts sont évaporés sous pression réduite à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif, les résidus sec sont repris dans 10 ml de méthanol conservée au réfrigérateur à jusqu' à leur analyse.

II.3.4.Expression des résultats

L'extraction des polyphénols de la plante de *Ruta tuberculata* L par les solvants organiques, nous a permis de déterminer le rendement qu'il est calculé à partir de la formule suivante :

$$R\% = \frac{M \text{ extrait}}{M \text{ échantillon}} \times 100$$

R% : Le rendement d'extraction.

M extrait : masse de l'extrait sec après l'évaporation du solvant en gramme.

M échantillon : masse de la matière végétale utilisée sous forme de poudre en gramme.

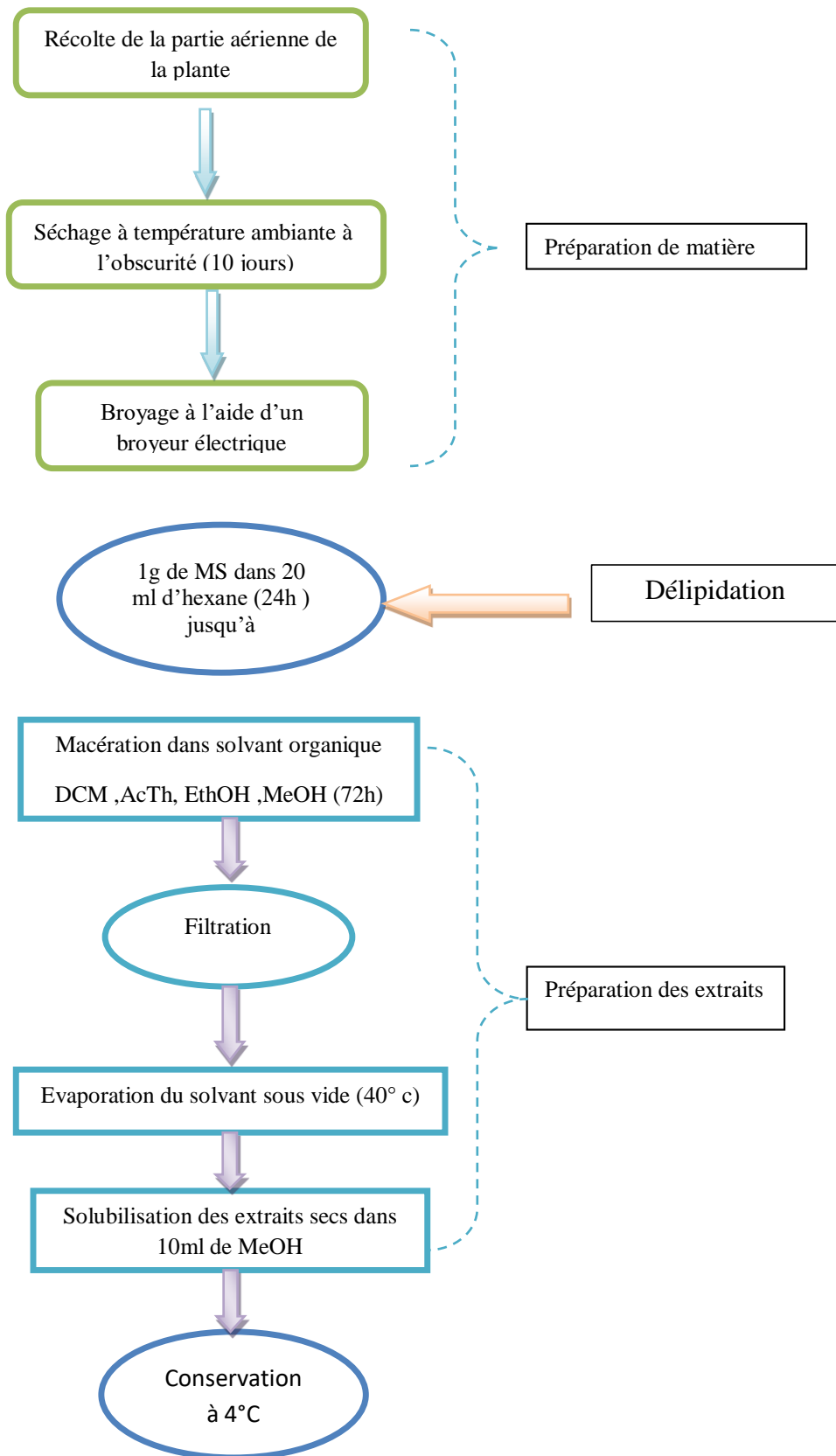


Figure 6: Protocole de préparation des extraits de *Ruta tuberculata* L

II.4. Quantification des composés phénoliques

II.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage a été réalisé sur l'extrait de dichlorométhane, d'acétate d'éthyle, méthanol et éthanol de *Ruta tuberculata* L dans les mêmes conditions.

II.4.1.1. Principe

La teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes, en particulier par utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin-ciocalteu. Le caractère réducteur des composés phénoliques et leur complexation possible avec les métaux lourds conduisent dans ce cas à la formation de complexes colorés bleus que l'on peut alors doser par colorimétrie vers 720nm (Jean-Jacques.M et al.,2005).

II.4.1.2.Mode opératoire

Le protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la (Figure 7).

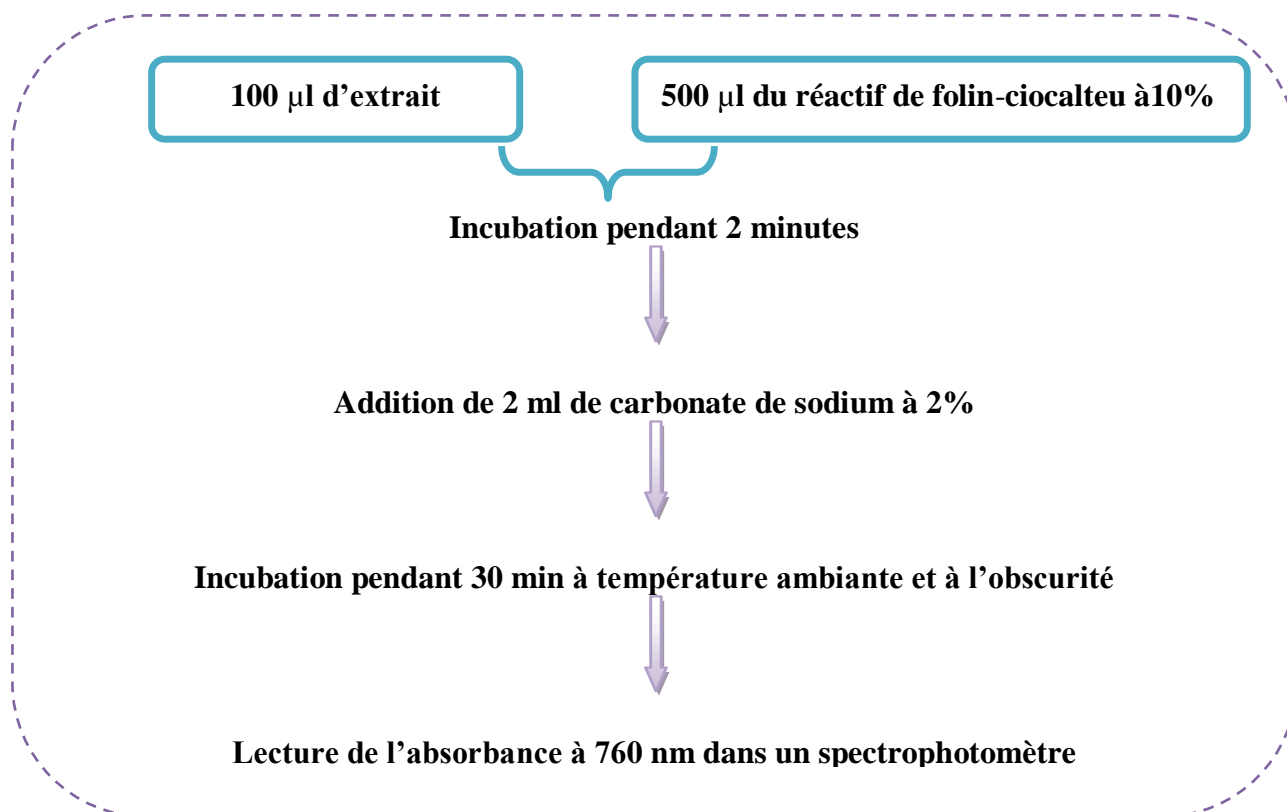


Figure 7 : Protocole de dosage des composés phénoliques.

Le blanc est aussi préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait par l'eau distillée.

II.4.1.3.Expression des résultats

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions à différentes concentrations d'acide gallique dans l'eau distillée. **(Figure 8)**

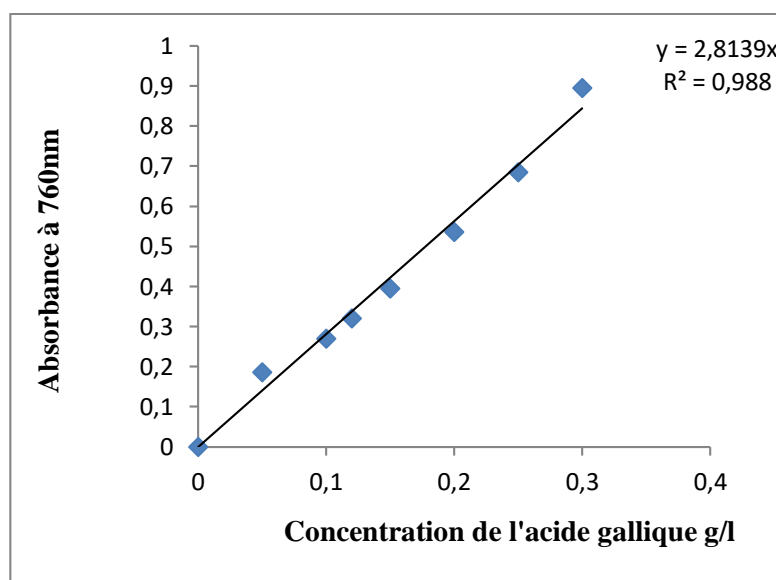


Figure 8 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent en acide gallique par un gramme de matière sèche (mg EAG/1 g MS).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage a été réalisé sur l'extrait de dichlorométhane, d'acétate d'éthyle, méthanol et éthanol de *Ruta tuberculata* L dans les mêmes conditions.

II.4.2.1. Principe

La quantification des flavonoïdes des différents extraits a été effectuée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$.

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavons et flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho du cycle A ou B des flavonoïdes (Benarouss., 2010) ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 430nm.

II.4.2.2. Mode opératoire

Le protocole utilisé de dosage des flavonoïdes est schématisé dans la (Figure 9).

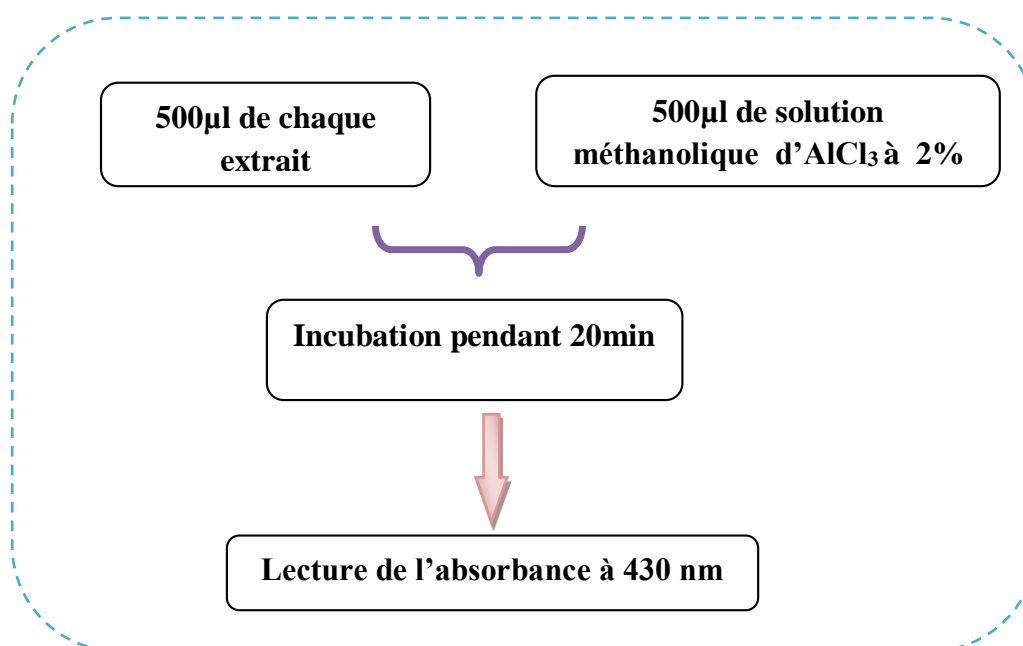


Figure 9 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Le blanc est aussi préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait par le méthanol.

II.4.2.3.Expression des résultats

Les concentrations en flavonoïdes des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions à différentes concentrations de quercétine dans le méthanol (**Figure 10**)

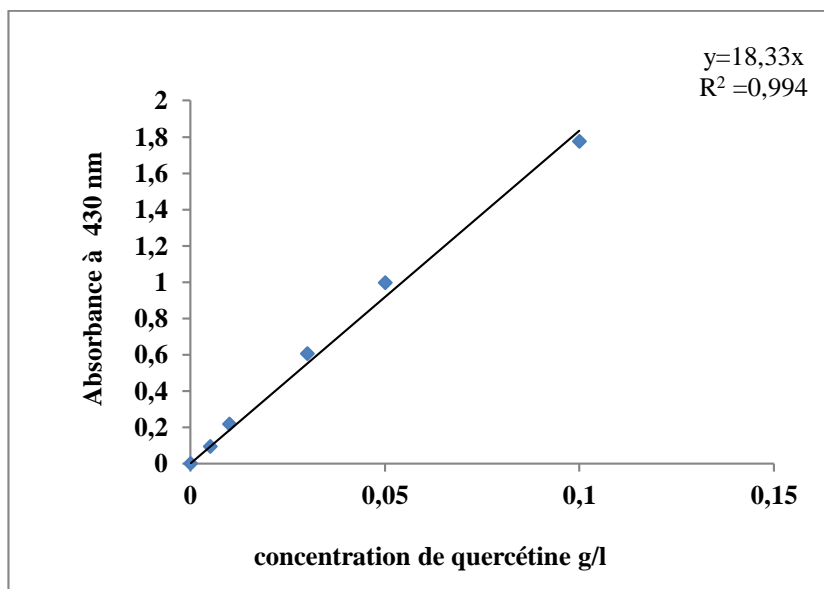


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de la quercétine en par un gramme de matière sèche (mg EQ/1 g MS).

II.5.Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des différents extraits de *Ruta tuberculata* L ont été testés par le test DPPH et le pouvoir réducteur FRAP.

II.5.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

II.5.1.1. Principe

Le Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre de couleur violette qui absorbe la lumière polarisée à une longueur d'onde maximale qui peut aller de 515 nm (Bondet .V et al 1997 ;Gomez –Alonso .S et al . , 2003) à 520nm (Molyneux P ., 2004) il est utilisé dans le but d'estimer l'activité antioxydante d'une substance quelconque .

II.5.1.2.Mode opératoire

Le protocole expérimental utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la (Figure 11)

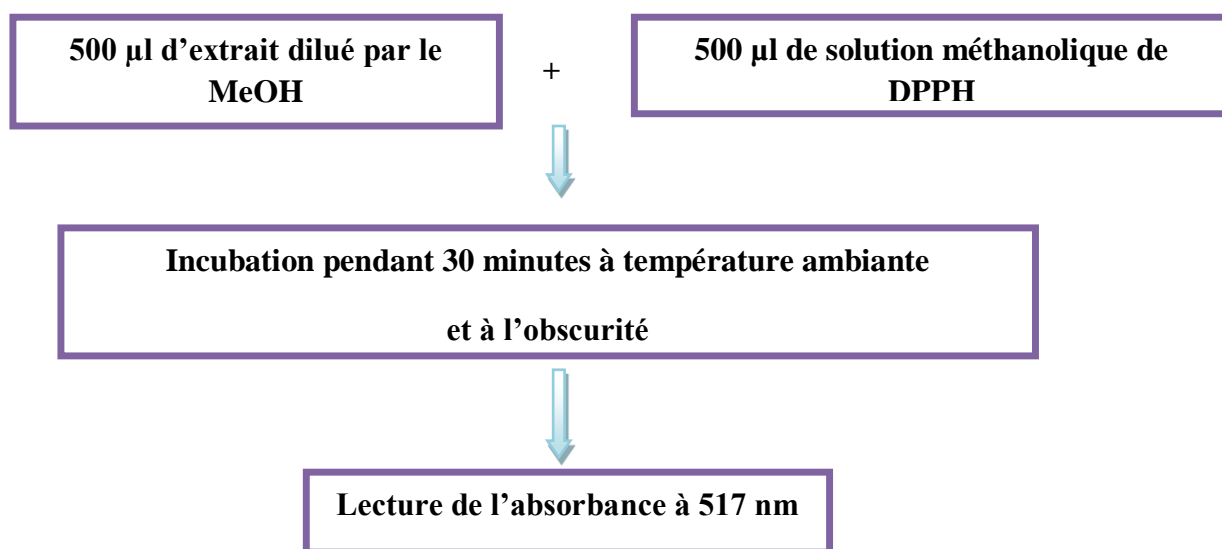


Figure 11 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Ruta tuberculata* L par la méthode de DPPH

II.5.1.3.Expression des résultats

Chapitre II : Matériel et Méthodes

L'activité anti-radicalaire ou le pourcentage de DPPH a été exprimée par IC₅₀, qui est la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH 50% de l'inhibition, l'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation

$$\text{PI}\% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Où :

Abs contrôle : absorbance du blanc qui contient tous les réactifs sauf le composé à tester.

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon, qui contient les réactifs et le composé à tester.

PI% : pourcentage inhibition.

Les résultats de test « DPPH » sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues des deux essais \pm l'écart type.

L'acide gallique, l'acide ascorbique (V_c) et la quercétine sont utilisés comme des standards.

II.5.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

II.5.2.1.Principe

A faible PH ; réduction d'un complexe de ferrique de la tripyridyl-s-triazine [Fe (III) - (TPTZ)] à la forme ferreuse, qui a une couleur bleu intense, peut être surveillé par mesurer le changement d'absorption à 593 nm (**Benzie et Strain ., 1999**).

II.5.2.2. Protocole de préparation du réactif FRAP :

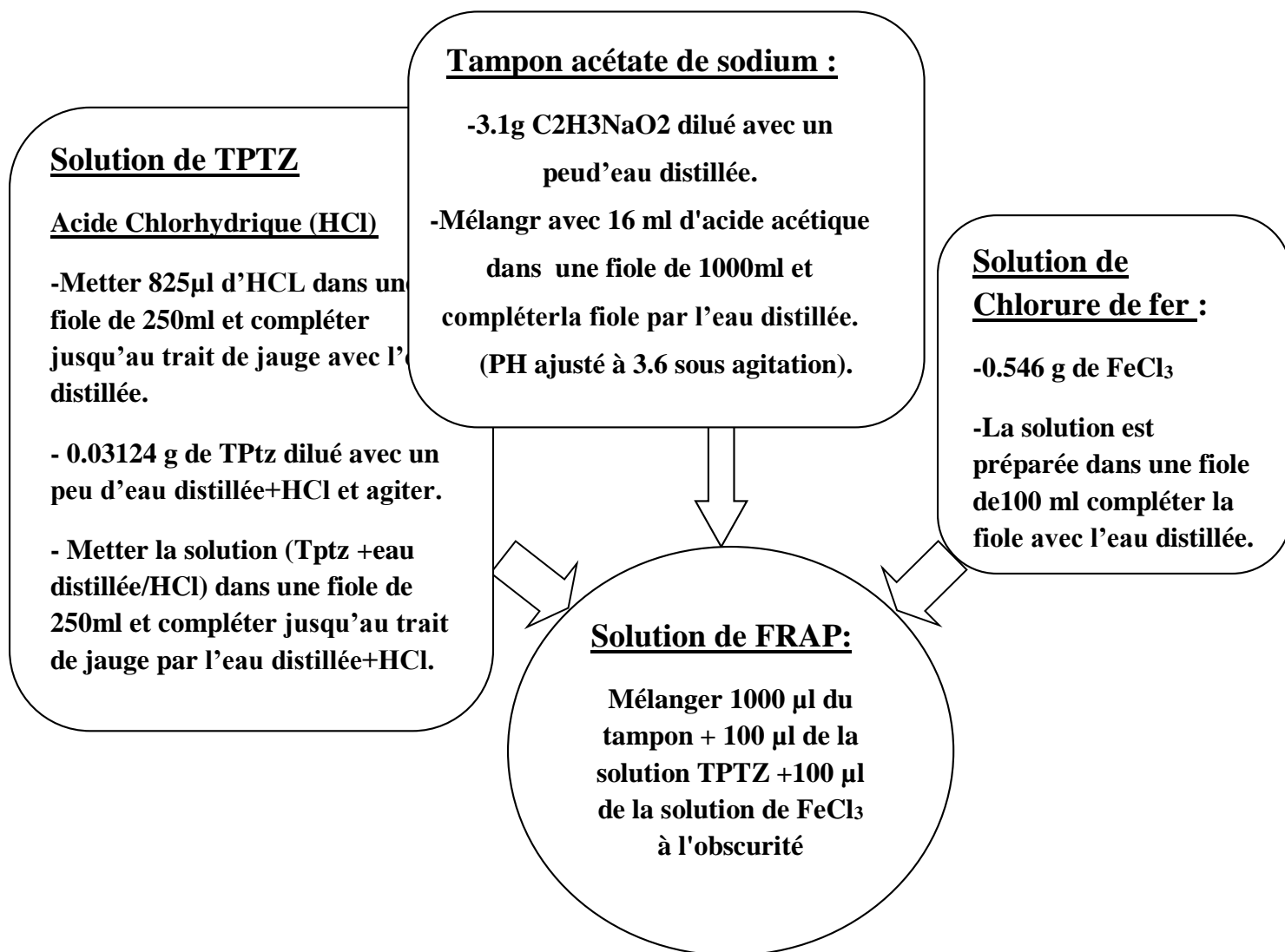


Figure12 : Protocole de préparation de solution FRAP.

II.5.2. 3. Mode opératoire

Le protocole utilisé afin de déterminer le pouvoir réducteur des différents extraits de *Ruta tuberculata* L est schématisé dans la (Figure 13).

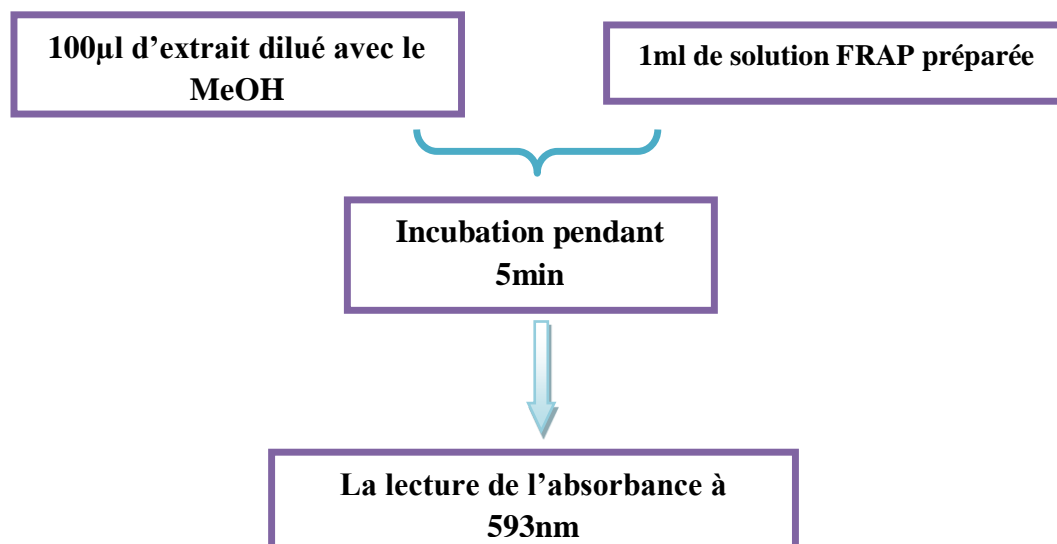


Figure13 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Ruta tuberculata* L

II.5.2.4. Expression des résultats

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction du fer. L'acide gallique, acide ascorbique (V_c) et la quercétine sont utilisés comme des standards.

Les résultats de test « FRAP » sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues des deux essais \pm l'écart type.

Chapitre III

Résultats

et

Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Analyses des extraits

III.1.1. Préparation des extraits

Après la dépigmentation et délipidation d'une gramme de matière sèche de *Ruta tuberculata* L par l'hexane ; l'extraction des principes actifs des plantes étudiées, a été effectuée par une série de solvant à polarité croissante à savoir : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et le méthanol successivement.

L'aspect et les couleurs de chaque extrait brut sont consignés dans le (**Tableau IV**).

Tableau IV : Aspects et couleurs des extraits de *Ruta tuberculata* L

Solvant organique	Aspect	Couleur
Dichlorométhane	Visqueux	Vert foncé
Acétate d'éthyle	Visqueux	Vert
Ethanol	Poudreux	Vert claire
Méthanol	Poudreux	Vert jaunâtre

D'après le (**Tableau IV**) ; on observe que les extraits de dichlorométhane et de l'acétate d'éthyle de *Ruta tuberculata* L ont montré des aspects visqueux, et poudreux pour l'extrait éthanolique et méthanolique avec de différentes couleurs variant du vert foncé à vert jaunâtre.

III.1.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction de chaque extrait brut sont représentés dans la (**Figure 14**).

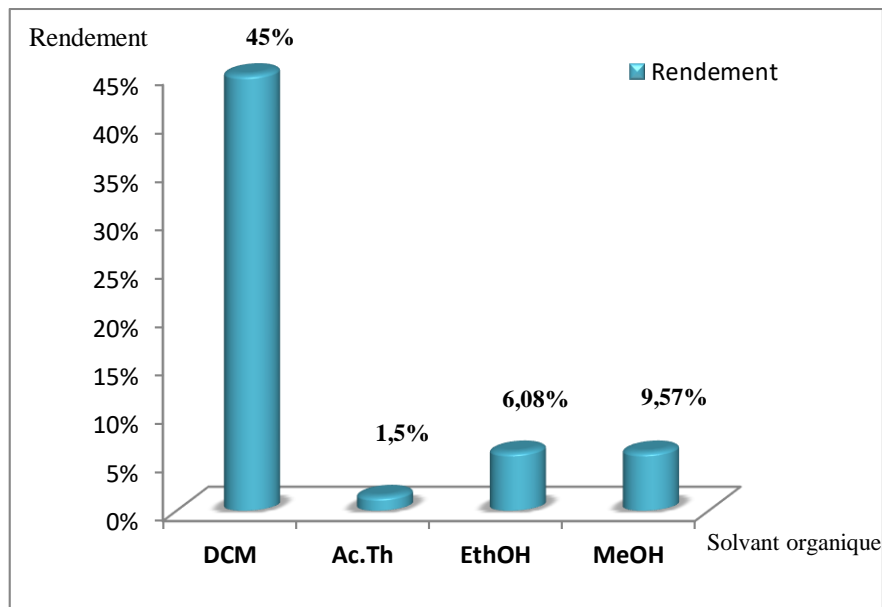


Figure 14 : Rendement d'extraction d'extrait de dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol de la plante *Ruta tuberculata* L.

Les extraits ont enregistré des valeurs de teneurs d'extraction différentes d'un extrait à l'autre allant de 1,5% pour l'extrait acétate d'éthyle et 45% pour l'extrait de dichlorométhane.

Si on compare les teneurs d'extraction entre les différents solvants d'extraction utilisés dans cette étude, on remarque une forte variation d'un solvant à un autre ; l'extrait de dichlorométhane présente la teneur la plus élevée 45%, suivi par les extraits méthanoliques et éthanol (9,57% et 6,08% successivement), alors que la plus faible valeur a été retrouvée chez l'extrait acétate d'éthyle avec un rendement égal à 1,5%.

Cette différence de teneur entre les différents solvants organiques peut être expliquée par des caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés et notamment leur polarité, il s'ensuit que la solubilité des substances contenues dans la matière végétale dépend de ces propriétés,%. Et que pour la teneur enregistrée pour l'extraction par solvant éthanol est supérieure à celle enregistrée pour l'extraction de solvant d'acétate éthyle, Ceci est peut être attribuée à la forte capacité de dissolution des solvants polaires ce qui fournit une liaison forte entre les molécules de ces solvants et des composés polaires du soluté, provoquant leur dissolution. (Rabhi ;Bougherouat , 2017)

Des études *in vitro* réalisées par (**Rabhi et Bougherouat., 2017**) sur l'activité inhibitrice sur l' α – amylase des extraits de quelques plantes locales.

Parmi lesquelles *Ruta tuberculata* L récoltée de la même région Laghouat et ayant utilisé la même procédure d'extraction par solvant à polarité croissante ont montré des teneurs différentes sauf pour l'extrait éthanolique qui est presque similaire (5,8%).

Chaibeddra(2014) ont obtenu un rendement d'extrait méthanolique de *Ruta tuberculata forsk* de **12%** et le double pour *Rutamontana*L≈**24%**

Des rendements d'extraction nettement plus élevés par rapport à ceux obtenus dans notre étude de 16,7 et 17,057% d'une variété cultivée et autre sauvage respectivement de *Ruta chalepensis* L utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction (**Gali et al, 2014**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Hamia et al.,2001**).

III.2.Dosage

III.2.1.Dosage des composées phénoliques totales

Avant l'étude de l'activité oxydante, nous avons effectué un dosage des phénols totaux sur les différents extraits préparés. Les teneurs en polyphénols totaux sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique mg/ml. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent d'acide gallique. Les concentrations des polyphénols totaux obtenues sont présentées dans le (**Tableau V**).

Tableau V : Teneurs en phénols totaux des extraits bruts de la plante étudiée.

Extrait brut	Phénols Totaux (mg EAG /g MS)
Dichlorométhane	3,344±0,426
Ac-Eth	non déterminé
Ethanol	3,19101± 0,119
Méthanol	3,90139± 0,367

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les valeurs sont la moyenne de trois mesures \pm Ecart type.

mg EAG/g MS : milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière sèche

L'évaluation du contenu en composés phénoliques de la plante étudiée nous a permis de déduire la concentration de ces métabolites pour chaque extrait, d'après la synthèse des résultats obtenus, on constate que les teneurs en phénols totaux ont varié entre $3,19101 \pm 0,119$ et $3,90139 \pm 0,367$ mg EAG/g MS. L'extrait brut de méthanol de la plante a enregistré la teneur la plus élevée : $3,901 \pm 0,048$ mg EAG / g de MS alors que l'extrait dichlorométhane et éthanol ont dévoilé presque les mêmes teneurs.

Rabhi et Bougherouat (2017) ont prouvé que l'extrait éthanolique de *Ruta tuberculata* L représente une teneur de polyphénols $1,31 \pm 0,40$ mgEAG /g de matière sèche et $0,93 \pm 0,07$ mgEAG /g pour l'extrait méthanoïque et de $0,30 \pm 0,00$ mgEAG /g pour l'extraction par le dichlorométhane, celles-ci sont inférieurs que celles rapportées par notre étude. **Bensaci et Khathir (2016)** ont également noté des teneurs en polyphénols plus élevées que notre résultats ,ces quantités allant de 230 ± 23 à 217 ± 13 mg EGA/g de MS, respectivement pour les extraits hydroéthanolique et hydrométhanolique (70%) de la partie aérienne de *Ruta tuberculata* L .

Selon **Bourgou et al (2016)**, l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs.

Des travaux similaires par **Chaibeddra (2014)** ont rapporté que l'extrait éthanolique de *Ruta tuberculata* forsk représente une teneur de polyphénols plus élevée aussi de $20,36 \pm 0,48$ μ g EAG/mg et de $26,62 \pm 1,93$ μ g EAG/mg pour *Ruta montana* L. Ainsi, **Gali et al (2014)** ont été rapporté que l'éthanol donne des valeurs de $65,34 \pm 2,73$ et $72,085 \pm 1,94$ mg EAG / g de MS pour une variété cultivée et autre sauvage de *Ruta chalepensis* L respectivement.

Malgré que le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols ; il réagit aussi avec les acides aminés tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (**Boizot et Charpentier .,2006**)

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.2.2. Dosage des flavonoïdes

Une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits de *Ruta tuberculata* L après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés.

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine mg/ml la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des flavonoïdes correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent de quercétine. Les résultats du dosage des flavonoïdes en mg EQ/ g MS sont présentés dans le (Tableau VI).

Tableau VI : Teneurs en flavonoïdes des extraits bruts de la plante étudiée

Extrait brut	Flavonoïdes (mg EQ /g MS)
Dichlorométhane	4,656±0,363
Ac-Eth	non déterminé
Ethanol	4,731± 0,379
Méthanol	3,669± 0,374

Les valeurs sont la moyenne de trois mesures ± Ecart type.

mg EAG/g MS : milligramme d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche

D'après la synthèse des résultats obtenus pour la quantification des flavonoïdes, on constate que les teneurs en flavonoïde ont varié entre 3,669± 0,374 et 4,731± 0,379 mg EQ/g MS. L'extrait d'éthanol de la plante a enregistré les teneurs les plus élevées en flavonoïdes d'environ 4,731± 0,379 mg GAE / g de MS.

D'après **Rabhi et Bougherouat, (2017)** ont prouvé que l'extrait méthanolique de *Ruta tuberculata* L représente une teneur en polyphénols de 0,51±0,34 mg/g de matière sèche et 0,15±0,05 mg/g pour l'extrait éthanolique et de 0,05±0,01 mg/g pour l'extraction par le dichlorométhane. **Bensaci et Khadir (2016)**, ont montré une variation des teneurs en flavonoïdes de *Ruta tuberculata* L pour les deux solvants méthanol et éthanol (70 %) de 59 ± 1,88 et 57 ± 2,30 mg ER/g de MS respectivement.

Des travaux similaires par Chaibeddra (2014) ont rapporté que l'extrait éthanolique de *Ruta tuberculata* forsk représente une teneur en flavonoïdes de 19,97± 0,34 µg EAG/mg et de 44,54±1,4 µg EAG/mg pour l'espèce *Ruta montana* L.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Nous avons observé que les teneurs en flavonoïde sont plus élevées que celles des polyphénols totaux, nous pouvons expliquer ces résultats par des erreurs de manipulation au niveau de laboratoire.

On constate que la différence de teneur entre les extraits peut être expliquée par le changement de la distribution des métabolites secondaires pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, ex position solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les poly phénols .La teneur phénolique d 'une plante dépend aussi d 'un certain nombre de facteurs tels que, le moment de la récolte, le solvant d'extraction , les conditions de stockage (Athamena. ,2009)

III.3.Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *Ruta tuberculata* La été évaluée par deux méthodes : le test du DPPH et la mesure du pouvoir réducteur (test FRAP).

III.3.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl- 1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante des différents extraits de *Ruta tuberculata* L vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement et après 30 min d'incubation de la solution (DPPH-extrait) la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violet à la couleur jaune mesurable à 517 nm (Allouni . ,2018).

Les résultats du pouvoir anti-radicalaire par le DPPH des différents extraits de *Ruta tuberculata* L sont rassemblés dans les figures (18- 19-20-21) et le tableau VII.

Les figures (15-16-17), représentent les profils de l'activité anti-radicalaire DPPH des standards (Acide ascorbique, Acide gallique, quercétine) proportionnels à des concentrations.

Nos résultats sont exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ruta tuberculata* L ont été fait en comparaison avec les standards antioxydants.

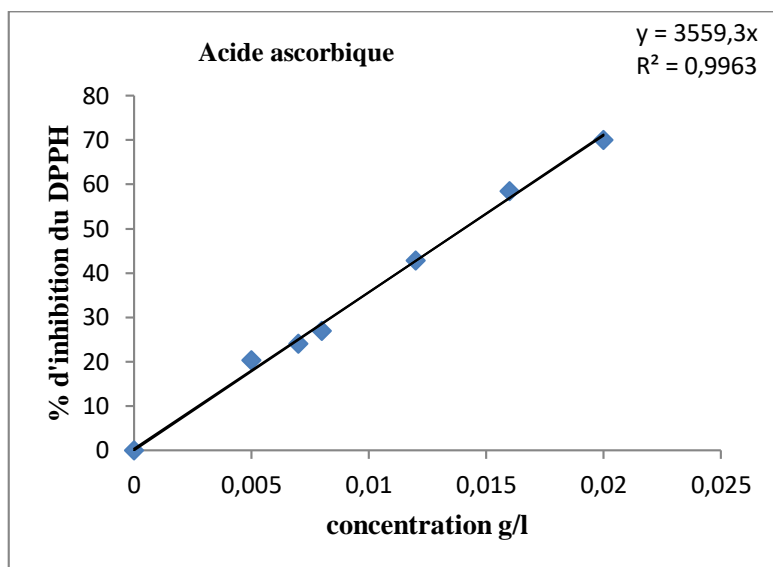


Figure 15 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard acide ascorbique en fonction de concentration.

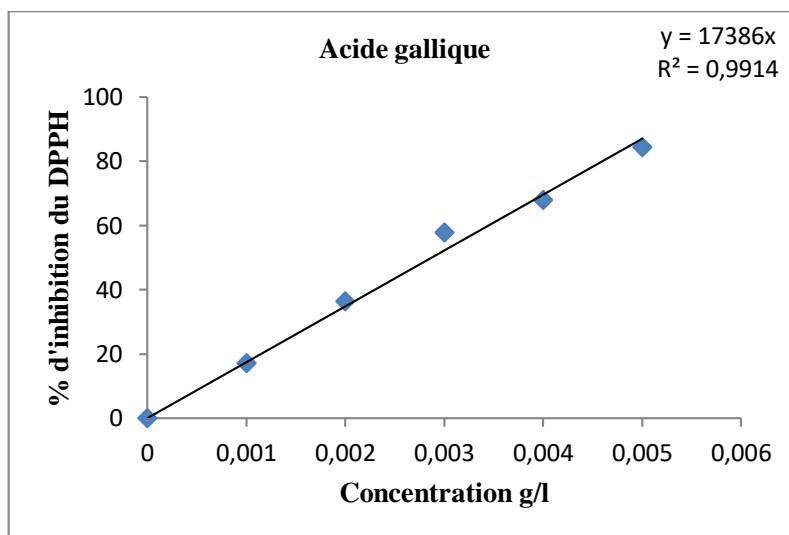


Figure 16 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard acide gallique en fonction de concentration

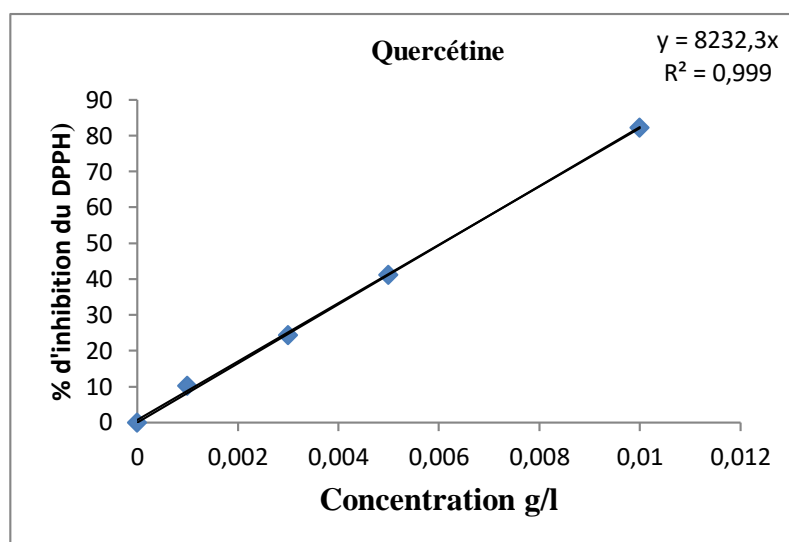


Figure17 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de standard quercétine en fonction de concentration.

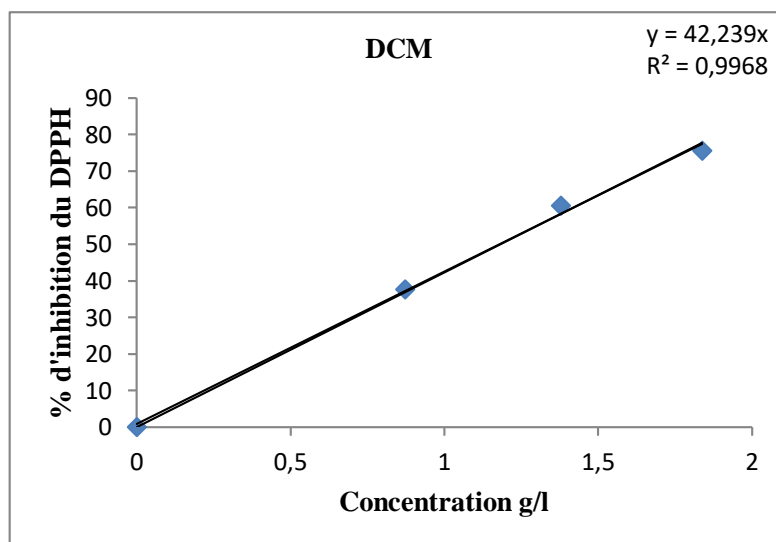


Figure 18 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait de dichlorométhane en fonction de concentration

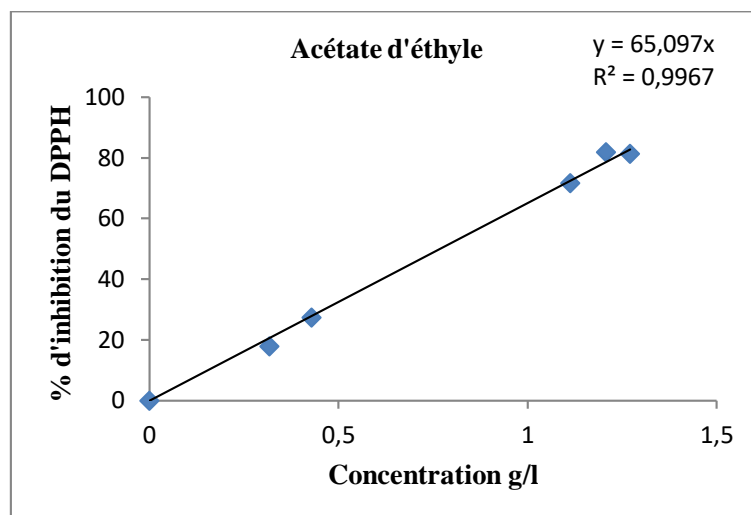


Figure 19 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait acétate d'éthyle en fonction de concentration.

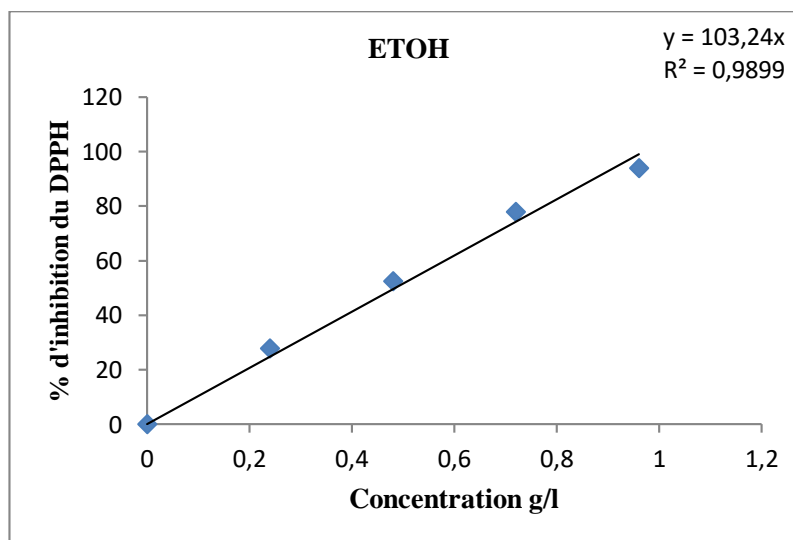


Figure 20 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait éthanolique en fonction des concentrations.

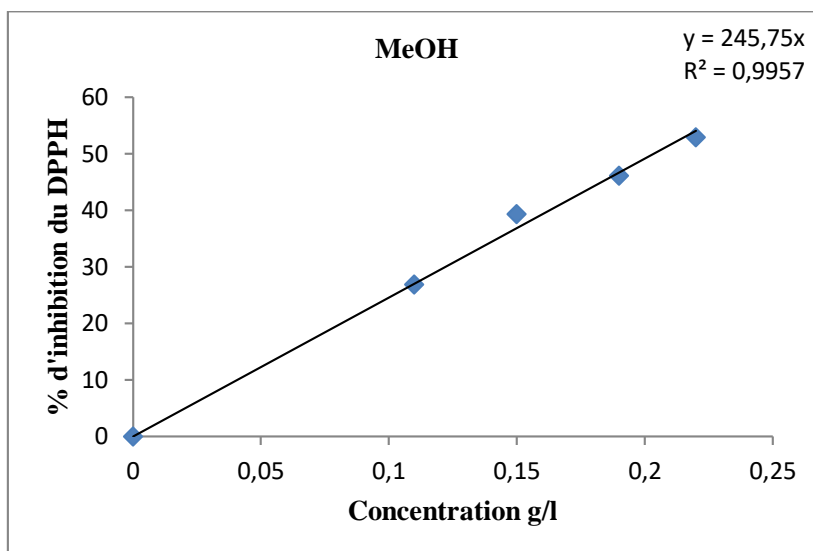


Figure 21 : Evaluation de pouvoir anti-radicalaire DPPH de l'extrait méthanolique en fonction de concentration.

Les pourcentages d'inhibition des standards ont des valeurs presque proches ($84,27 \pm 0,0018\%$) pour l'acide gallique à concentration de 0,005 g/l et ($82,24 \pm 0,003\%$) pour la quercétine à concentration de 0,01g/l et ($70,06 \pm 0,006\%$) pour l'acide ascorbique à concentration de 0,02 g/l. L'extrait méthanolique montre l'activité anti-radicalaire la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition 53,23% à concentration faible 0,22 g/l.

L'activité scavenger du radical DPPH° exprimée en termes d'IC₅₀ donne les résultats présentés dans le (**Tableau VII**).

L'activité anti-radicalaire ou le pourcentage de DPPH a été exprimée par IC₅₀, Plus l'IC₅₀ est faible plus l'extrait ou le composé est efficace (**Ammoret al ., 2019**).

Tableau VII : Valeurs d'IC₅₀ des extraits et des standards obtenues avec le DPPH

Extrait	IC ₅₀ (g/l)
Dichlorométhane	1,183 ± 0,025
Acétate d'éthyle	0,768 ± 0,028
Méthanol	0,203 ± 0,0007
Ethanol	0,484 ± 0,028
Acide gallique	0,0028 ± 0,00006
Quercétine	0,006 ± 0,000141
Acide ascorbique	0,014 ± 0,0036

D'après le tableau VII, les standards les plus efficaces ce sont ceux qui possédant des IC₅₀ les plus faibles donc acide gallique exerce une activité scavenger vis-à-vis du DPPH° plus importante que les extraits correspondants avec 0.014 ± 0,0036g/l L'extrait méthanolique étant le plus puissant parmi les autres extraits (0,203 ± 0.0007 g/l).

Gali et al., (2014) ont obtenu que IC₅₀ d'extrait éthanolique d'une variété sauvage est de valeur 51,18 ± 1,14 µg/ml et de 79,54 ± 0,78 µg/ml d'une variété cultivée pour ses études sur la plante *Ruta chalepensis* L.

Bourebaba et Boulemred .,(2012) ont obtenu que IC₅₀ d' extrait éthanolique de la plante *Ruta chalepensis* est de valeur 59,58 µg/ml ,vingt fois supérieure à celle de l'acide gallique (2,63 µg/ml) .

III.3.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle, 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 (**Allouni., 2018**).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les figures (22-23-24) exprimant les profils de variation de l'absorbance en fonction de la concentration des extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Ruta tuberculata* L

Les figures (25-26-27), représentent les profils de variation de l'absorbance en fonction de la concentration des standards (Acide ascorbique, Quercétine, Acide gallique).

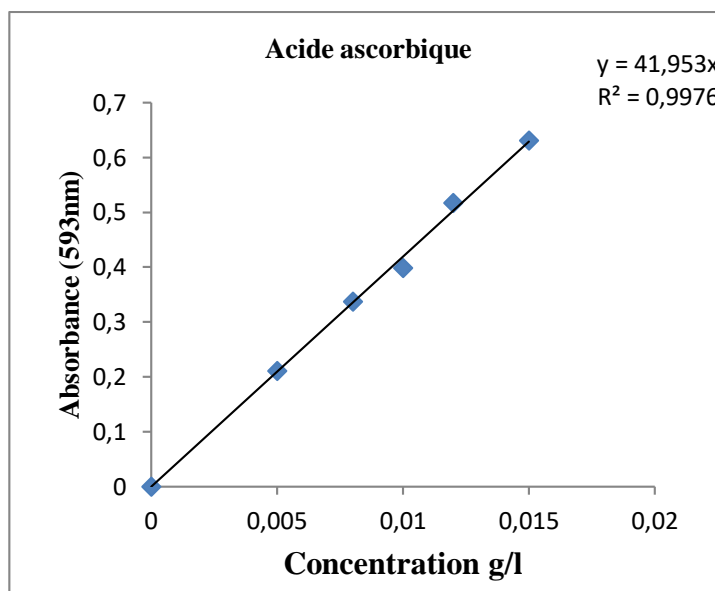


Figure 22 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique en fonction de la concentration.

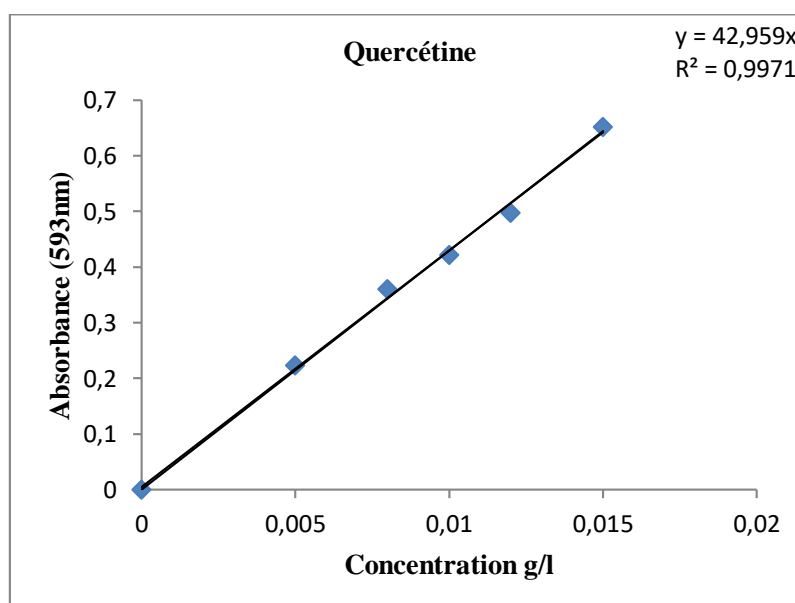


Figure 23 : Pouvoir réducteur de la quercétine en fonction de la concentration.

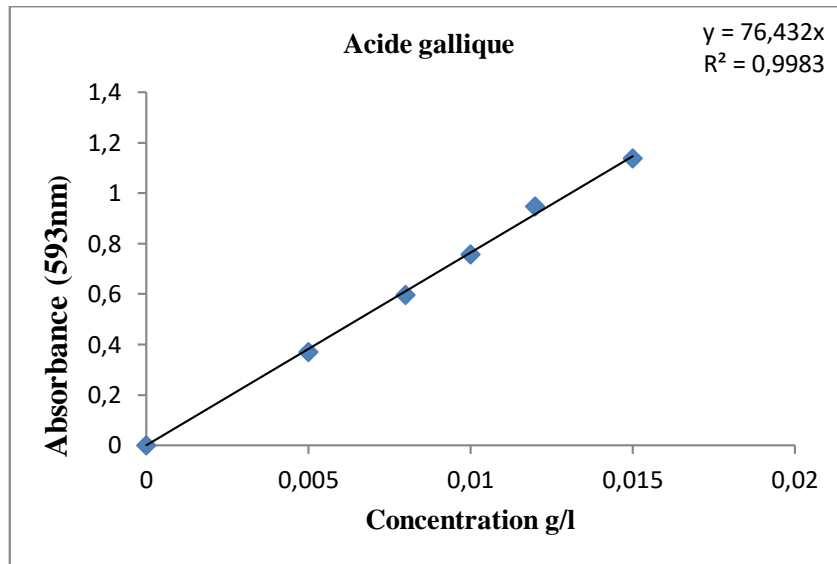


Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'acide gallique en fonction de la concentration

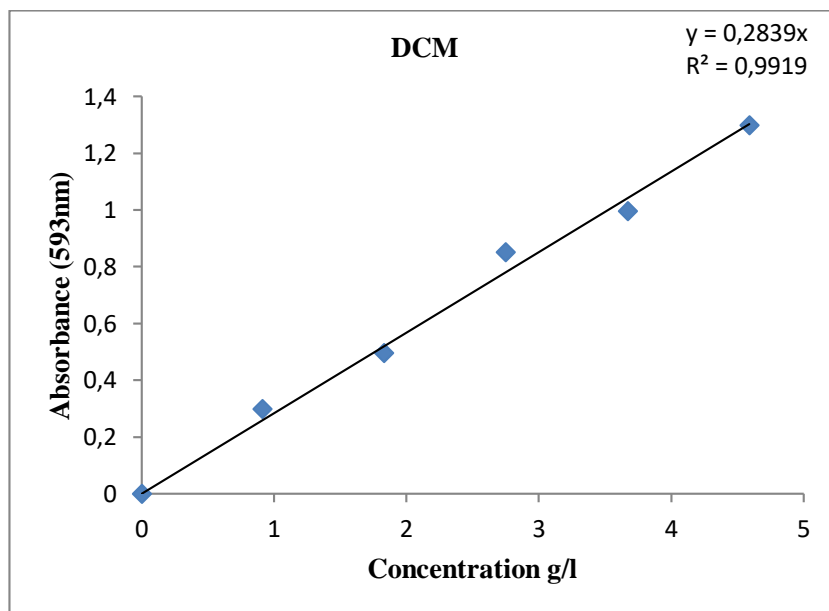


Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait de dichlorométhane de la plante

Ruta tuberculata Len fonction de la concentration

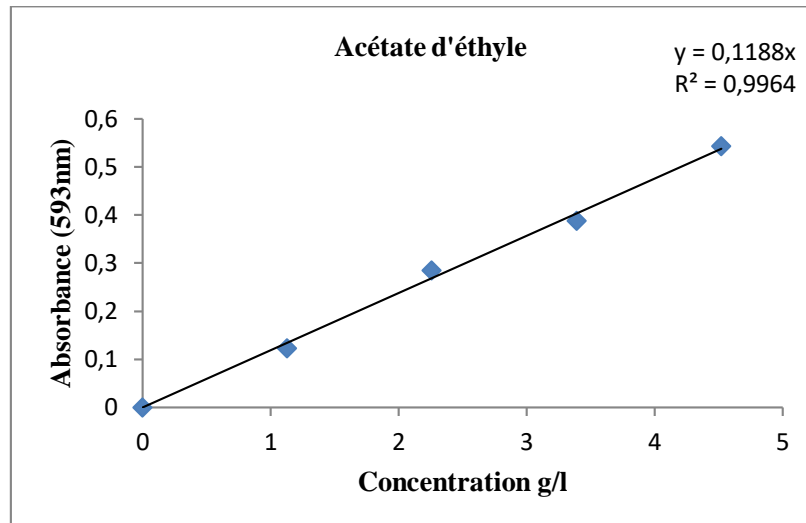


Figure 26 : Pouvoir réducteur de l'extrait de l'acétate d'éthyle de la plante *Ruta tuberculata* Len fonction de la concentration

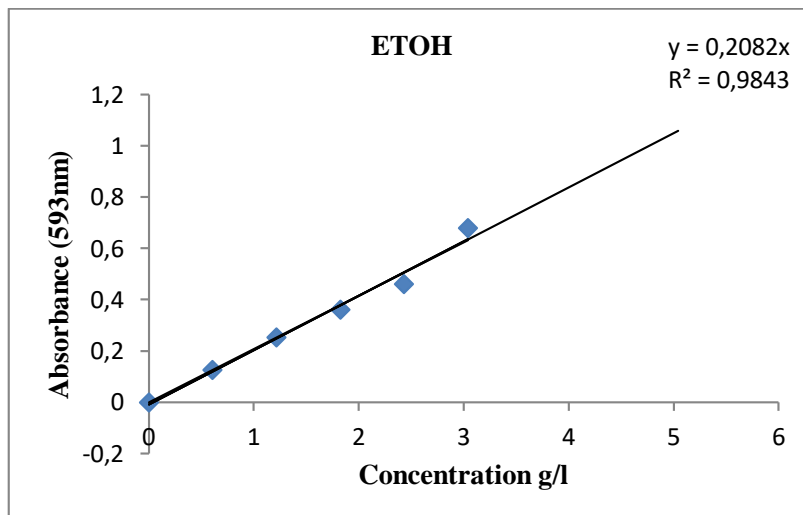


Figure 27: Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de la plante *Ruta tuberculata* Len fonction de la concentration.

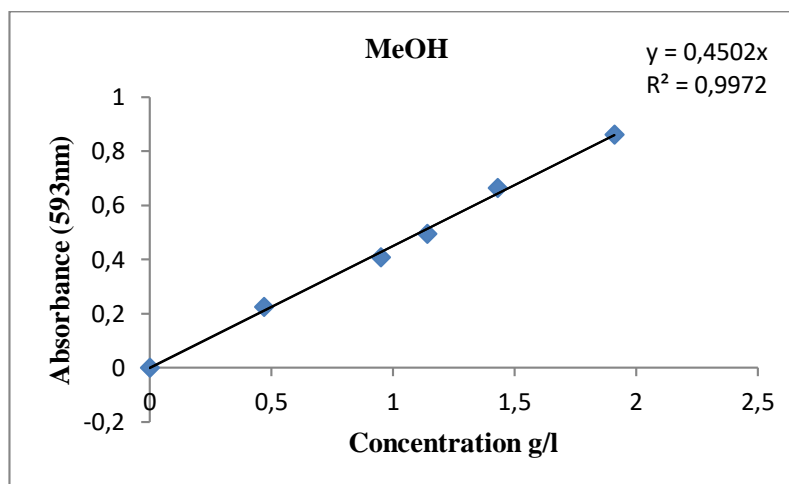


Figure 28 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de la plante *Ruta tuberculata* L en fonction de la concentration.

D'après ces résultats obtenus qui expriment la densité optique des extraits bruts de la partie aérienne de *Ruta tuberculata* L nous remarquons que l'extrait méthanolique présente une activité réductrice la plus puissante par rapport aux autres extraits avec une densité optique de 0,899nm à une concentration de 1,91 g/l ,suivis par l'extrait brut de dichlorométhane et l'extrait éthanolique avec des absorbances 0,996 nm et 0,68 nm respectivement à des concentrations 3,67 g/l et 3,04 g/l, et en dernier lieu l'extrait d'acétate d'éthyle avec une densité optique la plus faible 0,543 nm à concentration de 4,52 g/l .

D'après les graphiques précédents il existe une grande différence entre les témoins utilisés et les échantillons testés. En effet pour une concentration de 0,012 g/l, les absorbances données par les standards varient de 0,948 nm (acide gallique) à 0,517(acide ascorbique), alors que l'échantillon d'extrait méthanolique de *Ruta tuberculata* L a donné une absorbance de 0,899 à une concentration beaucoup plus élevée, soit 1,91g/l, et l'extrait d'acétate d'éthyle a montré une absorbance 0,543 nm à une concentration de 4,52 g/l.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Cette différence d'activité est probablement due au degré de pureté des échantillons utilisés, les standards étant des composés de synthèse purs et les échantillons des extraits bruts non purifiés. Selon **Bourebaba et Boulemred. ,(2012)** ,il est difficile d'établir une corrélation et d'obtenir un même résultat entre des composés purifiés et des extraits bruts , puisqu'il est possible d'avoir des interaction entre des différents composés de l'extraits (effet de synergie ou effet d'antagonisme) (**Allouni.,2018**)ont obtenu que l'extrait méthanolique des feuilles de *Ruta montana* L est généralement le plus actif avec une densité optique de 0,370 nm à une concentration de 300 µg/ml, suivis par l'extrait brut des graines avec une absorbance de 0,276 nm à 300 µg/ml.

L'étude menée par **Bourebaba et Boulemred. ,(2012)** a prouvé que l'extrait éthanolique de la plante *Ruta chalepensis* a donné une absorbance de 0,165 nm à une concentration de 100 µg/ml .

L'activité antioxydante de nos extraits évaluée par ce test a été exprimée en utilisant le paramètre V_{cEAC} : qui représente l'activité antioxydante en équivalent de l'acide ascorbique (Vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity), les résultats obtenus sont représentés dans le (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Activité antioxydante des différents extraits de plante étudiée par le test FRAP.

Extrait	V_{cEAC}
DCM	0,0066±7,07107E-05
Ac –Eth	0,0027±0,00014
EtOH	0,0049±0,00042
MtOH	0,0107±0,00070
Ac.gallique	1,820±0,02404
Quercétine	1,0230±0.01131

Chapitre III : Résultats et Discussion

Le potentiel réducteur observé dans ce test se classe dans l'ordre suivant :

Ac . gallique>Quercétine>MeOH>DCM >EthOH>Ac-Eth

Tous les extraits montrent une activité à réduire le fer ; la capacité la plus élevée est observée dans l'extrait méthanolique (**0,0107±0,00070** mg/g V_CEAC) ce qui indique une bonne activité ; l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité la plus faible (**0,0027±0,00014**mg/g V_CEAC) sachant que le rendement de cet extrait est très faible aussi. Pour les autres extraits les valeurs de V_CEAC sont comprises entre (**0,0066** et **0,0027**mg / V_CEAC).

La capacité antioxydante des extraits de plante sont largement dépendant de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests in vitro. (**Allouni.,2018**).

Nous constatons que la fraction méthanolique présente une meilleure activité antioxydante par rapport aux autres extraits ce qui l'a confirmé par le test DPPH, l'évaluation de l'activité est donc nécessairement réalisée par au moins deux méthodes différentes.

Conclusion

Conclusion

Plusieurs études montrent que les plantes médicinales ont des activités biologiques très variables soit à partir des composés isolés ou des extraits de la plante afin de justifier ses multiples utilisations ou pour le but de chercher de nouvelle source des substances naturelles..

Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts de la plante *Ruta tuberculata* L afin de rechercher des antioxydants naturels en évaluant les propriétés anti oxydantes des poly phénols de la partie aérienne de la plante.

Le rendement d'extraction de la plante le plus élevé est marqué dans l'extrait de dichlorométhane (45%) après l'extrait méthanolique (9.57%) l'extrait éthanolique (6.08%) et acétate d'éthyle (1.5%).

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que l'extrait méthanolique contient la teneur la plus élevée en polyphénols totaux $3,901 \pm 0,367$ mg /g puis extraits bruts d'éthanol $3,191 \pm 0,119$ mg/g puis l'extrait de dichlorométhane avec une teneur de $3,344 \pm 0,426$ mg EAG /g de MS.

Le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ a révélé que l'extrait éthanolique qui a les teneurs les plus élevée en flavonoïde dans $4,731 \pm 0,379$ mg/g et $3,669 \pm 0,374$ mg/g pour l'extrait brut de dichlorométhane puis l'extrait brut de méthanol e avec une teneur de $3,669 \pm 0,363$ mg EQ/g de MS.

La mesure de l'activité antioxydante effectuée par le test du DPPH et le pouvoir réducteur FRAP, a montré que l'extrait méthanolique est le plus efficace avec une IC_{50} de $0,203 \pm 0,0007$ g/l avec le DPPH, et cela est aussi confirmé par le test de FRAP avec une valeur de $0,0107 \pm 0,0007$ mg/g $V_C EAC$ et IC_{50} de valeur $0,484 \pm 0,0028$ g/l pour l'extrait éthanolique, IC_{50} de valeur à $0,768 \pm 0,028$ g/l pour l'extrait d'acétate d'éthyle et pour l'extrait dichlorométhane une IC_{50} de $1,183 \pm 0,0025$ g/l .

D'après les résultats du présent travail, *Ruta tuberculata* L exerce une activité antioxydante considérable ce qui explique son utilisation traditionnelle pour le traitement de certaines maladies.

Un travail complémentaire s'impose afin d'évaluer et tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur différents modèles biologiques en vue de les utiliser à des fins thérapeutiques, il est même possible ,de développer la culture végétale de cette plante en utilisant des techniques sophistiquées pour améliorer la quantité de ces métabolites

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- ✚ **Allouni.R** .Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana* .Université Ferhat Abbas Sétif 1. Thèse de Doctorat. P 62 -66-68.

- ✚ **Ammor.Ket et al ,(2019)**. Study of antioxidant, anti-inflammatory, Antinociceptive Activities and Toxicity of *Stigmata* of *Zeamays* Extract .Lavoisier SAS .P03.

- ✚ **Athamena.S ,(2009)** . Etude quantitative flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus Officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Université El-Hadjaj Lakhdar-Batna. Thèse de Magister, P59.

- ✚ **Baba Aissa .F,(2011)** .Encyclopédie des plantes utiles El Maarifa, Alger,P 320 .

- ✚ **Benarous .K .,(2010)** .Evaluation de l'activité antioxydante et étude des effets inhibiteurs des extraits phénoliques saponines et alcaloïdes sur la lipase de *Candida rugosa* ,Université de Amar Telidji –Laghouat .Mémoire de Magister ,P 17-20

- ✚ **Bensaci.S et Khathir .A ,(2016)** . Contribution à l'étude de la vertu thérapeutique des extraits de quelques plantes utilisées dans la médecine populaire de la région d'Ouargla. Université Kasdi-Merbeh –Ouargla .Thèse de master,P16 -29-30.

- ✚ **Bensakhria .A, (2018)** .Le Stress Oxydatif .Chapitre IX, dans Toxicologie Générale P70-86

- ✚ **Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1999)**. Ferric-reducing (antioxidant) power as a measure of antioxidant capacity: the FRAP assay, *Methods Enzymol.*, 299, 15-36.

- ✚ **Boizot .N et Charpentier.J , (2006)** .Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier .Le Cahier des Techniques de l'Inra,P80

Références Bibliographiques

- ✚ **Bondet V ., Brand-Williams W ., Berset C ., (1997)** kinetics and Mechanisms of Antioxydant Activity using the DPPH Free Radical Method .Lebensm .-Wiss .U.Technol,30 .609-615 .

- ✚ **Bourebaba L et Boulemred .Z ,(2012) .**Activité antioxydante des polyphénols et de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* .Université Abderrahmane-Mira Bejaia .P 37 ,40 ,41.

- ✚ **Bourgou .S.et al, (2016) .** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia .Journal of new sciences ,P1653

- ✚ **Chaibeddra.Z ,(2014) .** Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk.: Point de vue phytochimique et pharmacologique . Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi, .Thèse de magister .P 36- 53-54 .

- ✚ **Cherma A., Djebar M. R., (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien : distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. Revue Synthèse, 17 : 43.

- ✚ **Feknous .S et al ,(2014) .**Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) .Nature & Technologie .P09

- ✚ **Fontaine.J et al (2007).** Testing ecological and behavioral correlates of nest predation.P1893

- ✚ **Gali .L, (2014).**Activités antioxydants et antimicrobienne des extraits de deux variétés de *Ruta chalepensis* L. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.Thèse de magister .P42-49-53

- ✚ **Gomez-Alansos .,Fregapane G ., Salvador M.D ., Gordon M.H . ,(2003) .**Changes in phenolic composition and antioxydant activity of Virgin olive during frying .Journal of Agriculture and Food Chemistry ,51 ,667-672.

Références Bibliographiques

- ✚ **Griffiths.HR,Moller.L,Bartoz.G ,Bast.A,et al (2002)** ;Biomakers.Molecular Aspects of Medicine ;101-208.

- ✚ **Guillouty.A,(2016).**Plantes médicinales et antioxydants . Université Toulouse paulsabatier .Thèse de doctorat P14-27
- ✚ **Hamia .S etal ,(2014)** . Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanteriumadpressium* . Vol. 6, N°1 .P 35- 36

- ✚ **Hamma.S.,(2016).**Biologie des espèces réactives, stress oxydatif et diabète de type2.éditions universitaires européennes.P 33- 48-52.

- ✚ **Hannebelle .Tetal . ,(2004)** Les polyphenols végétaux sources,utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.
- ✚ **Jean.B,(2009)** .Pharmacognosie . 4ème Edition .P 273-274.

- ✚ **Jean-Jacques.M ;Fleuriet .A ;Jay-Allemand.C ,(2005).**Les composés phénoliques des végétaux. EPFL-Centre Midi, CH-1015, Lausanne P :1- 2-11-12-13- 21.

- ✚ **Jacques.B et André.R,(2008).**Biochimie métabolique.2^{ème} édition.P257.

- ✚ **Jacques.B et Jean .M, (2010).**Larousse Des Arbres .2 ème Edition .563-573.

- ✚ **Jolle.G ,Alain.F(1997),**Radicaux libres oxygénés et antioxydants

- ✚ **Kasilo OMJ, Trapsida JM, Mwikisa CN, Lusamba-Dikassa PS(2010)** .An overview of the traditionalmedicine situation in the Africanregion. The Africanhealth monitor. 13 ,P 7.

- ✚ **Maxime .C,(2018)** .Aspects culturels et communautaires des médecines traditionnelles en Afrique et l' Ouest t en Asie du Sud –Est .Université Toulouse li Paul Sabatier .Thèse de doctorat .P17 .

Références Bibliographiques

- ✚ **Molyneux P. ,(2004).**The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxydant activity .Songklanakarin J .SCI .Technol .,26 ,211-219

- ✚ **Rabhi.B.et Bougherouat. A.,(2017)**Etude in vitro de l'activité inhibitrice sur l' α – amylase d'extraits de quelques plantes locales .Thèse de master. Université Amar Telidji – Laghouat, P 18 -20.

- ✚ **San.A ,Baya.G ,Pamplona.R ;Leeuwenburgh.C ; (2009)** .Free radicals and Mammalian Aging .In :Redox Signaling and Regulation in biologie and Medecine Weinheim :Wiley-VCH P 433-72.

- ✚ **Thomas.B ;(2010).**Plantes aromatiques médicinales .P06.

Références webographies

- ✚ **ChemDraw** (19.1)(2020)
- ✚ **Garcin.A (21 décembre 2019)** Consulté sur :
<https://www.teline.fr/fr/photos/rutaceae/haplophyllum-tuberculatum#photo-6>
- ✚ **Michelin(2020).**Carte plan Oued-Morra Laghouat-Algérie.[document cartographique].1 /1000000 à 1/200000.Cartes Consulté sur :
[https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte_plan-Ain_Chouhada-_Djelfa-Algerie.](https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte_plan-Ain_Chouhada-_Djelfa-Algerie)

Annexes

Annexe I : matériels et produits chimiques

1- Matériel du laboratoire :

- La verrerie : tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon, cuves, les embouts, éprouvette.
Autre : cuve, fiole jaugée (250 ml), spatule, micropipettes (fixe 1000 μ l ,500 μ l, variable 10-100 μ l), papier d'aluminium, papier filtre, tube à essais, portoir, barreau magnétique avec la tige, PH mètre.
- L'appareillage :
 - Balance de précision (KERN, Max 250g).
 - Balance (Scout- Pro, Max 600g).
 - Spectrophotomètre UV visible (JENWAY ,6405 UV/Vis).
 - Evaporateur rotatif.
 - Réfrigérateur.
 - Agitateur.

2. Préparation des solutions :

1-Préparation de solutions étalons :

Acide gallique ($C_m = 0,3$ g/l avec des dilutions :0,03 - 0,09 - 0,12 - 0,15 - 0,18 - 0,22 - 0,25 g/l).

Quercétine ($C_m = 0,05$ g/l avec des dilutions :0,005 - 0,01 - 0,02 - 0,03 - 0,04 g/l).

2-Test DPPH :

DPPH : ($C = 25 \cdot 10^{-5} M$, $V_{MeOH} = 100$ ml , $m = 0,0098$ g).

3-Les standards :

Acide gallique $C_{mI} = 0,1$ g/l , $C_f (H_2O_D) = 0,001 - 0,002 - 0,003 - 0,005 - 0,01$ g/l

Quercétine $C_{mI} = 0,1$ g/l , $C_f (MeOH) = 0,001 - 0,002 - 0,003 - 0,005 - 0,01$ g/l

Acide ascorbique (V_c) $C_{mI} = 0,1$ g/l , $C_f (MeOH) = 0,001 - 0,002 - 0,003 - 0,005 - 0,01$ g/l.

4-Dosage des phénols totaux :

Réactif de folin-ciocalteu FCR : à 10 % (H₂O_D)

Carbonate de sodium Na₂CO₃: à 2% (H₂O_D)

5- Dosage des flavonoïdes :

Trichlorure d'aluminium AlCl₃ : 2 % (MeOH)

Glossaire

Glossaire botanique

Espèce endémique : cela dit d'une espèce strictement localisée dans un territoire limité et généralement restreint. (Jacques.B et Jean .M, 2010)

Rutaceae : on reconnaît les plantes appartenant à cette famille aux points translucides qui marquent leurs feuilles, ils correspondent à des glandes sécrétrices produisant en abondance des essences d'odeurs vives. la famille regroupe des herbes, mais surtout des arbres et des arbustes aux fleurs généralement hermaphrodites et régulières, a 4 ou 5 sépales soudés entre eux ou libres, 4 ou 5 pétales libres, insérés à la base d'un disque charnu et glanduleux, drupacé ou coriace, à 4 ou 5 loges, soit composé de 4 ou 5 coques déhiscentes. (Jacques.B et Jean .M ,2010)

Glossaire médicale :

Apoptose : Mort cellulaire génétiquement programmée (suicide cellulaire). Ce mécanisme de mort cellulaire intervient dans la formation de l'embryon par élimination de certains tissus (pour façonner le cerveau, ou encore les doigts). Le dérèglement des programmes de suicide cellulaire pourrait jouer un rôle essentiel dans de nombreuses maladies, telles que les cancers, les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, de Creutzfeldt-Jakob), le sida.

Nécrose : est la mort et la décomposition des tissus dans une zone précise, en dehors de laquelle les tissus sont sains

الملخص :

يتمثل عملنا في تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات للجزء العلوي من نبات *Ruta tuberculata L* التي تم قطفها من منطقة واد مرة ولاية الأغواط في أبريل 2019.

تتمثل الخطوة الأولى في إستخلاص المركبات الفينولية عن طريق سلسلة من النقع في مذيبات ذات قطبية متزايدة (ثنائي كلورو الميثان ، أسيتات الإيثيل ، الميثانول والإيثانول) ;تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام كواشف *Folin-Ciocalteu* و كمية الفلافونويد باستخدام كلوريد الألومنيوم.

تتضمن الخطوة الثالثة في تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات باختبارين مختلفتين:النشاط المضاد للجذرين ل *DPPH* و *FRAP* .

كل المستخلصات أظهرت نشاطا مضادا للأكسدة حيث أن مستخلص الميثانول الأعلى نشاطا ب IC_{50} يساوي $0,203 \pm 0,0007$ غ/ل ونسبة تثبيط للجذور الحرة 53.23% بتركيز قيمته 0,22 غ/ل.

الكلمات المفتاحية: *Ruta tuberculata L*; المركبات الفينولية، الفلافونويد , النشاط المضاد للأكسدة, *DPPH*, *FRAP*.

Résumé

Notre travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Ruta tuberculata L*, récolté de la région d'Oued Morra ,wilaya de Laghouat au mois d'Avril 2019.

La première démarche consistait à une extraction excessive des composés phénoliques dans une série de macération par des solvants à polarité croissante (dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol et éthanol) une quantification par la suite des phénols totaux en utilisant le réactifs de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par le chlorure d'aluminium. La troisième démarche comprend à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts par deux tests (DPPH et FRAP) . Tous les extraits ont montré des effets antioxydants sachant que la fraction méthanolique présente une activité la plus élevée avec IC_{50} égale $0,203 \pm 0,0007$ g/l et un pourcentage d'inhibition de 53,23% à concentration de 0,22 g/l.

Mots-Clés : *Ruta tuberculata L*, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante DPPH, FRAP.

Abstract

Our study focuses on antioxidant activity of extracts from the aerial part of *Ruta tuberculata L* plant ,collected from the region Algeria (Oued Morra ,Wilaya of Laghouat) in April 2019.

The first step in this study consisted of excessive extraction of the phenolic compounds by a series of macerations with solvents of increasing polarity (dichloromethane, ethyl acetate, methanol and ethanol). The second step consisted to quantify the total phenols using the reagents of Folin-Ciocalteu and the contents of flavonoids are detected by the aluminumchloride. The third step involves the evaluation of the antioxidant activity of extracts by two tests: (DPPH and FRAP). All the extracts showed antioxidant effects ,the methanolic fraction has the highest activity with $IC_{50} = 0.203 \pm 0.0007$ g / l and a percentage of inhibition equal to 53.23% with concentration equal 0.22 g / l .

Keywords: *Ruta tuberculata L*, phenolic compounds, flavonoids, DPPH, FRAP.