



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exacte et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Sciences biologiques

Référence ..... / 2025

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :

**Guenfoud Souheila – Athmani Maria**

Le: lundi 2 juin 2025

## *Contribution à l'étude des activités biologiques d'une espèce du genre Ruta*

---

### Jury :

Mme. Nadjiba TOUALBIA	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Asma SAIDI	MMA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Bahia BACHA	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2025/2026

# Remerciement

*Avant tout, nous remercions **Allah** Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé, la force, le courage et la patience pour mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à nos chers parents pour leur soutien indéfectible tout au long de ce parcours.*

*Nos remerciements les plus sincères vont à :*

***Mme SAIDI Asma**, notre encadrante, pour avoir accepté de diriger ce mémoire et pour ses précieux conseils qui ont grandement contribué à son élaboration.*

***Dr DJEDIDI Mawahib** et **M. SAAD Somia**, responsables du laboratoire de Biotechnologie au Centre de Recherche (CRSTRA), pour nous avoir accueillis et facilité notre travail par leur soutien technique et leur disponibilité.*

*Les membres du jury pour avoir consacré de leur temps à l'évaluation de ce travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, particulièrement ceux du Département de Biochimie, pour leur transmission du savoir.*

*Enfin, une pensée reconnaissante à toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont soutenus et encouragés durant la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à tous et toutes*

# Dédicace

*Merci à **Allah** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de penser, la force d'y croire, et la patience d'atteindre la réalisation de mon rêve.*

*Nous avons achevé ce modeste travail, que nous dédions:*

*À nos chères familles,*

*À toute ma famille **Athmani**, et particulièrement à ma tante (**Athmani Zineb**) qui n'a pas pu vivre ce rêve et partager ce moment avec moi.*

*À mes chers parents (**Athmani Azzaddine, Bourezig Aicha**), que je souhaite voir vivre longtemps pour que nous puissions leur rendre ne serait-ce qu'un peu de leur amour, Qu'Allah les protège. Je les remercie pour leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de notre parcours scolaire, depuis l'enfance jusqu'à ce jour. Je souhaite qu'ils vivent longtemps.*

*À mon adorable frère, **Diae**.*

*À mes chères sœurs, **Dina, Alaie, Lodjain**.*

*À mon père (**Guenfoud Zaian**), ma fierté et ma lumière, dont le soutien inconditionnel a guidé mon parcours. Puisse Dieu vous accorder longue vie pour voir les fruits de vos sacrifices.*

*À ma mère (**Guenfoud Rbiha**), mon ange gardien, dont l'amour et les prières ont été le socle de ma réussite et le baume à mes peines.*

*À ma sœur (**Manal**), mon pilier et mon refuge, qui a su écarter les obstacles de mon chemin.*

*À mes frères et notre enseignante, mes soutiens précieux dans ce travail.*

*À Dieu, pour avoir couronné ces efforts de succès.*

*Nous dédions ce travail et vous souhaitons un avenir à la hauteur de vos ambitions.*

*À tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, merci du fond du cœur.*

*Maria et Souhila*

# Table de matière

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste des Tableaux**

**Liste des Figures**

**Liste des Abréviations**

**Introduction.....1**

**Synthèse bibliographique**

**Chapitre 01 : Familles des Rutacées**

1	Familles des Rutacées .....	3
1.1	Caractéristiques botaniques.....	3
1.2	Repartition géographique .....	4
2	Espèce <i>Ruta tuberculata</i> Forssk.....	4
2.1	Distribution géographique et aspect botanique .....	4
	Classification botanique .....	5
2.2	Composition phytochimique .....	6
2.3	Usages traditionnels et activités biologiques .....	6

**Chapitre 02: Maladies liées au stress oxydant**

3	Maladies liées au stress oxydant .....	9
3.1	Stress oxydant .....	9
3.2	Espèce réactives de l'oxygène et de l'azote (ERO/ERA) .....	9
3.3	Antioxydants .....	10
3.3.1	Sources exogènes des antioxydants .....	11
3.4	Pathologies liées au stress oxydant .....	11

**Partie expérimentale**

4	Matériel et Méthodes.....	13
4.1	Matériel .....	13
4.1.1	Matériel végétal.....	13
4.1.2	Animaux.....	13

4.1.3	Produits chimiques (Réactifs) .....	13
4.2	Méthodes .....	13
4.2.1	Préparation de différents extraits de <i>Ruta tuberculata</i> .....	13
4.2.2	Etude phytochimique .....	14
4.2.3	Activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	15
4.2.4	Evaluation de l'activité photoprotectrice <i>in vitro</i> .....	16
4.2.5	Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vivo</i> .....	18
4.2.6	Analyse statistique .....	19
<b>Résultats et discussion</b>		
5	Extraction et calcul du rendement.....	20
6	Etude phytochimique .....	20
6.1	Teneur des extraits en polyphénols totaux .....	21
6.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	22
6.3	Dosage des flavonols totaux.....	23
7	Activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	26
7.1	Effet piègeur du radical DPPH.....	26
7.2	Réduction du 1,10-phénanthroline .....	28
8	Activité photo-protectrice <i>in vitro</i> .....	29
9	Activité antioxydante <i>in vivo</i> .....	35
9.1	Observation des signes de la toxicité induite par le pesticide.....	35
9.2	Variation pondérale.....	36
<b>Conclusion</b>		
<b>Références bibliographique</b>		

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Valeurs de constant EE x I déterminées par Sayre <i>et al.</i> (1979).....	17
<b>Tableau 2 :</b> Recommandations de la commission Européenne sur les catégories des produits antisolaires.....	17
<b>Tableau 3:</b> Teneurs de différents extraits de <i>R. tuberculata</i> en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes totaux (FLV) et en flavanols totaux (FLV-OL).....	23
<b>Tableau 4 :</b> Valeurs des IC50 recordées par les différents extraits de <i>R.tuberculata</i> Forssk. comparées avec celle de BHT.....	25
<b>Tableau 5:</b> Valeurs d'absorbance et A0.5 des extraits de <i>R. tuberculata</i> dans le test du 1,10- phénanthroline.....	28
<b>Tableau 6:</b> Valeurs SPF enregistrées in vitro par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ruta tuberculata</i> par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD.....	29
<b>Tableau 7 :</b> Valeurs du SPF enregistrées in vitro par les différentes concentrations de l'extrait hydro- méthanolique de <i>Ruta tuberculata</i> par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD.....	30
<b>Tableau 8 :</b> Valeurs du SPF enregistrées in vitro par les différentes concentrations de l'huile de thé par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD.....	31
<b>Tableau 9 :</b> Valeurs du SPF enregistrées par les différentes concentrations de l'huile d e Réglisse. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD.....	32
<b>Tableau 10 :</b> Effet du pesticide et de différents traitements sur la variation du poids moyen des rats au cours de l'étude in vivo.....	35

# Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Distribution géographique des Rutacées d'après Heywood (1996). .....	4
<b>Figure 2:</b> Photographie de l'espèce <i>Ruta tuberculata</i> Forssk. (Acheuk et al.,2012) (A) la partie aérienne de plante (B) les feuilles et les fleurs .....	5
<b>Figure 3:</b> Déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants au sein de l'organisme (Daenen <i>et al.</i> , 2019). .....	9
<b>Figure 4:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (n=3). .....	20
<b>Figure 5:</b> Courbe d'étalonnage de quercétine. Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (n=3).Personnaliser les valeurs de SD sur cette courbe .....	22
<b>Figure 6 :</b> Courbe d'étalonnage de quercétine. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SD(n=3).....	23
<b>Figure 7 :</b> Effet piègeur du DPPH engendré par l'extrait EAQ de <i>R. tuberculata</i> . Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (n=3). .....	24
<b>Figure 8 :</b> Effet piègeur du DPPH engendré par le EMet de <i>R. tuberculata</i> . Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (n=3). .....	25
<b>Figure 9 :</b> Effet piègeur du DPPH engendré par le BHT. Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ SD (n=3).....	25
<b>Figure 10 :</b> Profil de l'évaluation colorimétrique de l'activité réductrice des extraits de <i>R. tuberculata</i> dans le test du phénanthroline.....	27

# Liste des Abréviations

AINS: anti-inflammatoires non stéroïdiens.

CAT : Catalase.

CE : Commission Européenne.

CF : Facteur de correction.

EAG: Equivalents d'acide gallique.

EAQ: Extrait aqueux.

EE : effet érythémal.

EGCG : Epigallocatechine gallate.

EMet : Extrait hydro-méthanolique.

EQ:Equivalent de quercétine.

ERA:Espèces réactives de l'azote.

ERO:Espèces réactives de l'oxygène.

ET: Transfert d'électrons.

FLV : Flavonoïdes.

FLV-OL : Flavonols.

FRAP: Pouvoir antioxydant réducteur des ions du fer.

GSH: Glutathione.

HAT: Transfert d'atomes d'hydrogène.

I : Spectre de l'intensité solaire.

IC<sub>50</sub>: Concentration Inhibitrice de 50%.

IL-6 : Interleukine-6.

MAPK : Protéine Kinase Activée par les Mitogènes.

MMP : Métalloprotéines Matricielles.



NF- $\kappa$ B : Facteur nucléaire Kappa B.

NO : Oxyde Nitrique.

NOS: Oxyde Nitrique Synthase.

Nrf 2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2.

PPT : Polyphénols Totaux.

PST: Pesticide.

SOD: Superoxyde Dismutase.

SPF : Facteur de Protection Solaire.

SPF: Facteur de Protection Solaire.

TAC: Capacité Antioxydante totale.

TNF- $\alpha$  : Facteur de nécrose tumorale –alpha.

# Introduction

## Introduction

La famille des Rutacées regroupent des plantes principalement arbustives ou arborescentes, caractérisées par leurs parties aériennes souvent aromatiques, riches en huiles essentielles. Cette famille inclue plusieurs genres et espèces économiquement importantes comme les espèces *Ruta* (Aziz *et al.*, 2010; Rauf *et al.*, 2024). Ce dernier, il est largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales, avec une forte diversité en Afrique, en Amérique du Sud, en Asie et en Australie. Certaines de ses espèces, comme l'espèce *Ruta tuberculata*, sont également adaptées aux climats tempérés, notamment dans le bassin méditerranéen (Abaul *et al.*, 1994; Pollio *et al.*, 2008). *Ruta tuberculata* Forssk. est l'une des plantes méditerranéennes qui se caractérise par ses feuilles charnues, ses fleurs jaunes et ses fruits capsulaires. Il a été rapporté qu'elle contient divers composés phytochimiques actifs, notamment des alcaloïdes, des acides phénoliques, des flavonoïdes, des tanins et des coumarines, qui lui confèrent une large gamme de vertus thérapeutiques et des activités biologiques telles que les aptes antioxydantes et anti-inflammatoires (Chaibeddra et Zellagui, 2016). Traditionnellement, cette plante est utilisée pour traiter diverses maladies (Hadjadj *et al.*, 2024; Hamdi *et al.*, 2018). Aujourd'hui, son potentiel pharmacologique suscite un intérêt croissant, particulièrement dans les domaines de la dermatologie et de la protection contre le stress oxydatif, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour des applications thérapeutiques modernes.

Les radicaux libres et les rayons UV du soleil sont des facteurs clés dans le vieillissement cutané et les dommages oxydatifs, contribuant ainsi à diverses affections dermatologiques (Papaccio *et al.*, 2022). La recherche d'écrans solaires naturels est actuellement l'une des initiatives les plus appréciées dans la médecine alternative du domaine de beauté et des soins cutanés. En effet, les écrans solaires à base de plantes sont très innovants, car ils combinent les propriétés émollientes de phytoconstitués et leurs potentiels antioxydants et anti-inflammatoires en offrant alors une protection tangible à la peau (Suk et Gew, 2024).

Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer les activités antioxydantes et l'effet photoprotecteur des extraits de *Ruta tuberculata* contre les radiations solaires, en utilisant

deux types d'extraits: aqueux et méthanolique. Les tests DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et phénanthroline ont été employés pour investiguer le pouvoir antioxydant *in vitro*, tandis qu'un modèle d'étude sur des rats a nous permis d'inspecter l'effet antiaxydante *in vivo* des extraits testés.

# **Partie Bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Famille des Rutacées**

## 1 Familles des Rutacées

### 1.1 Caractéristiques botaniques

La famille des Rutacées (Rutaceae) est une grande famille botanique cosmopolite, comprenant une diversité d'arbustes, d'arbres et de plantes herbacées. Elle regroupe d'environ 1500 à 2040 espèces réparties en 150 à 170 genres (**Rauf et al., 2024**). Cette famille tire son nom du genre *Ruta*, notamment de l'espèce *Ruta graveolens* L, un petit arbuste aromatique et rustique. Le nom du genre *Ruta* dérive du latin *rūta*, désignant la rue, une plante au goût âcre. Le suffixe « aceae », d'origine latine, est couramment utilisé pour nommer les familles botaniques (**Antoine et Fraricois, 2017**).

Les Rutacées sont communément appelées la famille des agrumes et sont classées dans l'ordre des Sapindales. Les plantes de cette famille se caractérisent par des fleurs à graines divisées en quatre ou cinq parties, dégageant souvent de forts parfums. Les formes et les tailles de ces plantes varient, allant des herbes aux arbustes et aux petits arbres (**Panda et al., 2019**). Certaines espèces de cette famille sont particulièrement connues pour leurs fleurs extrêmement parfumées, utilisées dans la production d'huiles essentielles commerciales (**Aziz et al., 2010**).

D'un point de vue botanique, les Rutacées se caractérisent principalement par trois traits distinctifs: des feuilles présentant des points translucides contenant des cellules sécrétrices d'huile, des fleurs d'un blanc pur avec un stigmate visiblement huileux, et des fruits de forme charnue, généralement de type baie (**Panda et al., 2019**). De plus, les fleurs des Rutacées sont parfaitement unisexuées. Cependant les sépales peuvent être soudés ou distincts, et leur nombre varie de 2 à 5. Au fait, les pétales, au nombre de 2 à 5, ont une longueur allant de quelques millimètres à plusieurs centimètres. Alors que, les étamines varient en nombre de 2 à 60, et les filaments sont généralement distincts, bien qu'ils puissent parfois être soudés (**Chase et al., 1999**).

Les espèces appartenant à la famille des Rutacées sont réputées comme des biosources en produisant une grande variété de métabolites secondaires, notamment des huiles essentielles, des limonoïdes, des coumarines, des flavonoïdes, ainsi que plusieurs alcaloïdes tels que l'acridone et le carbazole (**Ibrahim et Hadi, 2022**). Ces composés jouent un rôle

important dans les propriétés biologiques et pharmacologiques attribuées aux plantes de cette famille (Chase *et al.*, 1999).

## 1.2 Repartition géographique

Les Rutacées, une famille largement répandue dans les régions tropicales et tempérées (Figure 1), présentent dans des centres majeurs de diversité en Afrique et en Australie (Abaul *et al.*, 1994; Pollio *et al.*, 2008). Par exemple, on trouve la rue officinale (*Ruta graveolens*) en Asie du Sud-Ouest et en Méditerranée, tandis que le poivre de Sichuan (*Zanthoxylum simulans*) et le clavalier se développent principalement en Asie de l'Est tels que la Corée du Sud, la Chine et le Japon (Hwang *et al.*, 2018).



**Figure 1.** Distribution géographique des Rutacées d'après Fatima (2004).

## 2 Espèce *Ruta tuberculata* Forssk

### 2.1 Distribution géographique et aspect botanique

Le genre *Ruta* ou *haplophellum* (Rutacées) comprend environ 70 espèces (Jazia Sriti *et al.*, 2024) avec un centre de diversité principal en Iran qui abrite 25 espèces dont 13 endémiques, détient le plus grand nombre d'espèces de ce genre et peut être considéré comme un centre de spéciation (Varamini *et al.*, 2007). En Algérie, on rencontre cette espèce qui est localement appelée 'El fijel'.

Parmi les espèces du genre *Ruta*, *Ruta tuberculata*, une plante herbacée vivace spontanée, est particulièrement adaptée aux milieux arides et semi arides. Cette espèce



pousse dans des environnements variés: chenaux limoneux, déserts sableux ou pierreux, steppes dégradées, cours d'eau asséchés, plaines côtières et terres cultivées ou en jachère (Al-Yahya *et al.*, 1991). *Haplophyllum tuberculatum* est une plante herbacée indigène principalement se trouve dans les pays du Nord de l'Afrique du Moyen-Orient, de certaines régions d'Asie du Sud-Ouest, des zones tropicales et subtropicales d'Eurasie (Ali *et al.*, 1992; Saidi *et al.*, 2022) et dans les zones méditerranéennes de l'Espagne à la Roumanie (Raissi *et al.*, 2016). En fait, cette vaste répartition géographique témoigne de la grande adaptabilité écologique de cette espèce végétale.



**Figure 2.** Photographie de l'espèce *Ruta tuberculata* Forssk. (Acheuk *et al.* 2012) (A) la partie aérienne de plante (B) les feuilles et les fleurs .

### Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *R. tuberculata* a été résumée comme suit:

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>	<b>Order</b>	Sapindales
<b>Sous règne</b>	<i>Tracheobionta</i>	<b>Famille</b>	<i>Rutaceae</i>
<b>Embranchement</b>	Spermatophyta	<b>Sous- Famille</b>	Rutoideae
<b>SousEmbranchement</b>	Angiospermae	<b>Genre</b>	<i>Ruta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>	<b>Espèce</b>	<i>Ruta tuberculata</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliophyta</i>	<b>Nom vernaculaire</b>	Fidjel

Sous-classe: *Rosidae* Nom en Arabe: فيجل

## 2.2 Composition phytochimique

Le criblage phytochimique mené par **Chaibeddra et al., (2016)**, des extraits de *Ruta tuberculata* a révélé une forte teneur de cette plante en métabolites secondaires, qui sont connus par leurs propriétés biologiques et vertus thérapeutiques, en particulier les huiles volatiles, les stérols, triterpènes, les caroténoïdes, les coumarines, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les saponines. Par ailleurs, **Saidi et al., (2022)** ont confirmé la teneur élevée de ces extraits en composés phénoliques totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits aqueux et méthanoliques des parties aériennes de *Ruta tuberculata*, ce qui corrobore la diversité chimique notable de cette espèce. De plus, cette équipe de recherche ont identifié, à l'aide d'une analyse chromatographique (cLC-DAD), plusieurs composés flavonoïques majeurs dans ces extraits polaires (aqueux et hydrométhanolique) de cette plante, parmi les quels: la myricétine, la rutine, la silymarine, la naringénine et la quercétine.

## 2.3 Usages traditionnels et activités biologiques

*R. tuberculata* ou (*H. tuberculatum*) est une espèce végétale endémique largement intégrée dans les pratiques médicinales traditionnelles. Ses applications thérapeutiques, documentées par plusieurs rapports scientifiques, couvrent un large spectre pathologique. Parmi ces pathologies, il a été rapporté que l'espèce concernée peut traiter les céphalées, les spasmes musculaires et l'arthrite, grâce à ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires (**Hamdi et al., 2018**). En outre, elle est utilisée comme agent sédatif et inducteur de sommeil, action attribuée à ses composés hypnotiques (**Hadjadj et al., 2024**).

De plus, l'usage de cette plante médicinale (*Ruta tuberculata*) a abouti à un soulagement important des flatulences abdominales, constipation, météorisme et autres troubles digestifs, via son action carminative et antispasmodique (**Hamdi et al., 2018; Hadjadj et al., 2024**). Par ailleurs, la gestion de l'hyperglycémie et la contribution à la réduction pondérale que favorise cette espèce, suggérant qu'elle possède un potentiel dans la prévention des syndromes métaboliques tel que le diabète sucré (**Saidi et al., 2022; Hadjadj et al., 2024**). D'autre part, il a été signalé que la formulation de l'extrait aqueux des feuilles de *Ruta tuberculata* a été appliquée comme antiseptique local pour traiter les lésions cutanées

et ulcères, en révélant des propriétés anti-inflammatoires même contre les pharyngites, amygdalites et les états fébriles (**Hadjadj et al., 2024; Agouret et al., 2022**).

Récemment, **Hadjadj et al., (2024)** ont montré que l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Ruta tuberculata* a exhibé une activité vermifuge contre les parasitoses intestinales. À noter que la préparation de cette plante (feuilles séchées) en suppositoire rectal a été destinée aux parturientes, visant à atténuer les troubles postnataux et élargissant alors son usage en gynécologie (**Foster et James , 2014**).

Des recherches scientifiques recente sont mis en évidence le potentiel thérapeutique remarquable de l'espèce *Ruta tuberculata*, attribué à sa richesse en composés bioactifs. Selon **Sabry et al., (2016)**, l'extrait méthanolique des parties aériennes contient des polyphénols aux propriétés anti-radicalaires. Ces capacités ont été confirmées par (**Hamdi et al., 2017; Saidi et al., 2022**). De plus, des recherches antérieures sur *Ruta tuberculata* ont montré que cette espèce possède un large éventail de propriétés thérapeutiques grâce à ses nombreux composés bioactifs, notamment les flavonoïdes et tanins, qui confèrent à la plante des activités multiples:

Des activités antimicrobiennes et antipaludiques (**Abdelgaleil et al., 2020**).

Des effets anti-inflammatoires (**Asheur et al., 2011**).

Une puissante action antioxydante (**Sriti et al., 2017**).

Des propriétés insecticides (**Ghasmzadeh et al., 2018**).

Une activité antiprotozoaire (**Mahmoud et al., 2020**).

Des effets cytotoxiques (**Hamdi et al., 2017; Saidi et al., 2021**).

Des effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire (**Daoudi et al., 2016**), le système nerveux (**Saidi et al., 2002**) en exhibant un effet neuroprotecteur via l'inhibition de l'acétylcholinestérase et prévenant par conséquent la maladie d'Alzheimer (**Al-Rehaily et al., 2014**).

En outre, ils ont démontré que les différents extraits de *R. tuberculata* ont exhibé des activités abortives, dépressives et antidotes (**Chaibeddra et al., 2016**), des activités

antiulcéreuse, hépato-protectrice e tantiarthritiques ( **Hamdi *et al.*, 2018; Khadhri *et al.*, 2017; Saidi *et al.*, 2022**).

Ces multiples propriétés pharmacologiques s'expliquent par la synergie entre ses différents composés (polyphénols, alcaloïdes, huiles essentielles), faisant la plante *R. tuberculata* un candidat important pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques multifonctionnels.

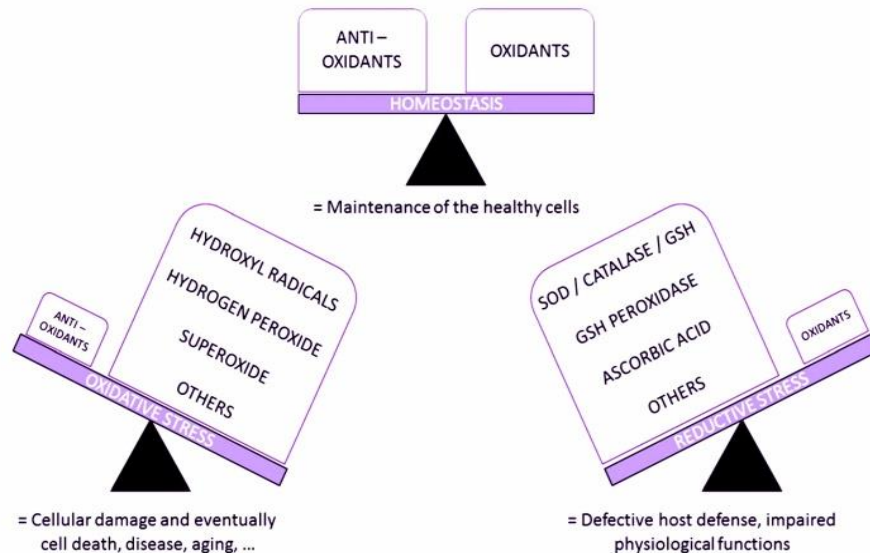
# **Chapitre 2**

## **Maladies liées au stress oxydant**

### 3 Maladies liées au stress oxydant

#### 3.1 Stress oxydant

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre une production excessive de radicaux libres oxydants et une capacité insuffisante des systèmes antioxydants de défense à les neutraliser (Figure 3) (Daenen *et al.*, 2019).



**Figure 3.**Déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants au sein de l'organisme (Daenen *et al.*, 2019).

#### 3.2 Espèce réactives de l'oxygène et de l'azote (ERO/ERA)

Les ERO (espèces réactives de l'oxygène) et les ERA (espèces réactives de l'azote) peuvent être divisées en deux catégories: les radicaux libres et les formes non-radicalaires, qui sont souvent des oxydants. En fait, ces espèces sont produits lors du métabolisme normal des cellules (Pizzino *et al.*, 2017). Cependant, les dérivés radicalaires sont généralement moins stables que les espèces non radicalaires, bien que leur réactivité soit souvent plus forte (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Un radical libre est un atome ou une molécule qui possède un ou plusieurs électrons non appariés dans sa couche externe, ce qui le rend instable et très réactif. En raison de cette instabilité, les radicaux libres cherchent à capter des électrons d'autres molécules pour se stabiliser, ce qui entraîne la perte d'un électron chez la molécule attaquée, Cette dernière qui

devient alors un radical libre à son tour, déclenchant une réaction en chaîne qui peut endommager la cellule (**Pham-Huyet *et al.*, 2008**).

Les radicaux libres comprennent notamment le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ), le superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), le monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$ ), le dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2^\bullet$ ), le radical peroxy ( $\text{ROO}^\bullet$ ) et le radical lipidique peroxy ( $\text{LOO}^\bullet$ ). Par ailleurs, certaines molécules oxydantes, bien que n'étant pas des radicaux libres, peuvent favoriser la formation de ces derniers dans les cellules. C'est le cas de: le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'ozone ( $\text{O}_3$ ), l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), l'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ), l'acide nitreux ( $\text{HNO}_2$ ), le peroxyxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ), le trioxyde de diazote ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) et les peroxydes lipidiques ( $\text{LOOH}$ ) (**Genestra., 2007**).

### 3.3 Antioxydants

Les antioxydants sont toute substance capable d'inhiber les réactions d'oxydation destructrices en s'oxydant eux-mêmes. Ce système de défense agit via une cascade qui prévient la production des oxydants et fait piéger les radicaux libres, en les convertissant en composés moins toxiques. De plus, l'ensemble de ces mécanismes empêche également la formation de métabolites toxiques secondaires et participe dans la réparation des lésions moléculaires ou dans l'amélioration du système antioxydant endogène (enzymatique et non enzymatique) (**Daenen *et al.*, 2019**).

Les antioxydants enzymatiques classifiées en deux groupes principaux:

Les enzymes antioxydantes primaires ou constitutives incluant la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, le glutathion (GSH), la peroxydase et la thiorédoxine, qui préservent le tonus réducteur cellulaire et l'équilibre redox (**Daenen *et al.*, 2019; Schieber et Chandel, 2014**).

Les enzymes inductibles par les éléments de réponse antioxydante (ARE), codées par des gènes de phase 2, neutralisent directement les oxydants, stimulent la production et la régénération du GSH, et favorisent la synthèse du NADPH lors de stress ou d'inflammation. Ces dernières sont régulées par les ARE via l'activation du facteur de transcription Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), avec comme exemples notables l'hème oxygénase-1 (HO-1) et la NADPH quinone oxydoréductase (NQO-1) (**Daenen *et al.*, 2019**).

Les antioxydants non enzymatiques (ou à faible poids moléculaire) se répartissent dans différents compartiments biologiques, incluant le plasma, les milieux intra et extracellulaires, les lipoprotéines et les membranes. Cette famille regroupe, en plus du glutathion (GSH), divers composés d'origine alimentaire et des molécules endogènes, que l'on peut classer selon leur solubilité en deux catégories : les antioxydants hydrosolubles et les antioxydants liposolubles (**Daenen *et al.*, 2019; Schieber et Chandel, 2014**).

### 3.3.1 Sources exogènes des antioxydants

Plus que les antioxydants endogènes, il s'agit des antioxydants exogènes très efficaces, qu'ils soient naturels (vitamines A, E, C, D,  $\beta$ -carotène, flavonoïdes) ou synthétiques, leurs structures moléculaires leur permettent de retarder ou parfois d'inhiber l'action des radicaux libres, en protégeant ainsi l'organisme contre les pathologies liées au stress oxydatif (**Hamdi *et al.*, 2017**).

Parmi les antioxydants exogènes, on peut citer aussi les composés phénoliques à base des plantes.

En effet, les plantes constituent une source majeure d'antioxydants naturels, notamment leurs composés phénoliques (phénols, flavonoïdes, terpènes, etc.), dont l'activité antiradicalaire dépend de leur capacité à donner des électrons ou des hydrogènes aux molécules peroxydées (**Bouaziz *et al.*, 2009**).

## 3.4 Pathologies liées au stress oxydant

De nombreuses études ultérieures ont mis en évidence le rôle clé des radicaux libres et leurs implications dans divers processus pathologiques. Ces espèces réactives, générées lors du stress oxydatif, provoquent des altérations protéiques, une peroxydation lipidique, des dommages de l'ADN et même l'apoptose cellulaire. En effet, l'ensemble de ces mécanismes contribue en tant que cause déclencheur ou conséquence dans le développement des pathologies majeures telles que les maladies cardiovasculaires, les troubles rhumatoïdes, les ulcères gastriques et les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (**Saidi *et al.*, 2022**).

Il a été rapporté que la surproduction ou l'accumulation de radicaux libres au niveau de la peau peut provoquer le vieillissement cutané, l'hyperpigmentation, la psoriasis, l'eczéma,



la cicatrisation perturbée, l'acné inflammatoire et la pigmentation, en oxydant les protéines, stimulant la tyrosinase et les enzymes métalloprotéase se accélérant la libération des cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6) (**Haleng *et al.*, 2007**).

Actuellement, les interventions pharmacologiques font intégrer dans les protocoles de traitement des médicaments contenant des inhibiteurs qui peuvent cibler les enzymes clés de différentes pathologies en association à un apport élevé d'antioxydants et parfois d'anti-inflammatoires pour atténuer les complications liées aux maladies (**Khadhri *et al.*, 2017**).

De plus, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont souvent utilisés en complément du traitement, mais leur utilisation prolongée et excessive peut entraîner des inconvénients, notamment le développement d'une résistance aux médicaments (**Deghima *et al.*, 2020**). Cela met en évidence l'urgence de développer des anti-inflammatoires naturels plus efficaces et présentant moins d'effets indésirables.

# **Chapitre 3**

## **Matériel et Méthodes**

## 4 Matériel et Méthodes

### 4.1 Matériel

#### 4.1.1 Matériel végétal

Les parties aériennes fraîches de l'espèce *Ruta tuberculata* ont été récoltées à la fin du mois de Février à différents stades de développement (végétatif et floraison) dans la région aride de Chaïba (Oulad Djellal, Algérie) aux sols sablonneux. La plante a été identifiées par Dr. Salem kour S. (centre des recherches scientifiques et techniques sur la région arides CRSTRA- Biskra, Algérie), puis nettoyée séchée à l'air libre à l'abri de la lumière durant deux semaines, avant d'être conservée en sacs pour l'utilisation ultérieure.

#### 4.1.2 Animaux

L'étude *in vivo* a été conduite sur des rats femelles *Wistar* (poids : 166-210 g), fournis par l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été hébergés dans des conditions standardisées (5rats/cage) avec une période d'acclimatation de 15 jours avec l'accès libres à l'eau potable et à l'aliments standard des rangeurs.

#### 4.1.3 Produits chimiques (Réactifs)

Tous les solvants, les produits chimiques utilisés dans cette étude ont été fournis par Sigma-Aldrich et Biochem Chemopharma. Parmi eux, on peut figurer: méthanol (MeOH), carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 1,1-Diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COO}^-\text{Na}^+$ ), acétate de potassium ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), acide gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ), quercétine ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ), réactif de Folin-Ciocalteu, chlorure d'aluminium ( $\text{ALCL}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ), nitrate d'aluminium, BHT.

### 4.2 Méthodes

#### 4.2.1 Préparation de différents extraits de *Ruta tuberculata*

##### 4.2.1.1 Extraction aqueuse

Extraction aqueuse a été réalisée selon la méthode de (Ratheesh et Helen, 2007). Cent grammes de matière végétale sèche (*R. tuberculata*) ont été soumis à décoction dans 1 litre d'eau distillée pendant 15 minutes. La solution obtenue a été filtrée sous vide sur papier

Whatman n°3, puis le filtrat a été séché à l'étuve à 40°C pendant plusieurs jours. L'extrait aqueux (EAQ) final, a été obtenu sous forme de poudre jaune, qui a été conservé ensuite à -4°C jusqu'à son utilisation ultérieure.

#### 4.2.1.2 Extraction hydro-méthanolique

L'extrait hydro-méthanolique a été préparé selon la méthode décrites par (**Khelifi 2013; Bekheet et Hanafy, 2011**). 50 grammes de parties aériennes de *R. tuberculata* ont été macérés dans 400 mL de méthanol à 80% pendant 48 heures. Après filtration sous vide sur papier Whatman n°3, la solution a été concentrée par évaporation rotative à 40°C à l'aide d'un rotavapor (marque Heidolph SURLYN coated) pour éliminer le solvant. L'extrait hydro-méthanolique obtenu (EMet), de couleur vert foncé et de consistance cristalline, a ensuite été conservé à -4°C.

Pour les deux méthodes d'extraction, le rendement d'extraction a été calculé selon l'équation suivante:

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{mv}) \times 100$$

### 4.2.2 Etude phytochimique

#### 4.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué selon la méthode de **Müller et al., (2010)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Pour chaque échantillon (avec 3 répétitions par échantillon), 20 µL d'extrait ont été mélangés avec 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au 10 fois) et 75 µL de solution de carbonate de sodium (, 7,5 %). Après une incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques 96 puits (Thermo Scientific™ Multiskan Sky, pays). Les résultats, ont été exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg EAG/mg ES), en basant sur courbe d'étalonnage établie de l'acide gallique à différentes concentrations.

#### 4.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes totaux (TFC) a été effectuée selon la méthode colorimétrique au nitrate d'aluminium décrite par (**Wang et al., 2007**). Pour chaque dosage, 50 µL d'extrait (1 mg/mL) ont été mélangés à 10 µL de nitrate d'aluminium (10%), 130 µL

de méthanol et 10 µL d'acétate de potassium (1 M). Après incubation pendant 40 minutes à température ambiante, l'absorbance a été lue à 415 nm. La quercétine a été utilisée comme standard de référence, et les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent du quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

#### 4.2.2.3 Dosage des flavonols totaux

La teneur de différents extraits de la plante *R. tuberculata* en flavanols totaux a été déterminée selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (Topçu *et al.*, 2007). Dans chaque puits d'une microplaque 96 puits, 50 µL d'extrait ont été mélangés à 50 µL de solution de chlorure d'aluminium hexahydraté (2 %) et 150 µL d'acétate de sodium (5%). Après une incubation de 2,5 heures à température ambiante à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 440 nm. La quantification a été effectuée par rapport à une courbe étalon de quercétine (25-200 µg/mL), et les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

### 4.2.3 Activité antioxydante *in vitro*

#### 4.2.3.1 Effet piègeur du radical DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée en déterminant leur capacité à piéger le radical libre DPPH selon la procédure de Bouchoukh *et al.*, (2019). Le principe repose sur la réduction du DPPH, se traduisant par une décoloration proportionnelle au pouvoir antioxydant. Dans chaque essai, 40 µL d'extrait à différentes concentrations (préparé dans du méthanol ou de l'eau distillée) ont été incubés avec 160 µL de solution de DPPH (0,1 mM dans du méthanol) pendant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance résiduelle a ensuite été mesurée à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Le BHT a servi de contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation:

$$\text{Effet de piégeage du DPPH (\%)} = (A_C - A_T)/A_C \times 100,$$

Où  $A_C$  et  $A_T$  sont les absorbances du contrôle et du test à 30 min, respectivement.

Les résultats ont été exprimés en concentration inhibitrice médiane  $IC_{50}$  (µg/mL), correspondant à la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du DPPH.

#### 4.2.3.2 Réduction du 1, 10-Phénanthroline

La capacité des extraits étudiés à réduire les ions du fer a été investiguée en utilisant la 1,10-phénanthroline, selon le protocole de **Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2008)**. Dans chaque puits d'une microplaque 96 puits, 10 µL d'extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 50 µL de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,2 %), 30 µL de solution de 1,10-phénanthroline (0,5 %) et 110 µL de méthanol. Après une incubation de 20 minutes à 30 °C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Des contrôles négatif (méthanol seul) et positif (BHT) ont été inclus dans chaque série d'analyses.

#### 4.2.4 Evaluation de l'activité photoprotectrice *in vitro*

Le facteur de protection solaire (SPF) a été déterminé selon la méthode spectrophotométrique de **(Dutra *et al.*, 2004)**. Pour chaque extrait (aqueux ou méthanolique), des solutions de 4 mg ont été préparées à différentes concentrations (4, 2, 1, 0,5, 0,25 et 0,125 mg/mL) dans 1 ml de l'eau ou de l'éthanol, respectivement. Les mesures d'absorbance ont été effectuées entre 290 et 320 nm (spectre UV-B) avec un intervalle de 5 nm. Le SPF a été calculé à l'aide de l'équation:

$$\text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

EE: Spectre de l'effet érythémal.

I: Spectre de l'intensité solaire.

Abs: absorbance.

CF: Facteur de correction (= 10).

Les valeurs de constant EE x I ont été déterminées (Tableau 1) selon la méthode de **Sayre *et al.*, (1979)** et les catégories de protection ont été estimées en se basant sur les recommandations de la commission européenne sur les produits antisolaires en fonction de leurs SPF mesurés (Tableau 2).

**Tableau 1.** Valeurs de constant EE x I déterminées par Sayre *et al.*, (1979).

Longueur d'onde $\lambda$ (nm)	EE ( $\lambda$ )x I( $\lambda$ ) (Normes)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Total	1

**Tableau 2.** Recommandations de la commission Européenne sur les catégories des produits antisolaires.

Catégorie	SPF indiqué	SPF mesuré
Protection faible	6	6 – 9,9
	10	10 – 14,9
Protection moyenne	15	15 – 19,9
	20	20 – 24,9
	25	25 – 29,9
Protection forte	30	30 – 49,9
	50	50 – 59,9
Protection très forte	50+	60 ≤

#### 4.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo*

##### 4.2.5.1 Traitement des rats

Les 30 rats *Wister* ont été repartis en 6 groupes de 5 rats chacun, et sont traités quotidiennement pendant 15 jours par voie orale selon le protocole de traitement suivant (Ibrahim *et al.*, 2020).

**Lot 01** : sert d'un témoin sain n'a reçu qu'un volume (10ml/kg/jour) de la solution saline NaCl (0,9 %).

**Lot 02 :** n'a reçu qu'un volume (10ml/kg) d'un pesticide (PST) de la famille Acetamiprid.

Ce groupe a été utilisé comme un témoin négatif du stress induit et son traitement a été combiné avec l'administration orale après une heure d'un volume de l'eau saline NaCl 0,9%.

**Lot 03 :** PST + traité par la dose 200mg/kg/jour de la vitamine C (Vit C) et sert un témoin positif.

**Lot 04 :** PST + traité par l'extait EMet de *Ruta tuberculata* (75mg /kg/jour).

**Lot 05 :** PST+ traité par l'extait méthanolique de *Ruta tuberculata* (150 mg/kg/jour).

**Lot 06:** PST+ traité par l'extait méthanolique de *Ruta tuberculata* (300mg /kg/jour).

Lors de l'expérimentation, le nombre de la mortalité, les symptômes cliniques associés au changement du comportement de l'animal et la variation pondérale ont individuellement été surveillés.



**Figure 4.** Méthode du gavage

#### 4.2.6 Analyse statistique

Les données *in vitro* sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$ SD issues de trois répétitions indépendantes. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du test de Student



(via Microsoft Excel) pour les comparaisons par paires. La signification statistique a été déterminée à  $p < 0,5$ .

# **Chapitre 4**

## **Résultats et Discussion**

## 5 Extraction et calcul du rendement

Par décoction, nous avons obtenu un extrait aqueux sous forme de poudre verdâtre (rendement: 19,46%). L'extrait méthanolique, préparé par macération dans du méthanol 80 %, a fourni une poudre cristalline Vert foncé avec un rendement de 25,2%. Ces valeurs sont en accord avec les données rapportées par **Saidi *et al.*, (2022)** pour la même espèce, bien qu'ils soient légèrement supérieurs à leurs résultats ( $19.8 \pm 2.3\%$  pour l'extrait aqueux: et  $11.3 \pm 2.2\%$  pour l'extrait hydro-méthanolique).

En effet, la variation du rendement d'extraction d'une espèce à une autre et entre les différents extraits est relatif aux propriétés génétiques liées à l'espèce, ainsi qu'à l'origine géographique, la nature du sol, le climat, la saison de la récolte, le mode et les conditions du stockage (**Oliva., 1999**). En outre, le rendement s'est fortement lié aux méthodes d'extraction et aux systèmes solvants utilisés (**Khlifi *et al.*, 2013**).

## 6 Etude phytochimique

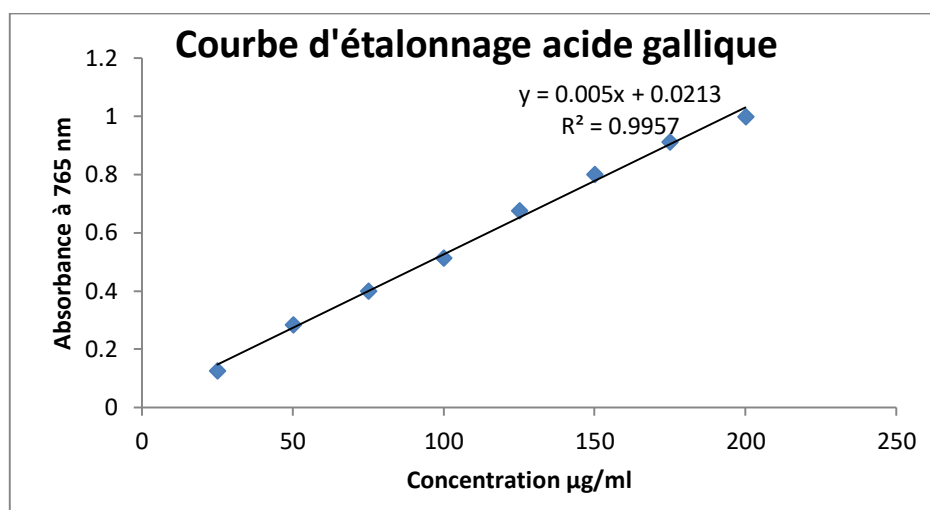
La teneur de différents extraits de la plante *R.tuberculata* Forssk., en différentes classes des composés phénoliques a été déterminée en utilisant différentes méthodes de dosages colorimétriques. Il est intéressant de noter que les résultats obtenus ont montré la richesse de cette plante en diverses classes des biomolécules phénoliques en détectant la présence de flavonoïdes, de flavonols et de polyphénols totaux.

D'après ces résultats, les deux extraits étudiés contenaient diverses classes de métabolites secondaires phénoliques, mais avec des quantités différentes.

Les figures 4, 5 et 6 présentent les courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de quercétine utilisés respectivement comme des standards phénoliques dans la détermination de teneur des extraits testés en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols. Cependant, les valeurs de teneurs de différents extraits testés de *R. tuberculata* en ces classes phénoliques ont été résumées dans le tableau 3.

### 6.1 Teneur des extraits en polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux, déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu, a été établie pour chaque extrait à l'aide d'une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'acide gallique équivalent par milligramme d'extrait. La mesure de l'absorbance correspondante a été effectuée à une longueur d'onde fixée à 765 nm.



**Figure 4.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).

Sur la base de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 4), les résultats ont montré que la quantité des composés phénoliques totaux est de 108,1  $\mu\text{g}$  EAG/mg pour l'EMet et de 113,18  $\mu\text{g}$  EAG/mg pour l'EAQ. Ces données indiquent que l'extrait aqueux présente une teneur plus élevée en composés phénoliques totaux en comparaison avec l'extrait hydro-méthanolique. Cette différence peut être expliquée par la capacité de l'eau à extraire plus efficacement les composés phénoliques fortement polaires, en raison de sa polarité élevée (Bourgou *et al.*, 2016). Il est également probable que, selon les propriétés génétiques de l'espèce étudiée, la majorité des phénols présents dans cette espèce soient des composés hydrophiles plus que les composés à polarité moyenne et apolaires (Ghimire *et al.*, 2021). Cela rend l'eau le solvant le plus approprié pour leur extraction que le méthanol.

En comparaison avec des études antérieures menées sur la même espèce végétale, (Saidi *et al.*, 2022) ont rapporté une teneur en polyphénols totaux de 53,4  $\mu\text{g}$  (EAG)/mg pour l'extrait méthanolique, et de 46,9  $\mu\text{g}$  EAG/mg pour l'extrait aqueux. Ces valeurs sont

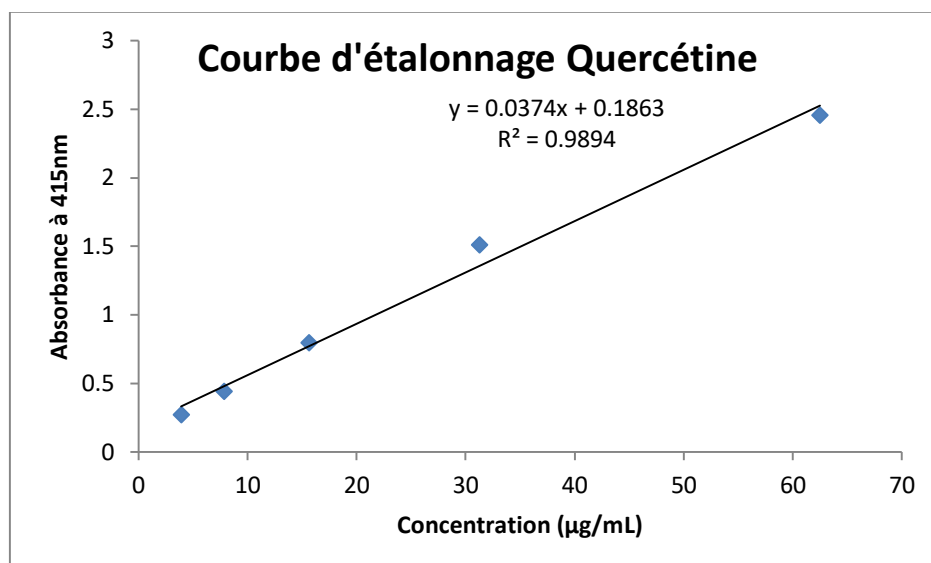
inférieures à celles obtenues dans notre étude, où les teneurs étaient respectivement de 108,1 µg/mg et 113,18 µg/mg. Cet écart indique que nos extraits sont plus riches en composés phénoliques totaux, ce qui pourrait être attribué à plusieurs facteurs, tels que la localisation géographique de collection des échantillons, la saison de récolte, la partie de la plante utilisée, ou encore les conditions d'extraction. Par ailleurs, d'autres espèces du genre *Ruta* ont montré des teneurs beaucoup plus élevées, c'est le cas de *Ruta montana*, dont la teneur de son extrait méthanolique a atteint 142,33 mg EAG/g (**Kara et al., 2016**). Ces différences peuvent être liées à la variabilité génétique entre les espèces, à la nature des composés phénoliques dominants, ainsi qu'à l'efficacité du système solvant utilisé pour l'extraction.

## 6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux (EAQ) et de l'extrait méthanolique (EMet) sont exprimées en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche végétale.

La concentration en flavonoïdes dans ces extraits était respectivement de  $7,13 \pm 0,5$  et  $9,41 \pm 0,1$  mg/g d'E. Ces données ont indiqué que la teneur de EMet en flavonoïdes totaux est significativement plus élevée par rapport à EAQ.

De point de vue comparatif, **Bouaziz et al., 2009** qui ont travaillé sur les mêmes extraits de cette espèce végétale, ont rapporté que les deux extraits analysés contenaient différentes classes de métabolites secondaires bioactifs, mais en quantités variables. De manière générale, l'extrait EMet a affiché des teneurs significativement plus élevées ( $p < 0,05$ ) en TFC ( $8,1 \pm 0,02$  mg QE/g dE) par rapport à celles enregistrées pour l'extrait EAQ.



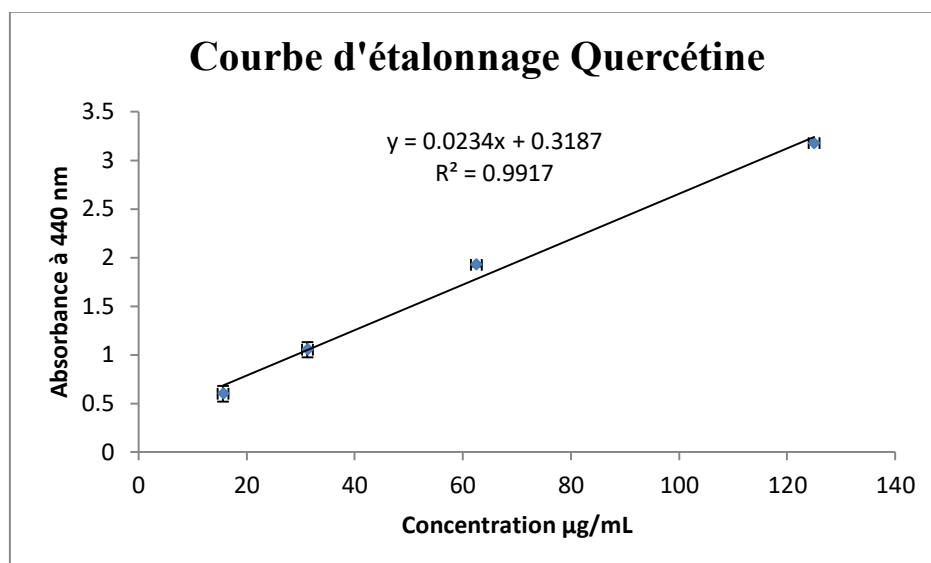
**Figure 5.** Courbe d'étalonnage de quercétine. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).

### 6.3 Dosage des flavonols totaux

Les teneurs en flavonole totaux de l'extrait aqueux (EAQ) et de l'extrait méthanolique (EMet) sont exprimées en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche végétale.

La concentration en flavonole dans ces extraits était respectivement de  $0,96 \pm 0,2$  µg/ml et  $4,49 \pm 0,2$  µg/ml, montrant que le méthanol fournit les rendements d'extraction les plus élevés en flavonole ( $4,49 \pm 0,2$  µg/ml EQ), suivi de l'eau, dont l'extraction s'est avérée moins efficace et moins régulière.

Selon **Bouaziz et al., 2009**, les teneurs totales en flavonols présentait une variation moins importante que celles des phénols et flavonoïdes totaux. Plus précisément, les quantités de flavonols étaient respectivement de 56,26, 40,8 etmg EQ/100 g de la masse sèche pour les extraits méthanoliques de *R. angustifolia*, *T. teneriffae* et *E. glaucophyllum* qui appartiennent à la famille des Rutacées.



**Figure 6.** Courbe d'étalonnage de quercétine. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).

**Tableau 3.** Teneurs de différents extraits de *R. tuberculata* en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes totaux (FLV) et en flavanols totaux (FLV-OL).

Extrait	Teneur en PPT (mg EAG/g d'E)	Teneur en FLV (mg EQ/g d'E)	Teneur en FLV-OL (mg EQ/g d'E)
EAQ	113,18 $\pm$ 6,1	7,13 $\pm$ 0,5	0,96 $\pm$ 0,2
EMet	108,1 $\pm$ 7,7	9,41 $\pm$ 0.1	4,49 $\pm$ 0,2

De nombreuses études phytochimiques menées sur l'optimisation des méthodes d'extraction des métabolites secondaires à base de plantes et les systèmes solvants utilisés ont démontré que l'eau et les solvants alcooliques, en particulier le méthanol, ainsi que leur mélange sont les systèmes les plus utilisés dans le but d'extraire la teneur maximale des métabolites bioactifs à grande polarité tels que les acides phénoliques, les huiles essentielles et certaines classes polaires de flavonoïdes, des tanins hydrolysables, des alcaloïdes et des dérivés hydrosolubles de coumarines (Khelifi *et al.*, 2013). En effet, l'eau et les alcools sont souvent les plus préférables car ils ont l'avantage d'être non toxiques, non polluants et moins chers (Oliva 1999; Khelifi *et al.*, 2013).

## 7 Activité antioxydante *in vitro*

### 7.1 Effet piègeur du radical DPPH

L'activité antioxydante de *R. tuberculata* a été évaluée *in vitro* en déterminant l'effet piègeur de ses différents extraits vis-à-vis le radical DPPH, comme présente les figures 7 et 8 en comparaison avec celui engendré par la molécule de référence, le BHT (Figure 9).

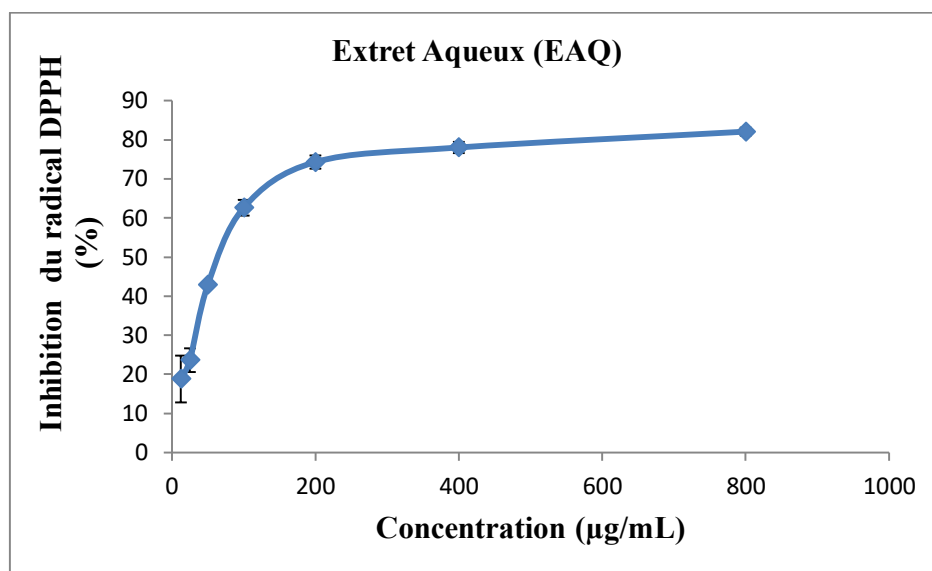


Figure 7. Effet piègeur du DPPH engendré par l'extrait EAQ de *R. tuberculata*. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).

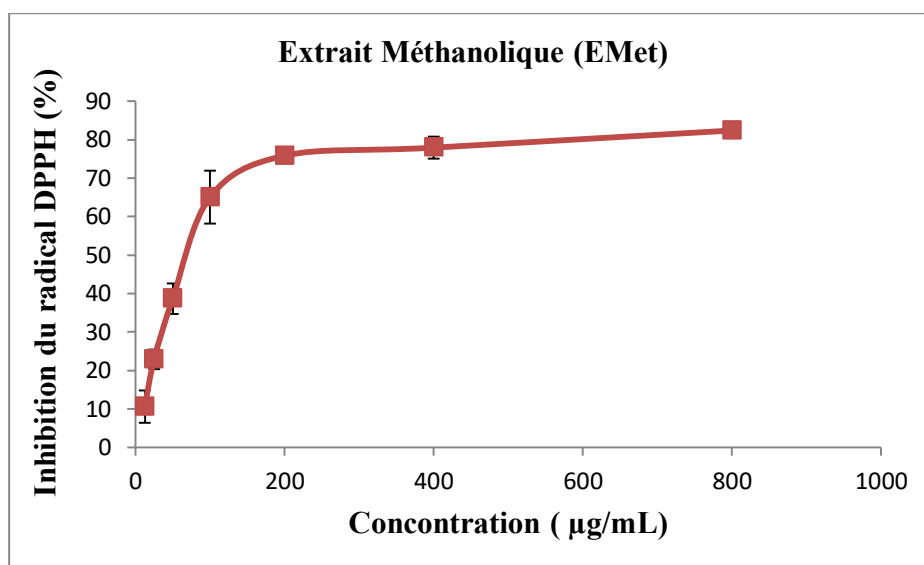
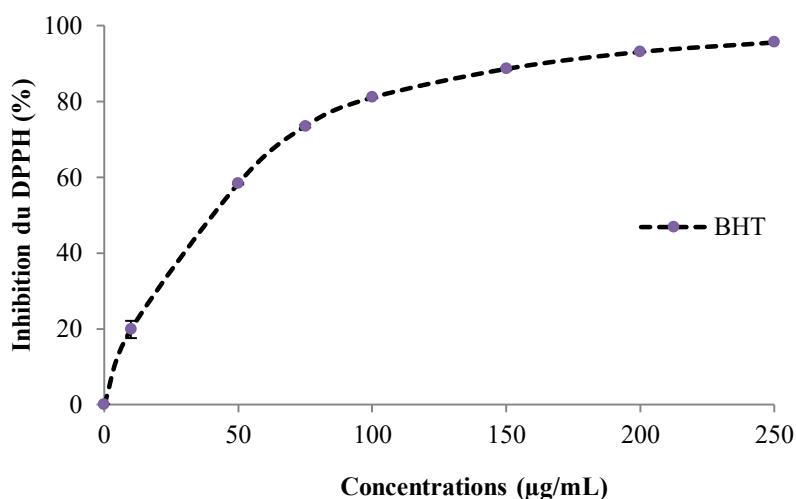


Figure 8. Effet piègeur du DPPH engendré par le EMet de *R. tuberculata*. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).





**Figure 9.** Effet piégeur du DPPH engendré par le BHT. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD (n=3).

**Tableau 4.** Valeurs des  $IC_{50}$  recordées par les différents extraits de *R.tuberculata* Forssk. comparées avec celle de BHT.

Extrait/Antioxydant Standard	$IC_{50}(\mu\text{g/mL})$
L'extrait aqueux (EAQ)	$72,2 \pm 2,9$
L'extrait méthanolique (EMet)	$73,38 \pm 8,6$
BHT	$38,87 \pm 0,007$

Les résultats illustrés dans les figures 7 et 8 ont montré que la plante *R.tuberculata* exhibent une activité antiradicalaire remarquable, évoluée d'une manière dose-dépendante.

Comparés aux autres espèces, les extraits examinés (EAQ et EMet) de notre plante ont exercé significativement une bonne activité antiradicalaire en piégeant effectivement le radical DPPH avec des valeurs d' $IC_{50}$  de l'ordre de  $72,2 \pm 2,9$  et  $73,38 \pm 8,6$   $\mu\text{g/mL}$ .

Néanmoins, les travaux de **Mohammedi et al., (2019)** ont montré que toutes les fractions testées de l'espèce *R. montana* ont révélé une capacité significative à réduire les radicaux libres. Les extraits EO6 et EO7 présentaient l'activité antioxydante la plus forte, enregistrant les concentrations les plus faibles pour inhiber 50 % du DPPH ( $IC_{50} = 49,6 \pm 2,7$  et  $50,2 \pm 3,3$  mg/L, respectivement). Les autres échantillons ont présenté une capacité de piégeage du DPPH dans l'ordre suivant : EO4 ( $51,4 \pm 2,1$  mg/L) > EO5 ( $55,0 \pm 3,1$  mg/L)

>EO3 ( $57,2 \pm 3,4$  mg/L) > EO1 ( $63,4 \pm 1,4$  mg/L). En revanche, l'EO2 a affiché statistiquement la valeur d'IC<sub>50</sub> la plus élevée ( $68,1 \pm 2,4$  mg/L) de cette espèce. Par ailleurs, cette capacité de piégeage était approximativement similaire à celle du BHT, utilisé de cette recherche comme témoin positif (IC<sub>50</sub> =  $60,6 \pm 1,3$  mg/L).

Ces valeurs reflètent le bon potentiel piégeur des radicaux libres que possèdent la plante *R. tuberculata*. Toutefois, l'effet piégeur exhibé par cette plante reste moins important que celui recordé par l'antioxydant standard, le BHT qui a enregistré une valeur d'IC<sub>50</sub> de  $38,87 \pm 0,007$  µg/ml, qui est statistiquement la moitié de celle recordé par chacun des extraits testés.

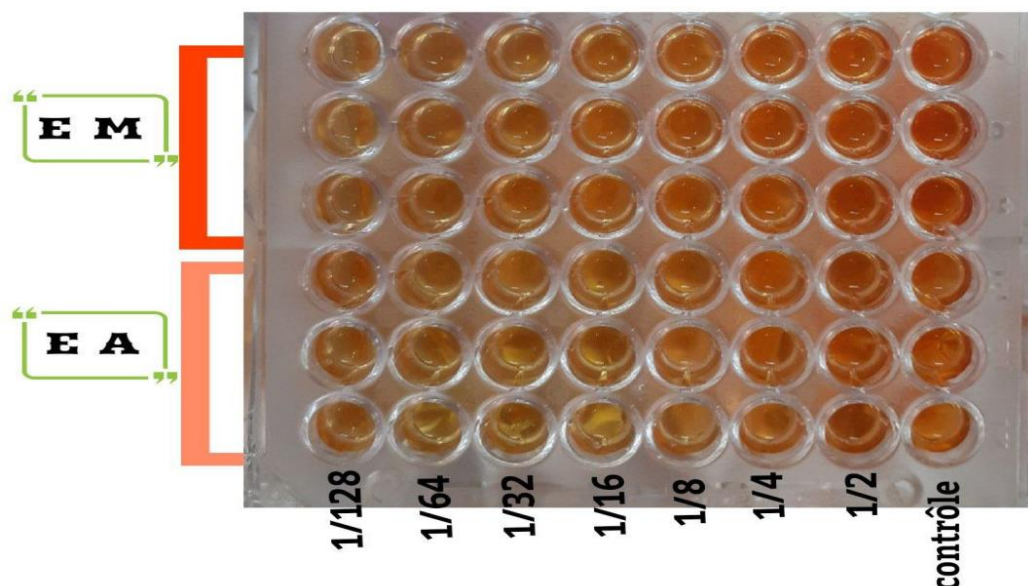
Cette activité que possède la plante *R. tuberculata* pourrait s'expliquer par la présence de composés bioactifs hydrophiles capables de neutraliser le radical DPPH et le réduire dans ce test. En effet, les phyto-composés contenus dans la partie aérienne de la plante concernée sont aptes à donner des hydrogènes aux radicaux libres, les neutralisant. Cependant, les variations des valeurs IC<sub>50</sub> des extraits EAQ et EMet pourraient significativement se corrélérer à la différence dans leurs teneurs en métabolites secondaires et la diversité dans leur composition phénolique, notamment en polyphénols et plus particulièrement en flavonoïdes, qui sont souvent connus par leurs excellentes propriétés antioxydantes.

Plusieurs études ont démontré le potentiel antiradicalaire significatif de divers acides phénoliques (acide gallique, caféique) et flavonoïdes (quercétine, kaempférol), attribué principalement à leurs groupements hydroxyle capables de neutraliser efficacement les radicaux DPPH et OH via des mécanismes de transfert d'électron ou de proton, avec des valeurs IC<sub>50</sub> comparables à celles des antioxydants de référence comme le BHT (**Rice-Evans et al., 1996; Sroka et Cisowski, 2003**).

## 7.2 Réduction du 1,10-phénanthroline

La méthode à la phénanthroline constitue l'une des techniques couramment employées pour évaluer la capacité antioxydante totale des composés. Tout d'abord, son principe repose sur la réduction des ions Fe<sup>+3</sup> par l'antioxydant en Fe<sup>+2</sup>. Ensuite, ces ions Fe<sup>2+</sup> réagissent avec la phénanthroline pour former un complexe coloré rouge-orange. Enfin, l'intensité de cette coloration est quantifiée par une mesure spectrophotométrique à 510 nm (**Szydlowska-Czerniaka et al., 2008**), ce qui permet de déterminer précisément l'activité réductrice des

substances à tester. Les résultats obtenus, envisagés dans le tableau 5, ont été exprimés en A0.5 (la concentration correspondante à une absorbance égale à 0,5).



**Figure 10.** Profil de l'évaluation colorimétrique de l'activité réductrice des extraits de *R. tuberculata* dans le test du phénanthroline.

**Tableau 5.** Valeurs d'absorbance et A0.5 des extraits de *R. tuberculata* dans le test du 1,10-phénanthroline.

Extrait	Réduction du 1,10-phenanthroline							A0.5
Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	( $\mu\text{g/mL}$ )
EMet	0,4 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,0	0,48 $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,01	0,72 $\pm$ 0,05	0,99 $\pm$ 0,09	1,4 $\pm$ 0,06	14,71 $\pm$ 1,3
	1							
EAQ	0,35 $\pm$ 0,0	0,39 $\pm$ 0,0	0,44 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,05	0,55 $\pm$ 0,01	0,78 $\pm$ 0,1	1,07 $\pm$ 0,1	21,63 $\pm$ 5,8
	1 3							
BHT	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	3,47 $\pm$ 0,09	2,09 $\pm$ 0,08	1,17 $\pm$ 0,08	0,92 $\pm$ 0,1	<3,125

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test à la phénanthroline a montré que les deux extraits de *R. tuberculata* possèdent un pouvoir réducteur notable, avec une absorbance qui augmente de manière dose-dépendante. À la concentration de 200  $\mu\text{g/mL}$ , l'extrait hydro-méthanolique (EMet) a enregistré une absorbance de  $1,4 \pm 0,06$ , tandis que l'absorbance de

l'extrait aqueux (EAQ) a atteint  $1,07 \pm 0,1$ , contre  $0,92 \pm 0,1$  pour le BHT. Cela indique que, à forte concentration, EMet a réduit plus effectivement les ions du fer. Cette capacité réductrice que montre les extraits de la plante étudiée semble être statistiquement plus importante que celle exhibée par l'antioxydant standard. En termes de capacité réductrice, la valeur de A0.5 était de  $14,71 \mu\text{g/ml}$  pour EMet et  $21,63 \mu\text{g/ml}$  pour EAQ, qui sont significativement supérieures à celle de BHT ( $3,125 \mu\text{g/ml}$ ), ce qui peut confirmer la puissance antioxydante de la molécule de référence en comparaison avec nos extraits.

Toutefois, Ces résultats démontrent clairement la capacité réductrice des extraits, notamment celle de l'extrait hydro-méthanolique.

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante de *Ruta tuberculata*, ni d'une espèce appartenant à la même famille, en utilisant le réactif de la phénanthroline.

## 8 Activité photo-protectrice *in vitro*

Le facteur de la protection solaire (SPF) des extraits bruts du *R. tuberculata* a été déterminé par une analyse spectrophotométrique selon la méthode décrite par **Mansur *et al.*, (1986)**, en se basant sur les absorbances caractéristiques de différentes dilutions, de chaque échantillon testé, mesurées dans l'intervalle de 290 à 320 nm (UV-vis B) chaque 5 nm. Au fait, les catégories de protection ont été estimées en se basant sur les recommandations de la commission européenne sur les produits antisolaires en fonction de leurs SPF mesurées.

Les tableaux 6 et 7 regroupent les valeurs de SPF recordées par les différentes concentrations testées des extraits aqueux et hydro-méthanolique de notre plante *R. tuberculata*, respectivement.

**Tableau 6.** Valeurs SPF enregistrées *in vitro* par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ruta tuberculata* par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD.

Concentration (mg/ml)	SPF (Abs1)	SPF (Abs2)	SPF Moyenne
4	34,8	34,72	<b>34,76<math>\pm</math>0,06</b>
2	33,29	32,91	<b>33,1<math>\pm</math>0,27</b>

<b>0,5</b>	24,25	23,97	<b>24,11±0,2</b>
<b>0,25</b>	14,33	14,28	<b>14,3±0,04</b>
<b>0,125</b>	9,12	8,42	<b>8,77±0,49</b>
<b>0,0625</b>	5,52	5,57	<b>5,55±0,04</b>

Les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux et hydro-méthanolique de la plante *Ruta tuberculata* possèdent une capacité notable à absorber les rayons ultraviolets, notamment à leurs concentrations les plus élevées testées. La valeur la plus élevée du SPF a été enregistrée Par l'EMet à la concentration de 4 mg/ml est de l'ordre de  $35,29 \pm 0,54$ , suivie de  $33,29 \pm 0,08$  à sa dose 2 mg/ml et  $33,35 \pm 0,04$  pour la dose 0,5 mg/ml. Alors que, Les valeurs du SPF enregistrées par l'EAQ varient entre  $5,55 \pm 0,04$  et  $34,76 \pm 0,06$  pour sa gamme de différentes concentrations. Cela nous a permis de suggérer la relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration des extraits examinés et leurs valeurs du SPF obtenues. En se basant sur la recommandation de la Commission Européenne (2006/647/CE), les extraits EMet et EAQ à partir de leur concentration 1mg/ml peuvent être classé dans la catégorie des produits antisolaires à haute protection (SPF entre 30 et 50). De plus, les faibles écarts-types observés confirment la fiabilité et la reproductibilité des données expérimentales. Aux concentrations élevées (4 et 2 mg/ml), aucune différence significative n'a été observée entre les deux extraits analysés, ce qui peut s'expliquer par la richesse de notre plante en composés actifs solubles dans les différents systèmes polaire et de polarité moyenne utilisés, comme les mono-phénols tels que les acides phénoliques et les dérivés de coumarines, ainsi que les polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les hydrolysables tanins, reconnus par leurs propriétés photo-protectrices et jouent par conséquent un rôle crucial dans la protection de la peau contre les rayonnements UV. Ces résultats suggèrent que la plante *Ruta tuberculata* pourrait être utilisé comme ingrédient naturel dans les produits de protection solaire, surtout à des concentrations élevées.

**Tableau 7.** Valeurs du SPF enregistrées *in vitro* par les différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de *Ruta tuberculata* par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD.

<b>Concentration mg/ml</b>	<b>Somme SPF(Ab1)</b>	<b>Somme SPF(Ab2)</b>	<b>SPF Moyenne</b>
<b>4</b>	35,67	34,91	<b>35,29±0,54</b>
<b>2</b>	33,86	33,97	<b>33,92±0,08</b>

<b>0,5</b>	33,32	33,38	<b>33,35±0,04</b>
<b>0,25</b>	28,31	28,5	<b>28,41±0,13</b>
<b>0,125</b>	16,96	16,93	<b>16,94±0,02</b>
<b>0,0625</b>	11,56	11,5	<b>11,53±0,04</b>

Au fait, aucune investigation n'a été rapportée sur l'activité photo-protectrice pour toutes les espèces du genre *Ruta*, à l'exception de l'espèce *R. graveolens* L. qui présentait un effet photo-protecteur excellent avec une valeur SPF de  $5.34 \pm 0.1$  correspondants à la dose 200 µg/ml de son extrait méthanolique (Ce fali *et al.*, 2019). Dans le présent travail, l'huile de thé et celle de réglisse ont été testées, en les utilisant entant que des références de comparaison. Les résultats obtenus de ces deux huiles ont été résumés dans les tableaux 8 et 9, respectivement.

**Tableau 8.** Valeurs du SPF enregistrées *in vitro* par les différentes concentrations de l'huile de thé par transmittance spectrale. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD.

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Somme SPF(Ab1)</b>	<b>Somme SPF(Ab2)</b>	<b>SPF Moyenne</b>
<b>4</b>	3,21	3,32	<b>3,27±0,08</b>
<b>2</b>	2,82	2,93	<b>2,87±0,07</b>
<b>0,5</b>	15,24	2,88	<b>9,06±8,74</b>
<b>0,25</b>	2,79	2,91	<b>2,85±0,09</b>
<b>0,125</b>	3,29	2,85	<b>3,07±0,31</b>
<b>0,0625</b>	2,84	4,47	<b>3,66±1,15</b>

Les valeurs du SPF calculées pour l'huile de thé ont montré une efficacité relativement faible, avec des résultats variants entre 2,85 et 9,06, en fonction de la concentration. La valeur la plus élevée a été observée à 0,5 mg/ml (9,06), tandis que la plus basse a été notée à 0,25 mg/ml (2,85). En effet, aucune corrélation claire entre la concentration de cette huile et son efficacité n'a été observée. Selon la classification de la Commission européenne (2006/647/CE), toutes ses valeurs SPF se situent dans la catégorie des produits de faible protection ( $SPF < 15$ ).

**Tableau 9.** Valeurs du SPF enregistrées par les différentes concentrations de l'huile de Réglisse. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD.

Concentration (mg/ml)	Somme SPF(Ab1)	Somme SPF(Ab2)	SPF Moyenne
<b>4</b>	5,08	4,93	<b>5<math>\pm</math>0,11</b>
<b>2</b>	4,22	3,75	<b>3,98<math>\pm</math>0,33</b>
<b>0,5</b>	3,18	3,12	<b>3,15<math>\pm</math>0,05</b>
<b>0,25</b>	2,88	2,89	<b>2,88<math>\pm</math>0,01</b>
<b>0,125</b>	2,74	2,91	<b>2,82<math>\pm</math>0,12</b>
<b>0,0625</b>	2,57	2,57	<b>2,57<math>\pm</math>0</b>

Les valeurs de SPF obtenues pour l'huile de Réglisse varient de  $2,57 \pm 0$  à  $5 \pm 0,11$ , avec une valeur maximale observée à 4 mg/ml. Une tendance décroissante est notée avec la diminution des concentrations, traduisant une corrélation partielle entre la concentration et l'efficacité photo-protectrice, bien que l'activité reste globalement faible. Selon la classification de la Commission européenne (2006/647/CE), toutes les valeurs restent dans la catégorie de faible protection ( $\text{SPF} < 15$ ), ces résultats soulignent une fois de plus la supériorité des extraits de *Ruta tuberculata* face aux huiles végétales testées, en termes d'écran total contre les UV. En ensemble, les deux extraits représentent des sources naturelles prometteuses pour le développement de produits de protection solaire, avec une légère supériorité de l'extrait hydro- méthanolique.

Les rayons UV (ultraviolets) jouent un rôle central dans la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau cutané, entraînant des dommages cellulaires et tissulaires. En effet, lorsque la peau est exposée aux UV (UVA et UVB), ceux-ci pénètrent les différentes couches épidermiques et dermiques, interagissant avec des molécules photosensibles comme la mélanine, les porphyrines ou même l'ADN (Pandel *et al.*, 2013). Cette interaction induit alors la production de radicaux libres, notamment le superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et le radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ), via des réactions photochimiques et l'activation de voies enzymatiques impliquant nombreuses enzymes parmi lesquelles la NADPH oxydase (Nikkels *et al.*, 2005). Ces ERO déclenchent un stress oxydatif majeur au niveau de la peau, altérant les lipides membranaires par peroxydation, fragmentant les protéines structurelles (collagène, élastine) et provoquant des mutations de

l'ADN, telles que la formation de 8-oxo-7,8-dihydro-2'-désoxyguanosine (8-oxo-dG), un marqueur clé des lésions oxydatives (**Cadet et Wagner, 2013**) .

Ces dommages moléculaires se traduisent cliniquement par un photo-vieillessement caractérisé par une perte d'élasticité, des rides profondes et une dyschromie, en raison de la dégradation accrue de la matrice extracellulaire par les métalloprotéinases (MMP-1, MMP-3) activées par les UV (**Fisher *et al.*, 2002**). Par ailleurs, l'inflammation chronique induite par les ERO via la voie NF- $\kappa$ B favorise la libération de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ ), exacerbant les réponses immunitaires locales et supprimant la fonction des cellules de Langerhans, augmentant ainsi le risque de carcinogenèse cutanée (**Bachelor et Bowden, 2004**). Bien que la peau dispose de mécanismes antioxydants endogènes (SOD, catalase, glutathion), une exposition répétée aux UV submerge ces défenses, conduisant à des altérations irréversibles. Des stratégies de photoprotection combinant écrans solaires à large spectre et antioxydants topiques (vitamine C, E, polyphénols) et des huiles végétales sont donc essentielles pour atténuer ces effets (**Nichols et Katiyar, 2010**).

En plus des mécanismes de défense naturels de la peau, les métabolites secondaires végétaux, notamment les acides phénoliques (acide férulique, acide caféique) et les flavonoïdes (quercétine, kaempférol, catéchines), jouent un rôle clé dans la protection contre les dommages induits par les UV. Ces composés agissent comme de puissants antioxydants en neutralisant directement les ERO et en régénérant d'autres molécules antioxydantes comme la vitamine E (**Nichols et Katiyar, 2010**). Ils inhibent également l'activation des MMP et réduisent l'inflammation en modulant les voies de signalisation pro-inflammatoires (NF- $\kappa$ B, MAPK), limitant ainsi le photo-vieillessement (**Cristina *et al.*, 2016**). De plus, certains flavonoïdes comme l'épigallocatechine gallate (EGCG) du thé vert stimulent la réparation de l'ADN et induisent l'apoptose des cellules précancéreuses, offrant une protection contre les carcinomes cutanés (**Afaq *et al.*, 2002**). Leur application topique ou leur consommation par l'alimentation (fruits, légumes, thé) renforce donc les défenses cutanées, combinant activité photoprotectrice, anti-âge et anticancéreuse (**Nichols et Katiyar 2010**).



## 9 Activité antioxydante *in vivo*

L'acétamipride est un insecticide néonicotinoïde qui agit comme agoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine, utilisé comme insecticide dans les cultures et les légumes-feuilles, ainsi que pour lutter contre les puces sur les chiens et les chats. L'utilisation généralisée de l'acétamipride entraîne l'entrée du pesticide dans la chaîne alimentaire, qui à son tour provoque une toxicité pour l'homme et l'animal (Ibrahim *et al.*, 2020).

L'acétamipride est rapidement et presque complètement absorbé et est largement distribué dans les tissus, ce qui suggère une grande variété de symptômes cliniques possibles associés à l'empoisonnement par ce pesticide (Ibrahim *et al.*, 2020). En effet, L'acétamipride induit un stress oxydatif qui entraîne une diminution des enzymes antioxydantes et une augmentation des niveaux de malondialdéhyde et d'oxyde nitrique (NO), ce qui contribue à endommager les tissus (Ibrahim *et al.*, 2020).

Dans le présent travail, l'effet antioxydant possible de l'extrait EMet de *R. tuberculata* a été investigué à différentes doses chez les rats exposés à l'acétamipride, en comparaison au groupe co-traiter par la vitamine C et un groupe témoin sain.

### 9.1 Observation des signes de la toxicité induite par le pesticide

La surveillance des symptômes de la toxicité induite par l'acétamipride a été faite pendant les 15 jours du traitement, en surveillant également la mortalité et le changement en comportement général des animaux de tous les groupes. Durant cette étude, on n'a constaté aucun signe d'intoxication sur le groupe témoin (G1) qui a reçu uniquement l'eau physiologique Na Cl 0,9%. Les animaux de ce groupe étaient sains en présentant un comportement normal avec une consommation alimentaire et hydrique normale.

En comparaison avec le groupe 2, certains signes cliniques ont été observés chez les rats de reste des groupes notamment le groupe 1, ayant reçu le pesticide acétamipride avec du NaCl 0,9%. Ces manifestations se traduit par un tremblement, une léthargie, une tachypnée ou dyspnée pendant le 1<sup>er</sup> jour d'administration du pesticide. Ensuite, une salivation, une convulsion, une diarrhée massive avec une déshydratation et une anorexie ont été noté clairement chez la plupart des rats de ce groupe atteint.

Par contre, la surveillance des groupes traités par les différentes doses de l'extrait EMet du *R. tuberculata* (G 4-6), nous a permis d'avoir noté l'apparition des signes cliniques

principalement la diarrhée pendant les premiers cinq jours, pour être disparue le reste de la période d'étude. Ce symptôme a également été observé même chez les animaux du groupe co-traité par la vitamine C (G3). En effet, la prise des manifestations liées à l'altération du bien-être de l'animal pour ces groupes a été faite par rapport aux lots témoins sain (G1) et l'autre atteint (G2).

Cependant, malgré ces effets transitoires, aucun décès n'a été constatée chez tous les groupes co-traités. Ces résultats suggèrent que notre extrait a exercé un effet protecteur contre la toxicité du pesticide testé.

## 9.2 Variation pondérale

Au cours de l'expérimentation *in vivo* qui dure 15 jours sur les six groupes de rats *Wister*, la surveillance de la variation du poids a été faite avant et le 1<sup>er</sup> jour, le 3<sup>ème</sup> jour, le 5<sup>ème</sup> jour, le 10<sup>ème</sup> jour et le 15<sup>ème</sup> jour après le prétraitement des animaux. Les data obtenu sont montré une augmentation progressive de la masse corporelle dans tous les groupes, en comparaison avec le groupe témoin sain (G1). En revanche, le groupe atteint (G2) a présenté une croissance soit faible de 13,75 g. Le groupe 2 (G3), traité avec la combinaison (le pesticide et vitamine C), a montré la plus forte croissance, passant de 194,75 g à 242,5 g, soit de taux d'augmentation correspond à 47,75 g). Cela peut refléter un effet protecteur important de la vitamine C contre la toxicité induite par l'acétamipride.

**Tableau 10.** Effet du pesticide acétamipride et de différents traitements sur la variation du poids moyen des rats au cours de l'étude *in vivo*.

Groupe	Traitement	1er jour	5ème jour	10ème jour	15ème jour
1	NaCl 0,9 %	163±7,8	174,4±10,6	184,8±14,2	179,8±35,8
2	PST+ NaCl 0,9 %	200,25±9,5	210±14,2	219,75±4,9	234±14,1
3	PST+ VIT C	194,75±8,2	218±12,6	203,75±39,7	242,5±12,7
4	PST+75mg/kg/jr EMet	197,25±5,5	204,75±7,5	217,193±7,1	232±3,9
5	PST+150mg/kg/jr EMet	184±9,01	191,25±11,8	198,25±13,07	206,5±12,6
6	PST+300mg/kg/jr EMet	178,25±5,6	189±3,7	198,25±7,8	216,75±7,2

Comparé aux autres doses de EMet de *R. tuberculata*, la dose 75mg/kg/jr administrée au groupe 4 (G4), ayant reçu préalablement le pesticide acétamipride, a également montré

une croissance notable de 197,25 g à 232 g (+24,75 g). Ce qui peut indiquer un effet antioxydant modéré. En revanche, le groupe 5 et 6 (G5 et G6), traités avec 150 et 300 mg/kg/jr d'extrait testé, ont reconnu une croissance significativement plus importante correspondante à une augmentation du poids avec 38,5 g, une amélioration qui était statistiquement similaire à celle exhibée par la vitamine C.

Ces résultats ont renforcé l'hypothèse que les traitements testés ont un rôle protecteur contre le stress oxydant induit par l'acétamipride. Ce qui nous permis de suggérer que l'extrait méthanolique de *Ruta*, en particulier à une concentration de 300mg/kg/jr, possède un potentiel antioxydant *in vivo* comparable à celui de la vitamine C face à la toxicité induite par le pesticide testé.

# Conclusion

## Conclusion

Cette étude démontre que l'extrait polaire de *R. tuberculata* possède un potentiel antioxydant remarquable, ouvrant des perspectives thérapeutiques prometteuses. Ses parties aériennes pourraient constituer une ressource naturelle pour prévenir les maladies et les affections liées au stress oxydatif, grâce à ses composés aux activités antioxydantes et anti-inflammatoires.

Les analyses phytochimiques confirment la présence abondante de métabolites secondaires dans les extraits étudiés tels que les polyphénols et les flavonoïdes, notamment de classe flavonol. Pharmacologiquement, les extraits polaires notamment l'extrait méthanolique de la partie aérienne ont révélé une activité antioxydante supérieure à l'extrait aqueux, attribuée à leur richesse en flavonoïdes, flavonol.

Les résultats de notre étude montrent que l'espèce *R. tuberculata* semble posséder une effet photo-protecteur intéressant, probablement lié à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes aux propriétés antioxydantes. Cette capacité à atténuer les effets du stress oxydatif induit par les rayons UV renforce la pertinence de son usage traditionnel.

En effet, ces propriétés justifient pleinement l'incorporation de cette plante dans la médecine traditionnelle algérienne, notamment dans la prévention ou le traitement de troubles cutanés liés à l'exposition prolongée au soleil. Ces données ouvrent ainsi la voie à une valorisation thérapeutique et cosmétique de *Ruta tuberculata*, à travers des formulations naturelles à visée protectrice.

Cependant, face aux effets secondaires des traitements synthétiques (ulcères, insuffisance rénale), *R. tuberculata* émerge comme une alternative naturelle, avec des propriétés antioxydantes et photo-protectrices, qui montre aussi la meilleure activité antiradicalaire.

Il nous paraît important que cette plante, riche en molécules thérapeutiques, mérite des recherches complémentaires pour valider son intégration en pharmacologie moderne.

Des investigations supplémentaires et approfondies devraient être envisagées dont le but est de :

- Approfondir l'identification des composés bioactifs.
- Évaluer *in vitro* son potentiel antioxydant en utilisant d'autres approches et déterminant d'autres mécanismes antioxydants possibles de notre plante.
- Explorer ses applications contre les maladies cutanées en exploitant des modèles expérimentaux *in vivo*.

# **Références**

## **Bibiliographiques**

## Références Bibliographiques

- Abaul, Jacqueline, Émile Philogène, Paul Bourgeois, Christiane Poupat, Alain Ahond, et Pierre Potier. 1994. « Contribution À La Connaissance Des Rutacées Américaines: Étude Des Feuilles de *Triphasia Trifolia* ». *Journal of Natural Products* 57 (6): 846-48. <https://doi.org/10.1021/np50108a028>.
- Abdelgaleil, S.A.M., M.M.G. Saad, N.R. Ariefta, et Y. Shiono. 2020. « Antimicrobial and Phytotoxic Activities of Secondary Metabolites from *Haplophyllum Tuberculatum* and *Chrysanthemum Coronarium* ». *South African Journal of Botany* 128 (janvier):35-41. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.005>.
- Afaq, Farukh, Vaqar M Adhami, Nihal Ahmad, et Hasan Mukhtar. 2002. « Botanical Antioxidants for Chemoprevention of Photocarcinogenesis ». *Frontiers in Bioscience* 7 (1-3): d784. <https://doi.org/10.2741/afaq>.
- Agour, Abdelkrim, Ibrahim Mssillou, Imane Es-safi, Raffaele Conte, Hamza Mechchate, Meryem Slighoua, Fatima Ez-Zahra Amrati, et al. 2022. « The Antioxidant, Analgesic, Anti-Inflammatory, and Wound Healing Activities of *Haplophyllum tuberculatum* (Forsskal) A. Juss Aqueous and Ethanolic Extract ». *Life* 12 (10): 1553. <https://doi.org/10.3390/life12101553>.
- Ali, M. B., A. H. Mohamed, et A.K. Bashir M. 1992. « Pharmacologica Investigation of *Haplophyllum Tuberculatum* ». *International Journal of Pharmacognosy* 30 (1): 39-45. <https://doi.org/10.3109/13880209209054628>.
- Al-Rehaily, Adnan Jathlan, Saleh Ibrahim Alqasoumi, Hasan Soliman Yusufoglu, Mohammed Abdulaziz Al-Yahya, Betul Demirci, Nurhayat Tabanca, David Earl Wedge, et al. 2014. « Chemical Composition and Biological Activity of *Haplophyllum Tuberculatum* Juss. Essential Oil ». *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 17 (3): 452-59. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.895211>.
- Al-Yahya, Mohammed A., Maher M. El-Domiaty, Ibrahim A. Al-Meshal, Mansour S. Al-Said, et Farouk S. El-Ferally. 1991. « (+)-Dihydroperfammine: An Alkaloid from *Haplophyllum Tuberculatum* ». *International Journal of Pharmacognosy* 29 (4): 268-72. <https://doi.org/10.3109/13880209109082895>.
- Antoine, Augustin, et dorvaultFraricois. 2017. « Le dictionnaire de l'Académie nationale de Pharmacie ». In *Le dictionnaire de l'Académie nationale de Pharmacie*. <https://acadpharm.app.unistra.fr/w/Rutaceae>.
- Aziz, A., M. A. Sukari, M. Rahmani, M. Kitajima, Aimi N., et N.J. Ahpandi. 2010. « COUMARINS FROM *MURRAYA PANICULATA* (RUTACEAE) ». *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2010.
- Bekheet, S. A., et M. S. Hanafy. 2011. « Towards Sex Determination of Date Palm ». In *Date Palm Biotechnology*, édité par Shri Mohan Jain, Jameel M. Al-Khayri, et Dennis V. Johnson, 551-66. Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1318-5\\_26](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1318-5_26).
- Bouaziz, Mohamed, AbdelhafidhDhouib, Slim Loukil, Makki Boukhris, et Sami Sayadi. s. d. « Polyphenols Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Some Wild Plants Collected from the South of Tunisia ».
- Bouchoukh, Imane, Tahar Hazmoune, Mokhtar Boudelaa, Chawki Bensouici, et Amar Zellagui. 2019. « Anticholinesterase and Antioxidant Activities of Foliar Extract from a Tropical Species: *Psidium Guajava* L. (Myrtaceae) Grown in Algeria ». *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* 32 (3): 160-67. <https://doi.org/10.2478/cipms-2019-0029>.
- Bourgou, S., R. SerairiBeji, F. Medini, R. Ksouri, S. El Adib, A. Asdadi, S. Slim, et F. Ben Jeddi. 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* 28 (avril). <https://www.jnsiences.org/agri-biotech/36-volume-28/159-effet-du-solvant-et-de-la-methode-d-extraction-sur-la-teneur-en-composes-phenoliques-et-les-potentialites-antioxydantes-d-euphorbia-helioscopia.html>.



## Références Bibliographiques

- Abaul, Jacqueline, Émile Philogène, Paul Bourgeois, Christiane Poupat, Alain Ahond, et Pierre Potier. 1994. « Contribution À La Connaissance Des Rutacées Américaines: Étude Des Feuilles de *Triphasia Trifolia* ». *Journal of Natural Products* 57 (6): 846-48. <https://doi.org/10.1021/np50108a028>.
- Abdelgaleil, S.A.M., M.M.G. Saad, N.R. Ariefta, et Y. Shiono. 2020. « Antimicrobial and Phytotoxic Activities of Secondary Metabolites from *Haplophyllum Tuberculatum* and *Chrysanthemum Coronarium* ». *South African Journal of Botany* 128 (janvier):35-41. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.005>.
- Afaq, Farrukh, Vaqar M Adhami, Nihal Ahmad, et Hasan Mukhtar. 2002. « Botanical Antioxidants for Chemoprevention of Photocarcinogenesis ». *Frontiers in Bioscience* 7 (1-3): d784. <https://doi.org/10.2741/afaq>.
- Agour, Abdelkrim, Ibrahim Mssillou, Imane Es-safi, Raffaele Conte, Hamza Mechchate, Meryem Slighoua, Fatima Ez-Zahra Amrati, et al. 2022. « The Antioxidant, Analgesic, Anti-Inflammatory, and Wound Healing Activities of *Haplophyllum tuberculatum* (Forsskal) A. Juss Aqueous and Ethanolic Extract ». *Life* 12 (10): 1553. <https://doi.org/10.3390/life12101553>.
- Ali, M. B., A. H. Mohamed, et A.K. Bashir M. 1992. « Pharmacologica Investigation of *Haplophyllum Tuberculatum* ». *International Journal of Pharmacognosy* 30 (1): 39-45. <https://doi.org/10.3109/13880209209054628>.
- Al-Rehaily, Adnan Jathlan, Saleh Ibrahim Alqasoumi, Hasan Soliman Yusufoglu, Mohammed Abdulaziz Al-Yahya, Betul Demirci, Nurhayat Tabanca, David Earl Wedge, et al. 2014. « Chemical Composition and Biological Activity of *Haplophyllum Tuberculatum* Juss. Essential Oil ». *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 17 (3): 452-59. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.895211>.
- Al-Yahya, Mohammed A., Maher M. El-Domiaty, Ibrahim A. Al-Meshal, Mansour S. Al-Said, et Farouk S. El-Ferally. 1991. « (+)-Dihydroperfammine: An Alkaloid from *Haplophyllum Tuberculatum* ». *International Journal of Pharmacognosy* 29 (4): 268-72. <https://doi.org/10.3109/13880209109082895>.
- Antoine, Augustin, et dorvault Fraricois. 2017. « Le dictionnaire de l'Académie nationale de Pharmacie ». In *Le dictionnaire de l'Académie nationale de Pharmacie*. <https://acadpharm.app.unistra.fr/w/Rutaceae>.
- Aziz, A., M. A. Sukari, M. Rahmani, M. Kitajima, Aimi N., et N.J. Ahpandi. 2010. « COUMARINS FROM MURRAYA PANICULATA (RUTACEAE) ». *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2010.
- Bekheet, S. A., et M. S. Hanafy. 2011. « Towards Sex Determination of Date Palm ». In *Date Palm Biotechnology*, édité par Shri Mohan Jain, Jameel M. Al-Khayri, et Dennis V. Johnson, 551-66. Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1318-5\\_26](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1318-5_26).
- Bouaziz, Mohamed, Abdelhafidh Dhoub, Slim Loukil, Makki Boukhris, et Sami Sayadi. s. d. « Polyphenols Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Some Wild Plants Collected from the South of Tunisia ».
- Bouchoukh, Imane, Tahar Hazmoune, Mokhtar Boudelaa, Chawki Bensouici, et Amar Zellagui. 2019. « Anticholinesterase and Antioxidant Activities of Foliar Extract from a Tropical Species: *Psidium Guajava* L. (Myrtaceae) Grown in Algeria ». *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* 32 (3): 160-67. <https://doi.org/10.2478/cipms-2019-0029>.
- Bourgou, S., R. Serairi Beji, F. Medini, R. Ksouri, S. El Adib, A. Asdadi, S. Slim, et F. Ben Jeddi. 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* 28 (avril). <https://www.jnsiences.org/agri-biotech/36-volume-28/159-effet-du-solvant-et-de-la-methode-d-extraction-sur-la-teneur-en-composes-phenoliques-et-les-potentialites-antioxydantes-d-euphorbia-helioscopia.html>.

## Références Bibliographiques

- Cadet, Jean, et J. Richard Wagner. 2013. « DNA Base Damage by Reactive Oxygen Species, Oxidizing Agents, and UV Radiation | Request PDF ». 2013. [https://www.researchgate.net/publication/235398768\\_DNA\\_Base\\_Damage\\_by\\_Reactive\\_Oxygen\\_Species\\_Oxidizing\\_Agents\\_and\\_UV\\_Radiation](https://www.researchgate.net/publication/235398768_DNA_Base_Damage_by_Reactive_Oxygen_Species_Oxidizing_Agents_and_UV_Radiation).
- Chaibeddra, Zineb, Nasser Baaziz, et Amar Zellagui. 2016a. « Ruta Tuberculata Forsk: Phytochemical Screening, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Crude Coumarins and Alkaloids Extracts ».
- Chase, Mark W, Cynthia M Morton, et Jacquelyn A Kallunki. 1999. « Phylogenetic Relationships of Rutaceae: A Cladistic Analysis of the Subfamilies Using Evidence from RBC and ATP Sequence Variation ». *American Journal of Botany* 86 (8): 1191-99. <https://doi.org/10.2307/2656983>.
- Daenen, Kristien, Asmin Andries, Djalila Mekahli, Ann Van Schepdael, François Jouret, et Bert Bammens. 2019a. « Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease ». *Pediatric Nephrology* 34 (6): 975-91. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-4005-4>.
- Daoudi, A, H Hrouk, R Belaidi, I Slimani, J Ibijbijen, et L Nassiri. 2016. « Valorisation de Ruta montana et Ruta chalepensis: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien Valorization of Ruta montana and Ruta chalepensis: Ethnobotanical study, phytochemical screening and Antibacterial activity ».
- Deghima, Amirouche, Nadjat Righi, Noelia Rosales-Conrado, María Eugenia León-González, Esther Gómez-Mejía, Yolanda Madrid, Faiza Baali, et Fatiha Bedjou. 2020. « Bioactive Polyphenols from Ranunculus Macrophyllus Desf. Roots: Quantification, Identification and Antioxidant Activity ». *South African Journal of Botany* 132 (août):204-14. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.036>.
- Dutra, Elizângela Abreu, Daniella Almança Gonçalves Da Costa Oliveira, Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann, et Maria Inês Rocha Miritello Santoro. 2004. « Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Sunscreens by Ultraviolet Spectrophotometry ». *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 40 (3): 381-85. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300014>.
- Fatima, CHAAIb Kouri. 2004. « Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. Fagara zanthoxyloides L.) (Rutaceae) ». Thèse de doctorat, Genève: Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. <https://core.ac.uk/download/pdf/18168102.pdf>.
- Fisher, Gary J, Sewon Kang, James Varani, Yinsheng Wan, et John Voorhees. 2002. « Mechanisms of Photoaging and Chronological Skin Aging », 2002.
- Foster, Steven et James A ,Duke. 2014. « Peterson Field Guide To Medicinal Plants & Herbs Of Eastern & Central N. America ». 8 avril 2014. <https://www.amazon.com/Peterson-Medicinal-Eastern-Central-America/dp/0547943989>.
- Genestra, Marcelo. 2007. « Oxy Radical, Redox-Sensitive Signalling Cascades and Antioxidants ». *Cellular Signalling* 19 (9): 1807-19. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.009>.
- Ghimire, Bimal Kumar, Erik J. Sacks, Seung Hyun Kim, Chang Yeon Yu, et Ill Min Chung. 2021. « Profiling of Phenolic Compounds Composition, Morphological Traits, and Antioxidant Activity of Miscanthus Sacchariflorus L. Accessions ». *Agronomy* 11 (2): 243. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020243>.
- Hadjadj, Soumia, Zahia Bayoussef, Hanane Beggat, Zohra Bouhafs, Yasmina ,Boukaka, Insaf Amina Khaldi, Sara Mimouni, Fatma Sayah, et Meriem Te. 2024. « Ethnobotanical Study and Phytochemical Screening of Six Medicinal Plants Used in Traditional Medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (Area of Ouargla) ». *ResearchGate*, décembre, 11. <https://doi.org/10.5897/JMPR2015.5932>.
- Haleng et al.,. 2007. « Le stress oxydant ». (1) *Médecin-biologiste, Chef de Laboratoire Adjoint*, (5) *Professeur, Service de Chimie Médicale, CHU Sart Tilman, Liège*. (2) *Collaborateur scientifique*, (3)

## Références Bibliographiques

- Professeur, Service de Chirurgie Cardio-Vasculaire, CHU Sart Tilman, Liège. (4) Professeur, Service de Toxicologie clinique, CHU Sart Tilman, Liège. 62 (10): 628-38.
- Halliwell, Barry, et John M. C. Gutteridge. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hamdi, A., K. Majouli, G. Flamini, B. Marzouk, Z. Marzouk, et Y.V. Heyden. 2017. « Antioxidant and Anticandidal Activities of the Tunisian Haplophyllum Tuberculatum (Forssk.) A. Juss. Essential Oils ». *South African Journal of Botany* 112 (septembre):210-14. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.026>.
- Hamdi, Assia, Kaouther Majouli, Amal Abdelhamid, Belsem Marzouk, Hèla Belghith, Imed Chraief, Abderrahman Bouraoui, Zohra Marzouk, et Yvan Vander Heyden. 2018. « Pharmacological Activities of the Organic Extracts and Fatty Acid Composition of the Petroleum Ether Extract from Haplophyllum Tuberculatum Leaves ». *Journal of Ethnopharmacology* 216 (avril):97-103. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.012>.
- Hamdi, Assia, Johan Viane, Mohamed Ali Mahjoub, Kaouther Majouli, Mahmoud Hussein Hefni Gad, Mourad Kharbach, Kristiaan Demeyer, Zohra Marzouk, et Yvan Vander Heyden. 2018. « Polyphenolic contents, antioxidant activities and UPLC–ESI–MS analysis of *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves extracts ». *International Journal of Biological Macromolecules* 106 (janvier):1071-79. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.107>.
- Hwang, Kyung-A, Jeong Eun Kwon, YooHun Noh, BongKyun Park, Yong Joon Jeong, Sun-Mee Lee, Se-Young Kim, InHye Kim, et Se Chan Kang. 2018. « Effects of *Zanthoxylum piperitum* ethanol extract on osteoarthritis inflammation and pain ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 105 (septembre):481-90. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.109>.
- Ibrahim, Muhammad, et Fazli Hadi. 2022. « An Updated Review on the Antioxidant Potential of the Rutaceae Family ». *Phytopharmacology Research Journal* 1 (3): 24-31.
- Kara Ali, Wahiba, Safia Ihoual, et Nacira Abidli. 2016. « Antioxidant and MDR Reversal Activity in Resistant Human Ovarian Cancer Cells of Methanolic Extract from Ruta Montana Located in the North of Algeria ».
- Khadhri, Ayda, Intidhar Bouali, Samia Belkhir, Rabhi Mokded, Samira Smiti, Pedro Falé, Maria Eduarda M. Araújo, et Maria Luisa M. Serralheiro. 2017. « In Vitro Digestion, Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Two Species of Ruta : *Ruta Chalepensis* and *Ruta Montana* ». *Pharmaceutical Biology* 55 (1): 101-7. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1230634>.
- Khlifi, Daycem. 2013. « Composition and Anti-Oxidant, Anti-Cancer and Anti-Inflammatory Activities of Artemisia Herba-Alba, Ruta Chalepensis L. and Peganum Harmala L. » *Food and Chemical Toxicology*.
- Mahmoud, Abdelhalim Babiker, Ombeline Danton, Marcel Kaiser, Sohee Han, Aitor Moreno, Shereen Abd Algaffar, Sami Khalid, Won Keun Oh, Matthias Hamburger, et Pascal Mäser. 2020. « Lignans, Amides, and Saponins from Haplophyllum Tuberculatum and Their Antiprotozoal Activity ». *Molecules* 25 (12): 2825. <https://doi.org/10.3390/molecules25122825>.
- Müller, Lars, Susanne Gnoyke, Anne M. Popken, et Volker Böhm. 2010. « Antioxidant Capacity and Related Parameters of Different Fruit Formulations ». *LWT - Food Science and Technology* 43 (6): 992-99. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.004>.
- Nichols, Joi A., et Santosh K. Katiyar. 2010. « Skin Photoprotection by Natural Polyphenols: Anti-Inflammatory, Antioxidant and DNA Repair Mechanisms ». *Archives of Dermatological Research* 302 (2): 71-83. <https://doi.org/10.1007/s00403-009-1001-3>.
- NIKKELS, A.F., C. PIÉRARD-FRANCHIMONT, et G.E. PIÉRARD. 2005. « PHOTOBIOLOGIE MOLÉCULAIRE », 2005.

## Références Bibliographiques

- Panda, Monalisa, Sanjeet Kumar, et Gyanranjan Mahalik. 2019. « An overview of medicinal plants of the family Rutaceae as a source of complementary therapeutics ». 2019.  
[https://www.researchgate.net/publication/353549188\\_An\\_overview\\_of\\_medicinal\\_plants\\_of\\_the\\_family\\_Rutaceae\\_as\\_a\\_source\\_of\\_complementary\\_therapeutics](https://www.researchgate.net/publication/353549188_An_overview_of_medicinal_plants_of_the_family_Rutaceae_as_a_source_of_complementary_therapeutics).
- Pandel, Ruža, Borut Poljšak, Aleksandar Godic, et Raja Dahmane. 2013. « Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention ». *ISRN Dermatology* 2013 (septembre):930164.  
<https://doi.org/10.1155/2013/930164>.
- Papaccio, Federica, Andrea D'Arino, Silvia Caputo, et Barbara Bellei. 2022. « Focus on the Contribution of Oxidative Stress in Skin Aging ». *Antioxidants* 11 (6): 1121.  
<https://doi.org/10.3390/antiox11061121>.
- Pham-Huy, Lien Ai, Hua He, et Chuong Pham-Huy. 2008. « Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health ». *International Journal of Biomedical Science : IJBS* 4 (2): 89-96.
- Pizzino, Gabriele, Natasha Irrera, Mariapaola Cucinotta, Giovanni Pallio, Federica Mannino, Vincenzo Arcoraci, Francesco Squadrito, Domenica Altavilla, et Alessandra Bitto. 2017. « Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health - Pizzino - 2017 - Oxidative Medicine and Cellular Longevity - Wiley Online Library ». 2017.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2017/8416763>.
- Pollio, A., A. De Natale, E. Appetiti, G. Aliotta, et A. Touwaide. 2008. « Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices ». *Journal of Ethnopharmacology* 116 (3): 469-82.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.12.013>.
- Raissi, Abdolshakoor, Mina Arbabi, Javad Roustakhiz, et Masih Hosseini. 2016. « Haplophyllum Tuberculatum: An Overview » 5 (4).
- Ratheesh et Helen, M, A\*. 2007. « Anti-Inflammatory Activity of *Ruta Graveolens* Linn on Carrageenan Induced Paw Edema in Wistar Male Rats ».
- Rauf, Abdur, Hafiz Ansar, Mukarram Shah, Rasul Suleria, et Syed Muhammad Mukarram Shah, éd. 2024. *Phytochemical and Pharmacological Investigation of the Family Rutaceae*. New York: Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/9781003401469>.
- Said, O, K Khalil, S Fulder, et H Azaizeh. 2002. « Ethnopharmacological Survey of Medicinal Herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region ». *Journal of Ethnopharmacology* 83 (3): 251-65. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00253-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00253-2).
- Saidi, Asma, Leila Hambaba, Mohamed Sabri Bensaad, Imed Eddine Kadi, Chawki Bensouici, Rokayya Sami, Sarah Alharthi, et al. 2022. « Phytochemical Analysis Using cLC-DAD, Nutritional Importance and Assessment of Antioxidant, Antidiabetic and Anticholinesterase Activities of *Ruta Tuberculata* Forssk Organic Extracts ». *Sustainability* 14 (16): 10451.  
<https://doi.org/10.3390/su141610451>.
- Saidi, Asma, Leila Hambaba, Mohamed Sabri Bensaad, Mohamed Akram Melakhessou, Chawki Bensouici, Nouicer Ferhat, Mohamed Amine Kahoul, et al. 2022a. « Phenolic Characterization Using cLC-DAD Analysis and Evaluation of In Vitro and In Vivo Pharmacological Activities of *Ruta Tuberculata* Forssk ». *Antioxidants* 11 (7): 1351. <https://doi.org/10.3390/antiox11071351>.
- Sriti, J, H Mejri, O Bachrouch, M Hammami, et F Liman. 2017. « Antioxidant Activity and Chemical Constituents of Essential Oil and Extracts of *Haplophyllum Tuberculatum* from Tunisia » 43.
- Sriti, Jazia, Olfa Bachrouch, Kamel Msaada, Slim Jallouli, et Ferid Limam. 2024. « Bioassays of Fumigant Toxicity and Repulsiveness of *Haplophyllum Tuberculatum* Extracts ». *Acta Horticulturae et Regiotecturae* 27 (2): 98-104. <https://doi.org/10.2478/ahr-2024-0015>.
- Suk, Vicit Rizal Eh, et Lai Ti Gew. 2024. « (PDF) Plant Polyphenols as Green Sunscreen Ingredients: A Systematic Review ». *ResearchGate*, décembre. <https://doi.org/10.1111/jocd.15170>.

## Références Bibliographiques

- Szydłowska-Czerniak, Aleksandra, Csilla Dianoczki, et Katalin Recseg. 2008. « Determination of Antioxidant Capacities of Vegetable Oils by Ferric-Ion Spectrophotometric Methods ».
- Topçu, Gülaçtı, Mehmet Ay, Ali Bilici, Cengiz Sarıkürkcü, Mehmet Öztürk, et Ayhan Ulubelen. 2007. « A New Flavone from Antioxidant Extracts of Pistacia Terebinthus ». *Food Chemistry* 103 (3): 816-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.028>.
- Varamini, P., M. Doroudchi, A. Mohagheghzadeh, M. Soltani, et A. Ghaderi. 2007. « Cytotoxic Evaluation of Four *Haplophyllum* . Species with Various Tumor Cell Lines ». *Pharmaceutical Biology* 45 (4): 299-302. <https://doi.org/10.1080/13880200701214938>.
- Wang, Bochu, Liang Peng, Liancai Zhu, et Peng Ren. 2007. « Protective Effect of Total Flavonoids from *Spirodela Polyrrhiza* (L.) Schleid on Human Umbilical Vein Endothelial Cell Damage Induced by Hydrogen Peroxide ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60 (1): 36-40. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.05.020>.

## الملخص

روتا تيوبيركولوتا هو نبات استخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي منذ العصور القديمة نظرا لخصائصه الطبية العديدة. تهدف دراستنا الى تقييم النشاط المضاد للاكسدة للمستخلصات المائية و الميثانولية (المنقوعة و المستخلصة بالغلي) للأجزاء الهوائية لهذا النبات الطبي الذي جمع من منطقة الشعيبة ولاية اولاد جلال . تم اختيار النشاط المضاد للاكسدة لهذه المستخلصات في المختبر و في الجسم الحي على فئران بعد حقنها بمبيد حشري و تطعيمها فمويا بالمستخلصات . في البداية، كشفت دراسة مقارنة في المختبر ان مستخلصات هذه النبتة تظهر فعالية مضادة للاكسدة كبيرة. حيث كان المستخلص الميثانولي كانه أكثر نشاطا من المستخلص المائي. كما أظهر المستخلصان قدرة حماية هامة ضد أشعة الشمس وذلك بتسجيل قيمة كبيرة SPF ثم اظهرت تحليلات الدراسات التي تقيم النشاط المضاد للاكسدة في الجسم الحي، ان المستخلصات المائية لهذا النبات تمتلك قدرة على حماية الحيوانات وتنشط زيادة اوزانها. أخيرا، اكدت نتائج الفحص الكيميائي النباتي ان النبتة المدروسة غنية بجزئيات نشطة حيويًا، خاصة البوليفينولات و الفلافونولات و الفلافونويدات المسؤولة عن انشطتها البيولوجية. الكلمات الدالة: نشاط مضاد للاكسدة. مستقلبات نشطة حيويًا. روتا تيوبيركولوتا. مبيد حشري . أشعة الشمس.

## Résumé

*Ruta tuberculata* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle depuis l'Antiquité en raison de ses nombreuses propriétés médicinales. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux et hydro-méthanolique (obtenus par décoction et macération, respectivement) des parties aériennes de cette plante médicinale, récoltée dans la région de Chaiba (Ouled Djellal). L'activité antioxydante de ces extraits a été testée *in vitro* et *in vivo* sur des rats après l'administration d'un l'acétamipride suivi d'un traitement des rats par gavage orale des extraits.

Dans un premier temps, une étude comparative *in vitro* a révélé que les extraits de *Ruta tuberculata* présentent une efficacité antioxydante significative, en particulier son extrait méthanolique qui semble être un piègeur plus actif des radicaux que l'extrait aqueux. De plus, les deux extraits ont également montré une activité photo-protectrice importante avec une valeur de SPF > 30.

Ensuite, l'étude de l'activité antioxydante *in vivo* a montré que les différents extraits de *Ruta* a protégé les animaux contre la toxicité induite par le pesticide en favorisant l'augmentation du poids chez les rats traités en comparaison avec les groupes témoins.

Enfin, les résultats du criblage phytochimique ont confirmé que la plante étudiée est très riche en molécules bioactives, notamment en polyphénols, en flavonoïdes et notamment en flavonols, responsables de leurs activités biologiques.

**Mots clés :** Activité antioxydante, métabolites bioactifs, *Ruta tuberculata*, pesticide, Activité photo-protectrice.

## Summary

*Ruta tuberculata* is a plant that has been widely used in traditional medicine for its many medicinal properties. The aim of our study was to evaluate the antioxidant activity of aqueous and hydro-methanolic extracts (obtained by decoction and maceration, respectively) of the aerial parts of this medicinal plant, harvested from the Chaiba region (Ouled Djellal). The antioxidant activity of these extracts was tested *in vitro* and *in vivo* on rats *Wister* after administration of a pesticide, followed by treatment of the rats by oral gavage with the tested extracts.

Firstly, the *in vitro* study revealed that *Ruta tuberculata* extracts showed significant antioxidant potential, particularly its methanolic extract, which appears to be a more active scavenger of radicals than the aqueous extract. In addition, both extracts also showed significant photo-protective activity, with an SPF value >30.

Moreover, the study of antioxidant activity *in vivo* showed that the different *Ruta* extracts protected the animals against pesticide-induced toxicity by promoting weight gain in the treated rats compared to the control groups.

Finally, the results of the phytochemical quantification confirmed that the studied plant is very rich in bioactive molecules, mainly polyphenols, flavonoids and flavonols, which are responsible for their biological activities.

**Key words:** Antioxidant activity, bioactive metabolites, *Ruta tuberculata*, pesticide, Photo-protective activity .

2025

<p><b>Décision :</b>          La base du contenu scientifique, de degré de conformité          : pourcentage des fautes linguistiques, <b>Je décide que</b>          ce mémoire doit être classé sous la catégorie</p>		<p><b>قرار :</b>          اعتمادا على درجة مطابقتها للنموذج، على نسبة الأخطاء اللغوية          وعلى المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة</p>			
مقبول	عادي	حسن	جيد جدا	ممتاز	متميز
E	D	C	<b>B</b>	A	A+



## التاريخ

2025 / ০৩. / ০২

Scanné avec CamScanner