

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par : - MOULAY OMAR Safa Amira

- MOULAY OMAR Souda Meriem

Thème

**Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits
de *Ruta graveolens***

Soutenu publiquement le : 00/06/2025

Devant le jury :

M^{me}. BOUZIDI S.

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa

Présidente

M^{me}. BENSANIA W.

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa

Promotrice

M^{elle}. ROUARI L.

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa

Co- promotrice

M^{me}. SEDDIKI M.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

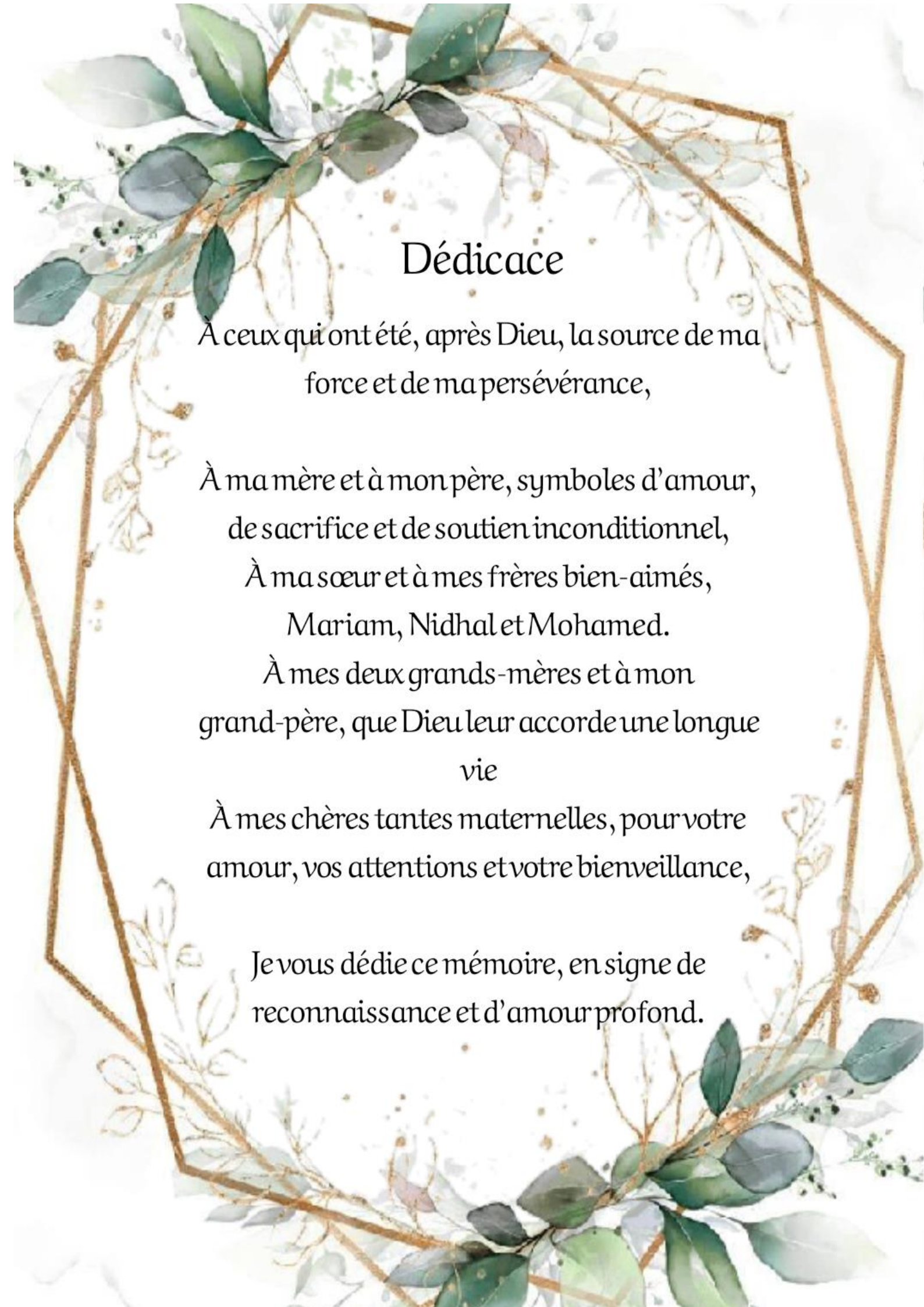
Nous rendons d'abord grâce à Dieu Tout-Puissant, qui nous a permis d'accomplir ce travail et de surmonter les défis grâce à Sa force et à Sa patience. Sans Sa guidance et Sa bienveillance, nous n'aurions pas pu atteindre nos objectifs.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Mme BENSANIA Wafaa, pour sa supervision sage et ses conseils précieux qui ont été un guide constant tout au long de notre parcours académique. Elle a su nous suivre et nous orienter avec beaucoup de soin, ce qui nous a permis de présenter ce travail sous sa meilleure forme.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Mlle. ROUARI Linda, pour ses remarques pertinentes et ses conseils avisés qui ont grandement contribué à améliorer la qualité de notre recherche. Sa disponibilité et son soutien constant ont été d'une grande aide tout au long de cette expérience académique.

J'adresse mes remerciements à Mme. BOUZIDI S., Maître de Conférences B de l'Université de Ghardaïa, d'avoir présider notre soutenance, et Mlle SEDDIKI M., Maître Assistant A de l'Université de Ghardaïa, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à M. MOULAY AMAR Ali, responsable des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre d'Université de Ghardaïa, pour avoir facilité tous les aspects.



Dédicace

À ceux qui ont été, après Dieu, la source de ma
force et de ma persévérance,

À ma mère et à mon père, symboles d'amour,
de sacrifice et de soutien inconditionnel,

À ma sœur et à mes frères bien-aimés,

Mariam, Nidhal et Mohamed.

À mes deux grands-mères et à mon
grand-père, que Dieu leur accorde une longue
vie

À mes chères tantes maternelles, pour votre
amour, vos attentions et votre bienveillance,

Je vous dédie ce mémoire, en signe de
reconnaissance et d'amour profond.



Avant tout, À Allah,
À mes chers parents, merci pour votre amour
inconditionnel, vos sacrifices et vos prières. Ce
travail est le fruit de votre guidance et de votre
soutien.

À mes frères bien-aimés Nidal et Mohamed, et
à ma chère sœur Safaa, votre présence et votre
encouragement ont toujours été ma
motivation.

À mes deux grand-mères et à mon grand-père
Allal, merci pour vos prières, votre tendresse et
votre foi en moi.

À mes tantes et mes oncles, maternels et
paternels, votre affection et votre soutien m'ont
profondément touché(e).

À toute ma famille, À mes professeurs, merci
pour votre encadrement, et spécialement
Madame BENSANIA. Wafaa, pour son
accompagnement précieux.

À tous mes amis, merci pour votre amitié
sincère

meriem



Ruta graveolens est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle, connue sous le nom "Fidjel". Le présent travail vise à étudier la composition phytochimique et évaluer l'activité antioxydante des extraits de cette plante. L'extraction a été réalisée par la macération de la poudre des feuilles de *Ruta graveolens*, provenant de la région de Zelfana (Ghardaïa), dans trois solvants : l'eau, l'éthanol et l'acétate d'éthyle. Les résultats du rendement d'extraction ont révélé une variation significative entre les solvants, dont l'extrait éthanolique a montré le rendement le plus élevé (25,3 %). L'analyse qualitative réalisée par un criblage phytochimique a déterminé la présence de plusieurs composés chimiques en particulier les tannins, les flavonoïdes et les alcaloïdes. Autant, les analyse colorimétrique ont révélé que l'extrait aqueux était le plus riche en polyphénols totaux (15,54 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (1,26 mg ER/g MS) et en tanins condensés (0,035 mg EC/g MS), tandis que, la teneur en acides phénolique la plus importante est enregistrée pour l'extrait d'acétate d'éthyle (0,134 mg EAC/g MS). L'évaluation de l'activité anti-oxydante des différents extraits a été réalisée *in vitro* par trois tests chimiques (DPPH, ABTS et FRAP). Le pouvoir inhibiteur des radicaux DPPH• et ABTS•+ le plus important est obtenu avec l'extrait d'acétate d'éthyle avec d'IC₅₀ égales 0,064 mg/mL et 0,032 mg/mL respectivement. Par contre, l'extrait aqueux a une forte capacité réductrice de fer ($A_{0,5} = 1,6$ mg/mL). Ces résultats justifient l'usage traditionnel de *Ruta graveolens* et confirment que leurs feuilles exposent un statut antioxydant assez important.

Mots clés : *Ruta graveolens*, polyphénols, pouvoir antioxydant, DPPH, ABTS, FRAP.

Ruta graveolens is a plant widely used in traditional medicine, known as "Fidjel". This work aims to study the phytochemical composition and evaluate the antioxidant activity of extracts from this plant. The extraction was carried out by macerating the powder of *Ruta graveolens* leaves, from the region of Zelfana (Ghardaïa), in three solvents: water, ethanol and ethyl acetate. The extraction yield results revealed significant variation among solvents, of which the ethanolic extract showed the highest yield (25.3%). Qualitative analysis carried out by phytochemical screening determined the presence of several chemical compounds, in particular tannins, flavonoids and alkaloids. Likewise, the colorimetric analysis revealed that the aqueous extract was the richest in total polyphenols (15.54 mg EAG/g DM), flavonoids (1.26 mg ER/g DM) and condensed tannins (0.035 mg EC/g DM), while the highest phenolic acid content was recorded for the ethyl acetate extract (0.134 mg EAC/g DM). The evaluation of the antioxidant activity of the different extracts was carried out in vitro by three chemical tests (DPPH, ABTS and FRAP). The highest inhibitory power of DPPH• and ABTS•+ radicals was obtained with the ethyl acetate extract with IC₅₀ equal to 0.064 mg/mL and 0.032 mg/mL respectively. On the other hand, the aqueous extract has a high iron reducing capacity ($A_{0.5} = 1.6$ mg/mL). These results justify the traditional use of *Ruta graveolens* and confirm that their leaves exhibit a fairly significant antioxidant status.

Keywords: *Ruta graveolens*, polyphenols, antioxidant power, DPPH, ABTS, FRAP.

Ruta graveolens هو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي، ويعرف باسم "الفيجل". يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي النباتي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات هذه النبتة. تم إجراء الاستخلاص عن طريق نقع مسحوق أوراق الفيجل، التي تم جمعها من منطقة زلفانة (غرداية)، في ثلاثة مذيبات: الماء، الإيثانول و أسيتات الإيثيل. وأظهرت نتائج مردودية الاستخلاص اختلافاً كبيراً بين المذيبات، حيث أظهر المستخلص الإيثانولي أعلى مردود استخلاص (25,3%). وقد أظهر التحليل النوعي الذي أجري عن طريق الفحص الكيميائي النباتي وجود العديد من المركبات الكيميائية، وخاصة العفص، الفلافونويد و القلويدات. بينما كشف التحليل الكمي أن المستخلص المائي كان الأغنى في إجمالي البوليفينول (15,54 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ المادة الجافة)، والفلافونويدات (1,26 ملغ مكافئ الروتين/غ المادة الجافة) والعفص المكثف (0,035 ملغ مكافئ الكاتيشين/غ المادة الجافة)، في حين تم تسجيل أعلى محتوى من حمض الفينول لمستخلص أسيتات الإيثيل (0,134 ملغ مكافئ حمض الكافيك/غ المادة الجافة). كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمختلف المستخلصات بثلاثة اختبارات كيميائية (DPPH، ABTS و FRAP). حيث تم تسجيل أعلى قدرة تثبيطية لجذور DPPH و ABTS+ باستخدام مستخلص أسيتات الإيثيل بتركيز IC_{50} يساوي 0,064 ملغ/مل و 0,032 ملغ/مل على التوالي. من ناحية أخرى، يتميز المستخلص المائي بقدرة عالية على اختزال الحديد ($A_{0.5}$ 1,6 = ملغ/مل). هذه النتائج تُبرر الاستخدام التقليدي لنبات الفيجل، وتؤكد أن أوراقه تتمتع بخصائص مضادة للأكسدة قوية.

الكلمات المفتاحية: *Ruta graveolens*، البوليفينول، القوة المضادة للأكسدة، DPPH، ABTS، FRAP.

Liste des abréviations

ABTS: 2,2A-Azinobis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (Le radical stable [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl])

E⁻: électron

EAC : équivalent d'acide caféique

EAG: équivalent d'Acide gallique

EC : équivalent de catéchine

ER: équivalent de rutine

ERO: Espèces réactives de l'oxygène (oxygénées)

Fe(II): Ions ferreux

Fe²⁺: Ions ferreux

Fe³⁺: Ions ferriques.

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

H₂O: Eau

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

MeOH: Méthanol

MS: matière sèche

O₂: Oxygène moléculaire

O₂^{•-}: Anion superoxide

OH: Groupe hydroxyle

OH[•]: Radical hydroxyle

TPTZ: Ferric 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine.

Trolox: Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

UV: Ultra violé

VIS: Visible

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Criblage phytochimique des extraits des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> .	10
Tableau 2	Aspect et couleur des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	18
Tableau 3	Criblage photochimique des extraits des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> .	22
Tableau 4	Valeurs d'IC ₅₀ de l'activité anti-oxydante déterminée par le test DPPH des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i> et les antioxydants standards.	38
Tableau 5	Valeurs d'IC ₅₀ de l'activité anti-oxydante déterminée par le test ABTS des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i> et les antioxydants standards.	42
Tableau 6	Valeurs des A _{0.5} du test FRAP des extraits de <i>Ruta graveolens</i> et l'acide ascorbique.	45

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Carte de la localisation géographique de la région d'étude (Zelfana)	06
Figure 02	Photo de feuille et de fleurs de <i>Ruta graveolens</i>	07
Figure 03	Planche botanique de rue	08
Figure 04	Réduction du radical libre DPPH•	14
Figure 05	Structure du radical cationique ABTS•+ et la forme réduite ABTS	16
Figure 06	Réduction du tripyridyl-triazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) en présence d'antioxydant	17
Figure 07	Rendements d'extraction des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i> .	19
Figure 08	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	25
Figure 09	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	26
Figure 10	Courbe d'étalonnage de la rutine	29
Figure 11	Teneur en flavonoïdes des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	29
Figure 12	Courbe d'étalonnage de la catéchine	31
Figure 13	Teneur en tanins condensés des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	32
Figure 14	Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.	34
Figure 15	Teneur en acides phénoliques de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i> .	34
Figure 16	Courbes montrant la variation du pourcentage d'inhibition I% du radical DPPH• en fonction de la concentration des divers extraits de <i>Ruta graveolens</i> et des antioxydants standards	37
Figure 17	Courbes montrant la variation du pourcentage d'inhibition I% du radical ABTS•+ en fonction de la concentration des divers extraits de <i>Ruta graveolens</i> et des antioxydants standards.	41
Figure 18	Pouvoir réducteur à 700nm des extraits de <i>Ruta graveolens</i> et l'acide ascorbique.	45

Table de matières

Remerciement

Dédicace 1

Dédicace 2

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

I Introduction.....	6
Chapitre I: Matériel et Méthodes.....	6
I.1 Présentation du cadre d'étude.....	6
I.2 Matériel végétal	7
I.3 Méthodes d'analyses	8
I.3.1 Préparation des extraits	8
I.3.2 Calcul du rendement d'extraction	9
I.3.3 Criblage phytochimique	9
I.3.4 Analyses quantitatives.....	11
I.3.4.1 Dosage des polyphénols totaux.....	11
I.3.4.2 Dosage des flavonoïdes.....	11
I.3.4.3 Dosage des tanins condensés	12
I.3.4.4 Dosage des acides phénoliques.....	13
I.3.5 Activité antioxydante	14
I.3.5.1 Test du DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	14
I.3.5.2 I.3.5.2 Test ABST (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)	15
I.3.5.3 I.3.5.3 Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power).....	17
II Chapitre II Résultats et Discussion.....	19
II.1 Rendement d'extraction	18
II.2 Criblage phytochimique	21
II.3 Analyses quantitatives.....	25
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux.....	25
II.3.2 Dosage des flavonoïdes	28
II.3.3 Dosage des tanins condensés	30
II.3.4 Dosage des acides phénoliques.....	33
II.4 Evaluation du pouvoir antioxydant.....	35

II.4.1 Test du DPPH	36
II.4.2 Test de piégeage du radical-cation ABTS•+	40
II.4.3 FRAP (ferric reducing antioxydant power)	44
III Conclusion Générale.....	48
IV Références bibliographiques	48

Introduction

L'oxygène est un élément indispensable à la vie des organismes multicellulaires, car il joue un rôle crucial dans la production d'énergie par l'oxydation de la matière organique. Cependant, nos cellules transforment une partie de cet oxygène en métabolites nocifs, connus sous le nom de radicaux libres organiques (**Meziti, 2007**). Les radicaux libres sont des espèces chimiques capable d'exister de manière indépendante, contenant un ou plusieurs électrons célibataires, c'est-à-dire des électrons non appariés (**Delattre et al., 2005**).

En raison de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont la tendance à retourner rapidement à un état stable, en donnant ou en acceptant un électron d'une autre molécule. Par conséquent, ils peuvent agir comme réducteurs ou oxydants. En tant qu'accepteurs ou donneurs d'électrons, ces radicaux libres se caractérisent par une réactivité remarquable vis-à-vis des autres molécules et possèdent un temps de demi-vie très court, allant de la nanoseconde à la milliseconde (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Leur nature réactive provient de leur besoin constant de trouver un électron afin de réassocier leur électron célibataire. Ce processus déclenche une propagation du phénomène, entraînant la formation de nouveaux radicaux libres. Ainsi, ces réactions en chaîne peuvent mener à des dénaturations ou à des destructions au sein des cellules (**Gardès-Albert, 2003**).

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre les agents oxydants (pro-oxydants) et les systèmes de défense antioxydants de l'organisme, en faveur des premiers, ce qui engendre des dommages cellulaires parfois irréversibles. Ce phénomène résulte principalement de la réduction monovalente de la molécule d'oxygène, conduisant à la formation de formes réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species – ROS), incluant des radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH), ainsi que des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2) (**Pincemail, 2000**). Bien que la majorité des radicaux libres soient dérivés de l'oxygène, certains peuvent également provenir d'autres éléments, comme le soufre sous forme de radicaux thiyles ($RS^{\bullet}$), ou l'azote, à travers le radical monoxyde d'azote ($^{\bullet}NO$), caractérisé par un électron non apparié partagé entre les atomes d'azote et d'oxygène (**Lalaoui et Soualmi, 2016**).

Ces espèces oxygénées réactives (ERO) présentent un potentiel toxique élevé pour les structures biologiques. Elles peuvent altérer la fonction des protéines, provoquer des cassures au niveau de l'ADN entraînant des anomalies dans l'expression génétique, dégradation des

glucides, oxydation des lipoprotéines et initiation de la peroxydation lipidique, notamment au niveau des acides gras polyinsaturés présents dans les membranes cellulaires (**Pincemail, 2000**). En conséquent, il est impliqué dans diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) et le processus de vieillissement (**Aruoma, 2003**).

Cette perturbation peut avoir diverses origines, telle que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme la pollution, un contact avec le rayonnement gamma, ultraviolet ou même l'ozone, certains pesticides et solvants, métaux toxiques, exercice intense ou mal géré, consommation de tabac et d'alcool et aussi prise des médicaments (**Magder, 2006**).

Le contrôle de la cytotoxicité des ERO est généralement assuré par des systèmes antioxydants. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Berger, 2006**). Il existe deux types de systèmes antioxydants, enzymatiques qui favorisent la conversion des molécules oxydantes comme la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion reductase,....., ou encore des molécules non enzymatiques qui captent les ERO, telles que le glutathion, la vitamine C, la vitamine E et l'acide urique (**Pincemail et al., 2002 ; Shahin Sharif et al., 2008 ; Belkheiri, 2010**).

Une autre classification d'antioxydants basée sur leur provenance concerne les antioxydants synthétiques comme butylhydroxytoluène (BHT) et butylhydroxyanisole (BHA) ou bien les antioxydants naturels tels que la vitamine C et les composés phénoliques. Les deux sources d'antioxydants sont également fournies par le régime alimentaire (**Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Shahin Sharif et al., 2008 ; Krishnaiah et al., 2010**).

Depuis antiquité, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques et leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne (**Ouahida et al., 2016**). Actuellement, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très intéressantes trouvant des applications dans divers domaines tels

que les industries pharmaceutiques, la médecine, les industries cosmétiques et l'agroalimentaire. En effet, ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs qui font l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro*, tels que les composés phénoliques, les Saponines et les huiles essentielles (**Hazzit et al., 2015**).

La question de l'utilisation des molécules antioxydantes synthétiques est actuellement discutée en raison des risques toxicologiques potentiels associés. Par ailleurs, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées tels que les composés phénoliques (**Suhaj, 2006; Tadhani et al., 2007**). Ces derniers sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). En effet, plusieurs études mettent en évidence le rôle de ces composés en tant que d'excellents piègeurs des espèces réactives de l'oxygène issues de biomolécules comme les protéines, les lipoprotéines et les acides nucléiques (ADN, ARN) (**Ouahida et al., 2016**). Ainsi, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Vârban et al., 2009**).

Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme l'activité antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Khenfer et Medjouel, 2016**). En outre, ce grand groupe comporte les acides phénoliques, les tannins, les stilbènes, les flavonoïdes, les anthocyanes et les lignines (**Badereddine et Moussaoui, 2014**). Parmi lesquels, les flavonoïdes sont de puissants antioxydants, dont ils capturent les radicaux libres, chélatent les métaux lourds et retardent la peroxydation des lipides. Ces propriétés antioxydantes sont attribuées à sa structure qui se caractérise par la présence d'un groupe hydroxyle sur le carbone trois, une double liaison entre les carbones deux et trois, un groupe carbonyle sur le carbone quatre et une polyhydroxylation des anneaux A et B (**Amedjoudj et al., 2017**).

En raison de son climat diversifié (méditerranéen, semi - aride et saharien) et la nature de ses sols, l'Algérie possède une flore particulièrement riche et variée en plantes aromatiques, médicinales, toxiques et condimentaires, dont la plupart existe à l'état spontané. Cette flore est distribuée à plusieurs familles botaniques, plus de 3000 espèces botaniques, dont 15 % d'endémiques (**Quezel et Santa, 1963**). Dans ce lot de plantes comprend la famille des Rutacées qui est largement distribuée dans le règne végétal. Cette famille se développe de préférence sur des sols rocheux bien drainés et résiste aux sécheresses, elle est originaire des

régions tropicales et tempérées chaudes du globe (**Hammiche et Azzouz, 2013; Salmi et Maifi, 2021**). Autant, elle est connue pour sa richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs comme les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques et les flavonoïdes. De plus, elle renferme une vaste sélection de plantes aromatiques comme *Ruta graveolens*, communément connue sous le nom de Rue (**Hammiche et al., 2017 ; Petit-Paly et al., 1982**).

Ruta graveolens est une plante vivace herbacée, originaire de la région méditerranéenne. Elle est maintenant cultivée dans de nombreuses parties du monde. La rue a été l'une des plantes clés de la pharmacopée européenne depuis l'Antiquité. Ses vertus étaient reconnues par certains des plus grands auteurs grecs et romains, notamment Hippocrate, Dioscoride et Pline. Elle appartient à la famille des Rutacées, dans l'ordre des Sapnosides, qui contient environ 160 genres et plus de 1600 espèces. En raison de sa valeur culturelle et médicinale, la rue a été introduite dans divers pays d'Amérique du Nord, d'Amérique centrale et du Sud, de Chine, d'Inde, du Moyen-Orient et d'Afrique du Sud (**Miguel, 2003**).

Par ailleurs, *R. graveolens* présente un éventail varié d'activités, y compris des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires, sédatives. Le genre *Ruta* est reconnu pour sa richesse en composés chimiques d'origine naturelle, renfermant plus de 120 substances identifiées, réparties entre plusieurs classes majeures telles que les alcaloïdes, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les coumarines, les lignines, les huiles essentielles et les furoquinolines (**Gentile et al., 2015**). Ainsi, la rutine, qui est considérée comme le principal élément de *R. graveolens*, est bien établie pour sa capacité à favoriser la mémoire et présente des propriétés pharmacologiques incluant des effets anti-inflammatoires, antiviraux, anti-allergiques, antimycotiques et anticancéreux (**Jianxiong et al., 2008 ; Attia et al., 2018**).

Bien qu'elle soit employée à des fins thérapeutiques dans de nombreuses régions du monde, les paramètres d'évaluation de la sécurité toxicologique révèlent certains cas cliniques d'empoisonnement humain associés à l'utilisation de *R. graveolens*. L'administration à des doses élevées peut provoquer des lésions aux organes vitaux. Par conséquent, il est impératif de respecter la concentration et le dosage adéquats de cette plante dans des limites de sécurité optimales. Les études pharmacologiques et toxicologiques fournissent des données précises quant à l'utilisation appropriée de cette plante (ou de ses composés dérivés) pour la formulation de médicaments sûrs destinés à un usage mondial (**Malik et al., 2017**). C'est

pourquoi son utilisation n'est pas conseillée chez les femmes enceintes, car à des doses élevées, cela peut engendrer une hyperémie dans l'utérus et une forte mobilité (effet oxytocique) pouvant entraîner un avortement. En raison des concentrations requises pour cela, cela peut causer la mort d'une femme enceinte **(Miguel, 2003)**.

En Algérie, cette plante est couramment employée en médecine traditionnelle pour traiter des affections telles que la fièvre, les morsures de serpent, les nausées, les vomissements, la constipation, le paludisme, l'anémie, les douleurs rhumatismales, les douleurs d'estomac, les infections intestinales, les difficultés lors de l'accouchement, ainsi que pour soulager des douleurs oculaires et auriculaires, l'asthme et la névrose **(Mirza et al., 2023)**.

En tenant compte de tous ces critères et dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales locales, ainsi de la recherche de nouveaux composés naturels à potentiel thérapeutique, cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* récoltée dans la région de Zelfana-Ghardaïa.

Ce travail s'est déroulé selon la démarche suivante : Il débute par une introduction générale qui expose le contexte scientifique et l'intérêt de l'étude, tout en précisant l'objectif principal de la recherche. Le premier chapitre « Matériel et Méthodes » décrit les différentes étapes expérimentales, notamment la préparation des extraits de la plante *Ruta graveolens*, les procédés d'extraction appliqués, la caractérisation phytochimique des extraits obtenus par le dosage de différents composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et les acides phénols), ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de tests spécifiques (DPPH, FRAP et ABTS). Tandis que le deuxième présente l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions. Cette étude se termine par une conclusion globale qui synthétise les résultats majeurs obtenus et envisage les possibilités pour son développement futur

Chapitre I: Matériel et Méthodes

Ces dernières années, l'intérêt scientifique pour l'évaluation des propriétés pharmacologiques des plantes médicinales locales en particulier leur activité antioxydante s'est accrue, étant donné le rôle des antioxydants dans la lutte contre les radicaux libres responsables du stress oxydatif associé à de nombreuses maladies.

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, qui s'intéresse à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de la plante *Ruta graveolens* (Rutaceae), une espèce spontanée collectée dans la région de Zelfana-Ghardaïa, où elle est traditionnellement utilisée en médecine populaire pour ses nombreux bienfaits. Les critères d'évaluation de cette étude reposent principalement sur la capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres, mesurée à travers trois tests chimiques *in vitro* (DPPH, ABTS, FRAP). Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire du département de biologie de l'Université de Ghardaïa.

I.1 Présentation du cadre d'étude

La matière végétale a été récoltée de la région de Zelfana, qui se trouve à 65 km au nord de la Wilaya de Ghardaïa et à 658 km au sud d'Alger. La commune de Zelfana est située à une latitude de 32° 23' Nord et à une longitude de 4° 13' Est, et à une altitude de 355 mètres (Figure 1).

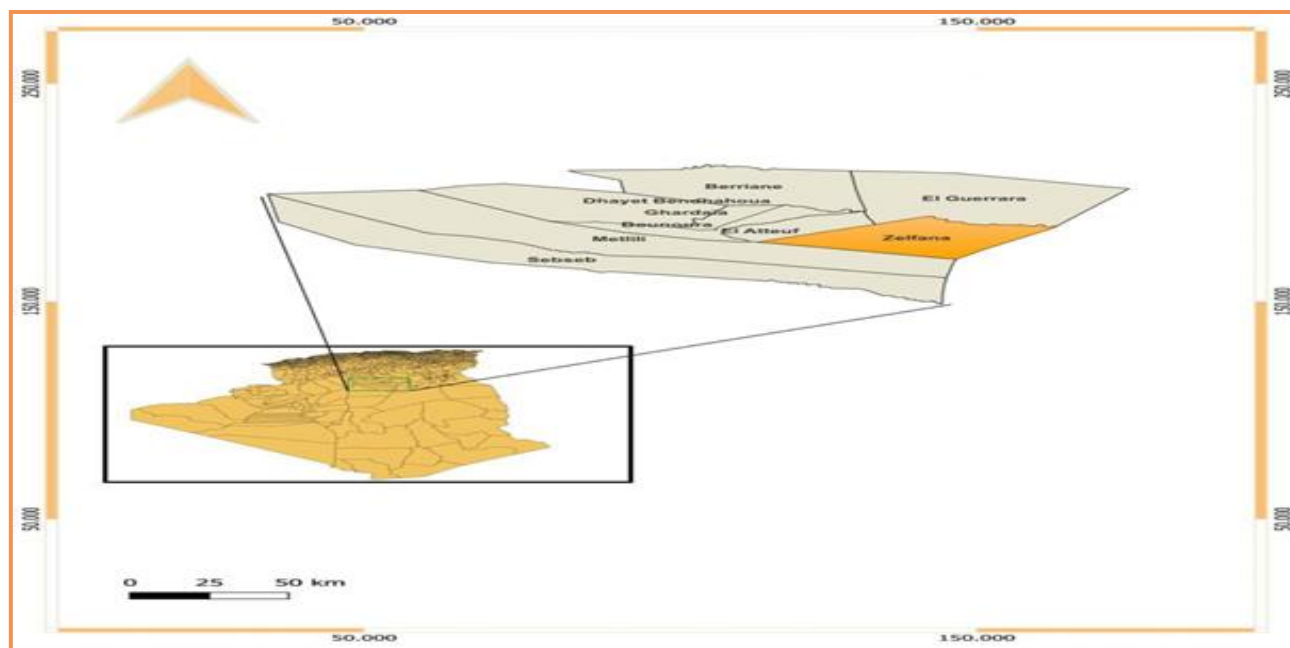


Figure 01: Carte de la localisation géographique de la région d'étude (Zelfana)
(Original, 2025).

I.2 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué les feuilles de *Ruta graveolens* d'origine de la région de «Zelfana-Ghardaïa». La récolte a été effectuée au cours du mois Janvier 2025.



Figure 02: Photo de feuille et de fleurs de *Ruta graveolens* (Doerper, 2008 ; Asgarpanah et Khoshkam, 2012).

Ruta graveolens est un arbrisseau appartenant à la famille des Rutacées. Elle est appelée communément rue fétide, rue des jardins, herbe de grâce, rue officinale, ou rue commune. Le genre *Ruta* provient du Grec « rhyté » qui veut dire sauver et prévenir, tandis que *graveolens* a son origine dans le latin « gravis », qui signifie fort, et le verbe « olere », qui traduit à sentir, donc odeur puissante et désagréable. Cette plante méditerranéenne, semi-arbustive, atteint environ un mètre de hauteur et se caractérise par une ramification abondante et un tronc ligneux à sa base. Ses feuilles, d'un vert foncé et semi-persistantes, sont alternes généralement pennatiséquées (souvent trilobées) et peu charnue. La floraison a lieu entre mai et août, donnant naissance à des fleurs disposées en corymbes, composées de 4 à 5 pétales jaunes verdâtres soudés à la base, accompagnés d'un nombre équivalent de sépales et de 8 à 10 étamines. La plante est hermaphrodite et entomogame. Les fruits prennent la forme de capsules déhiscentes qui, à maturité, libèrent de petites graines noirâtres. La dissémination des graines se fait par barochorie (Doerper, 2008).

Régne : Plantae
Embranchement : Tracheophyta
Sous-emb- : Spermatophytina
Classe : Magnoliopsida
Super-ordre : Rosanae
Ordre : Rutaceae
Famille : Rutaceae
Genre : Ruta
Espèce : *Ruta graveolens*
Nom local : El fidjel
(Wiart, 2006).



Figure 03 : Planche botanique de *Ruta graveolens* (Maifi et Salmi, 2017).

Ruta graveolens est une des plantes aromatiques et médicinales dotées de caractéristiques biologiques remarquables qui sont mises à profit dans plusieurs domaines d'activité (Derbal *et al.*, 2023). Grâce à la facilité sa récolte et à son activité biologique notable et répandue, elle a été adoptée comme remède dans plusieurs pays, notamment dans la région méditerranéenne. Elle a servi de traitement traditionnel pour divers troubles comme les maux oculaires, les rhumatismes, les dermatites, la douleur et une multitude de maladies inflammatoires ainsi que l'hypertension artérielle. On a récemment prouvé que *Ruta graveolens* possède des propriétés antibactériennes, analgésiques, antidiabétiques et insecticides (Gouami et Nebili, 2020 ; Hamla et Hamla, 2020).

I.3 Méthodes d'analyses

I.3.1 Préparation des extraits

Nous avons sélectionné comme matériel végétal les feuilles de *Ruta graveolens*. Après la récolte, les feuilles ont été soigneusement nettoyées à l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés, puis séchées dans une étuve à une température de 37°C pendant 48 heures. Elles ont ensuite été broyées en une fine poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Également, les poudres récupérées ont été stockées dans des flacons en verre étiquetés, afin de réaliser les diverses manipulations nécessaires.

Dans cette recherche, une extraction par macération est effectuée. Cette étape implique l'extraction maximale de métabolites secondaires présents dans la plante séchée en utilisant des solvants organiques volatils appropriés qui améliorent le rendement d'extraction.

De ce fait, dix grammes de poudres végétales, provenant des feuilles, sont mis en contact avec trois solvants différents : éthanol, acétate d'éthyle et eau distillée. Ce processus se déroule à un rapport solide/liquide de 1/10 (p/v) pendant 48 heures, à l'obscurité et à température ambiante pour chaque solvant. Les extraits obtenus sont ensuite filtrés à l'aide d'un papier filtre Whatman. Les filtrats résultant ont été évaporés à sec par l'évaporateur rotatif (Heidolph). Ultérieurement, les résidus ont été repris dans un volume déterminé de chaque solvant et conservés au réfrigérateur à +4 °C dans des flacons bien fermés portant des étiquettes jusqu'à leur utilisation.

I.3.2 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement des extraits est déterminé comme le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale utilisée. Il a été calculé selon la formule adoptée par **Falleh et al., 2008**)

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme de la poudre du matériel végétal étudié.

I.3.3 Criblage phytochimique

C'est l'ensemble des tests qui ont été facilités la caractérisation des métabolites secondaires contenus dans les extraits par le biais de simples réactions en solution. Ils ont été réalisés soit à partir de la poudre du broyat, soit à partir de l'infusé. Généralement, le criblage phytochimique repose sur des réactions de coloration ou de précipitation (**Berrani et al., 2015; Valentin et al., 2017**).

Dans ce travail, les tests phytochimiques réalisés sur les extraits des feuilles de *Ruta graveolens* ont été impliqués à la recherche de principaux groupes bioactifs produits par cette plante comme : les flavonoïdes, les tannins, les quinones, les saponines, les stéroïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Tableau 1**).

Tableau 1: Criblage phytochimique des extraits des feuilles de *Ruta graveolens*.

Groupe chimique	Protocole	Résultats positifs
Flavonoïde	Prendre 1mL de chaque extrait accompagné de 0,4 mL d'une solution de NaOH à 10 %.	Apparition d'une couleur jeune intense (Madike et al., 2017).
Tanins	On mélange 0,2 mL d'extrait avec quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer (FeCl ₃) à 1 % dans un tube à essai. Le mélange est mis en incubation pendant 15 minutes.	Formation d'une couleur bleu noire ou verdâtre (Ghedadba et al., 2014).
Terpénoïdes	On a ajouté 1 mL d'extrait à 0,4 mL de chloroforme et 0,2 mL d'acide sulfurique	Coloration mauve ou violette
Coumarine	0,5 mL d'extrait à 5 % et mélangé avec 0,8 mL de NaOH à 10 %, ensuite agité le mélange.	Coloration jaune (Diallo, 2000)
Anthocyanine	0,5 mL de chaque extrait a été mélangé avec 0,5 mL d'HCl ₂ N et 0,5 mL d'ammoniac.	Formation d'une couleur rose-rouge devenant bleu-violet (Madike et al., 2017).
Alcaloïdes	On a ajouté 0,5 mL d'extrait au volume de 0,5 mL d'HCl (1%). Ce mélange a été chauffé pendant une durée de 20 minutes. Une fois le mélange refroidi, on a ajouté goutte à goutte 1 mL du réactif de Mayer.	Apparition d'un précipité verdâtre crème (Madike et al., 2017).
Quinones libres	Un volume de 0,5 mL de l'extrait a été mélangé avec quelques gouttes de NaOH (1%)	Coloration rouge jaune ou Violet (Dohou et al., 2003).
Stéroïdes	Des volumes de 2,5 mL de chloroforme et de 2,5 mL de H ₂ SO ₄ ont été incorporés à 0,25 mL de chaque extrait.	Couleur passant du violet au bleu ou au vert, ou un anneau bleu/vert peut se produire lorsque la couche supérieure devient rouge et que la couche sulfurique prend une teinte jaune avec une fluorescence verte (Madike et al., 2017).
Saponosides	Des gouttes d'eau distillée ont été additionnées à 1 mL d'extrait, puis le mélange a été agité après 20 minutes.	Formation d'une mousse de 1 à 2cm qui équivalent un test positif (Bensaad, 2022).
Composés réducteurs	0,25 mL d'extrait est mélangé avec 0,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de la liqueur de Fehling puis met les tubes dans un bain-marie à 40 °C.	Précipité rouge brique (EL-Haoud et al., 2018).

I.3.4 Analyses quantitatives

I.3.4.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

L'évaluation de la teneur des polyphénols totaux contenue dans les extraits de *R. graveolens* a été faite par une méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton et Rossi (1965). Ce dosage repose sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans l'extrait à l'aide le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un acide jaune, issu d'une combinaison d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit en milieu alcalin par l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration bleue, mesurée à longueur d'onde de 760 nm, est proportionnelle aux taux de polyphénols totaux présents (**Kaanin et Harfi, 2012**).

Mode opératoire

Brièvement, 100 μ L d'extrait ou standard ont été mélangé avec 500 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué dix fois. Ce mélange est ensuite laissé pendant 5 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière. Par la suite, 2 Ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % ont été ajoutés tout en maintenant une agitation vigoureuse. Après une incubation de 30 minutes dans les mêmes conditions, les absorbances des mélanges ont été mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (SpectroScan 40), en prenant comme blanc une solution contenant les mêmes composants, à l'exception de l'extrait testé.

En parallèle, une courbe d'étalonnage a été réalisée dans des mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme étalon à différent concentration, allant de 0.05 à 0.35 mg/ml. Les résultats ont été exprimés en mg en équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la matière végétale (mg EAG/mg MS).

I.3.4.2 Dosage des flavonoïdes

Principe

Le contenu des extraits de *R. graveolens* en flavonoïdes a été évalué par la méthode adaptée de **Lamaison et Carnat (1991)** en appliquant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

Le principe de cette méthode a été basé sur l'interaction du groupement hydroxyle libre en position 5 des flavonoïdes avec le chlorure d'aluminium, ce qui forme un complexe de couleur jaunâtre avec une absorbance maximale à 409 nm. Cette interaction résulte de la capacité de l'atome d'aluminium à accepter deux électrons, se liant ainsi aux deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, qui jouent le rôle de donneurs d'électrons (**Kaanin et Harfi, 2012**). Cette propriété est exploitée pour quantifier la teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits analysés, à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec un flavonoïde de référence, la rutine.

Mode opératoire

Dans un tube à essai, on mélange 1 ml d'extrait avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 %. Après une incubation de 20 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 409 nm à l'aide du même spectrophotomètre, en faisant référence à un blanc.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les différents extraits sont ensuite calculées en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine qui a été établi en suivant le même protocole que pour les extraits. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine par gramme du matériel végétal sèche (mg ER/g MS).

I.3.4.3 Dosage des tanins condensés

Principe

L'estimation de la quantité des tanins condensés dans les extraits de *R. graveolens* a été réalisée en utilisant la vaniline-HCl selon la méthode expliquée par **Sun et al. (1998)**. Ce procédé implique la dépolymérisation des tanins dans un milieu acide, puis une réaction avec la vanilline permet de les convertir en anthocyanidols de couleur rouge, qui peuvent ensuite être analysés à une longueur d'onde de 510 nm (**Beddou, 2015**).

Mode opératoire

Un volume de 0,2 mL de l'extrait a été mélangé avec 1 mL d'une solution fraîche de vanilline à 1 % (p/v) préparée dans un mélange d'acide acétique glacial et d'HCl (98 :2, v/v). Après une incubation pendant 20 minutes à 30 °C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. En parallèle, une courbe d'étalonnage a été établie

en utilisant la catéchine, préparées dans une gamme de concentrations allant de 0 à 1 mg/mL, selon le même protocole appliqué aux extraits analysés.

Par conséquent, les concentrations en tanins condensés dans les différents extraits ont été déterminées à partir l'équation de la courbe d'étalonnage de la catéchine. Ainsi, les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

I.3.4.4 Dosage des acides phénoliques

Principe

La teneur des acides phénoliques dans les différents extraits a été estimée selon la méthode décrite par **Arnou (1937)**. La méthode a été basée sur la mesure par spectroscopie la coloration jaune des molécules d'acides phénols prenant en présence d'acide. La coloration devient rouge en excès d'hydroxyde de sodium. La réaction est stabilisée par l'ajout de nitrate de sodium et de molybdate de sodium.

Mode opératoire

Un volume de 1 mL d'extrait est mélangé avec 5 mL d'eau distillée. Par la suite, 1 mL d'HCl (0,5 M) a été ajouté, suivi de 1 mL du réactif d'ARNOW, qui est une solution aqueuse contenant 10 % de molybdate de sodium et 10 % de nitrite de sodium. Ensuite, on ajoute 1 mL d'hydroxyde de sodium (1 M) à ce mélange. Également, le volume total de la solution réactionnelle a été complété à 10 mL avec l'eau distillée. L'absorbance de ce mélange a été ensuite mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (spectroscan-40). Pour établir la courbe d'étalonnage, l'acide caféique a été employé comme référence.

Alors, la teneur en acides phénoliques a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide caféique et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide caféique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAC/g MS)

I.3.5 Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux a été effectuée par de nombreuses méthodes qui ont été basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Trois tests ont été sélectionnés dans cette étude afin d'apprécier l'activité anti-radicalaire de différents extraits de *Ruta graveolens*, à savoir : test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), test de 2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) et de Ferric Reducing / Antioxydant Power (FRAP).

I.3.5.1 Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Principe

Pour analyser l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons choisi d'utiliser la méthode basée sur le DPPH (diphénylpicryl-hydrazyle), un radical libre relativement stable, conformément au protocole établi par **Mansouri et al. (2005)**. Le DPPH, qui se présente sous la forme d'un radical libre de couleur violacée, absorbe la lumière dans l'UV-visible à une longueur d'onde de 517 nm (**Wootton et al., 2011**).

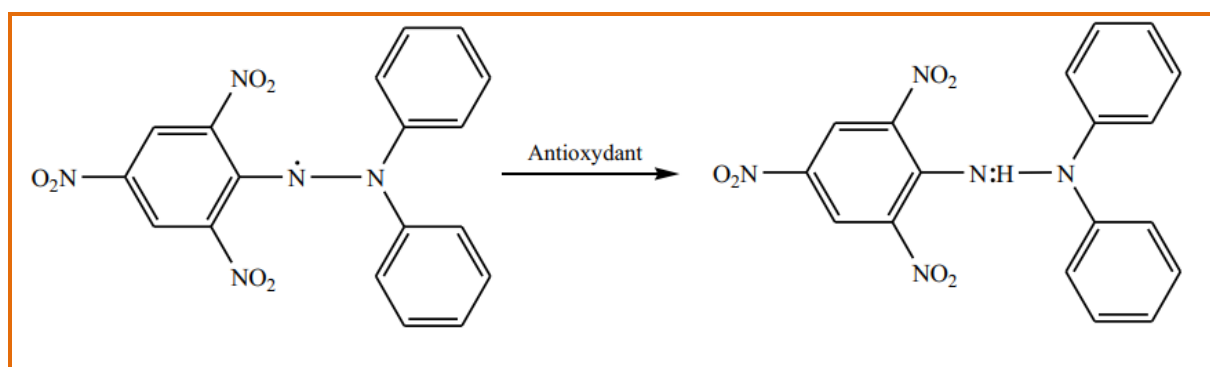


Figure 04 : Réduction du radical libre DPPH• (**Congo, 2012**).

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant a été suivi par la spectrophotométrie UV-visible, dont en mesurant la décoloration de la solution, qui s'exprime par une diminution de la densité optique. Cette décoloration reflète le pouvoir des extraits à piéger ces radicaux libres (**Boubekri, 2014**).

Mode opératoire

Pour cela, 100 µL de chaque solution d'extraits à différentes concentrations ont été ajoutés à 1 mL d'une solution méthanolique de DPPH[•] (250 µM). Un contrôle a également été préparé par le remplacement du volume d'extrait par le méthanol. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité, les absorbances ont été mesurées à 517 nm par rapport à un blanc correspondant.

En outre, un contrôle positif a été établi par l'utilisation des antioxydants standards, le Trolox et l'acide ascorbique, qui ont été évalué leurs potentiels antioxydants en suivant la même procédure mentionnée ci-dessus. L'analyse de la densité optique de chaque extrait à diverses dilutions a abouti au calcul du taux d'inhibition du DPPH, à l'aide la formule suivante (Yu *et al.*, 2004) :

$$I (\%) = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Contrôle}}) * 100$$

Où : I : Pourcentage d'inhibition.

$A_{\text{Contrôle}}$: Absorbance de la solution du DPPH[•] sans extrait.

A_{Extrait} : Absorbance de la solution du DPPH[•] en présence d'extrait.

Également, les traçages du pourcentage d'inhibition (I%) par rapport la concentration d'extrait ou des antioxydants standards testés ont permis de déterminer la concentration IC₅₀, qui a été définie comme la concentration d'extrait requise pour d'inhiber 50 % du radical libre DPPH[•] (Kroyer, 2004).

I.3.5.2 I.3.5.2 Test ABST (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)

Principe

La méthode décrite par Cano *et al.* (1998) a été utilisée pour déterminer la capacité des extraits de *R. graveolens* à capturer le radical (ABTS^{•+}). Ce test repose sur l'aptitude d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} (acide 2,2'-azobis 5 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) qui se caractérise par une couleur vert-bleu, en le réduisant à ABTS incolore (Figure 05).

Autant, en présence d'un antioxydant donneur de proton (H[•]), l'atome d'azote d'ABTS^{•+} piège un H[•], conduisant à l'ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution. La disparition de la couleur vert bleu intense de d'ABTS^{•+} lors de sa réaction avec les

antioxydants peut être quantifiée par la mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm (Chen *et al.*, 1997). Le radical « ABTS•+ » doit être généré par une réaction enzymatique (en présence de la peroxydase) ou chimique (en présence d'ions persulfate) (Prouillac, 2006).

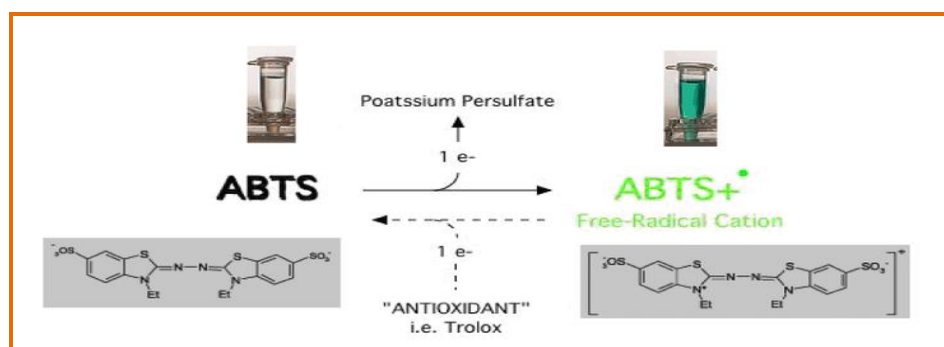


Figure 05 : Structure du radical cationique ABTS•+ et la forme réduite ABTS (Pannlana *et al.*, 2011).

Mode opératoire

Le radical cation d'ABTS•+ est généré par une réaction chimique, en mélangeant des volumes égales d'une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$, 2,45 mM). Ce mélange est ensuite incubé pendant 16 heures à l'obscurité et à température ambiante. Ultérieurement, une dilution de la solution d'ABTS•+ obtenue a été réalisée jusqu'à atteindre une absorbance d'environ $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm.

Dans un tube, 100 μ L d'extrait dilué à différentes concentrations a été ajouté à 1 mL d'une solution d'ABTS•+. L'absorbance est ensuite mesurée à 734 nm après une incubation de 8 minutes à l'obscurité. Des mêmes mesures ont été effectuées pour les antioxydants standards, Trolox et acide ascorbique. Le pourcentage d'inhibition du radical cation ABTS•+ est alors calculé à l'aide de la formule suivante (Yu *et al.*, 2024) :

$$I \% = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Contrôle}}) * 100$$

Où : I : Pourcentage d'inhibition.

$A_{\text{Contrôle}}$: Absorbance de la solution d'ABTS•+ sans extrait.

A_{Extrait} : Absorbance de la solution d'ABTS•+ en présence d'extrait.

I.3.5.3 Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

Principe

Le pouvoir de réduction ferrique est déterminé en utilisant un dosage de FRAP selon la méthode qui décrit par **Oyaizu (1986)**. Ce test est développé pour mesurer la capacité d'un extrait à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) dans le complexe de ferrocyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Figure 06). En fait, Fe^{3+} participe à la formation de radicaux hydroxyles par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 700nm (**Oyaizu, 1986**). L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé (**Hubert, 2006 ; Ben-Moussa, 2020**).

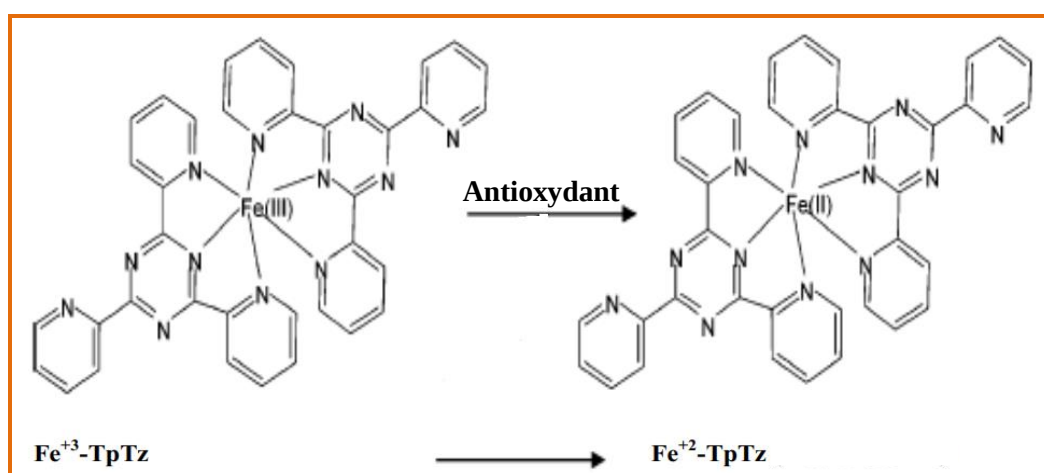


Figure 06 : Réduction du tripyridyl-triazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) en présence d'antioxydant (**Ben-Moussa, 2020**).

Mode opératoire

Un volume de 0,1 mL d'extrait à diverses concentrations a été mélangé avec 0,25 mL d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) ainsi que 0,25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le mélange a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes, puis est refroidi. Pour arrêter la réaction, on ajoute 0,25 mL d'acide trichloracétique à 10%. Les tubes sont ensuite centrifugés à une vitesse de 3000 tr/min pendant 10 minutes. Un aliquote de 0,5 mL de surnageant est mélangé avec 0,5 mL d'eau distillée et 0,1 mL d'une solution de FeCl_3 (chlorure ferrique) à 0,1%. La mesure de l'absorbance du milieu réactionnelle est réalisée à 700 nm en utilisant un blanc préparé de manière similaire, en substituant l'extrait par de l'eau distillée pour calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS).

Le contrôle positif utilise un standard d'un antioxydant ; l'acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que celles des échantillons. Une hausse de l'absorbance indique une augmentation de l'activité antioxydante. La capacité réductrice du fer est indiquée par $A_{0,5}$, qui représente la concentration de l'échantillon entraînant une absorbance de 0,5

Chapitre II
Résultats et
Discussion

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche de solutions naturelles et efficaces dans le domaine de la prévention du stress oxydatif, responsable de nombreuses pathologies chroniques. Dans ce contexte, l'attention a été portée sur les propriétés antioxydantes de la plante *Ruta graveolens*, dans le but de cibler les composés bioactifs capables de neutraliser les radicaux libres.

II.1 Rendement d'extraction

Les extraits des feuilles de *Ruta graveolens* ont été préparés par une simple méthode d'extraction, la macération. C'est une méthode traditionnelle permettant d'extraire les composés bioactifs des matériaux végétaux en les mettant en contact avec un solvant, avec ou sans agitation, pendant une période déterminée généralement à température ambiante (Spigno et al., 2007). Cette méthode repose sur la solubilité des composés bioactifs dans le solvant choisi. Elle est appréciée pour son faible coût et sa simplicité d'application. De plus, elle permet de préserver l'intégrité des molécules sensibles aux variations thermiques (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003 ; Al-bandak et Oreopoulou, 2007).

La macération a été réalisée à froid en utilisant trois solvants l'eau, l'éthanol et l'acétate d'éthyle à un rapport de 1/10: p/v dans le but d'extraire les composés bioactifs. Trois extraits ont ainsi été obtenus à partir de cette méthode. L'aspect des extraits est généralement pâteux, avec une variation de couleur selon le solvant utilisé. L'aspect et la couleur de chaque extrait sont récapitulés dans le tableau suivant (Tableau 2).

Tableau 2 : Aspect et couleur des extraits de *Ruta graveolens*

Extrait	Aspect	Couleur
Aqueux	Pâteux	Marron
Éthanol	Pâteux	Verte
Acétate d'éthyle	Pâteux	Verte foncé

La couleur observée dans les extraits résulte de la présence de divers types de pigments naturels, notamment les chlorophylles, les caroténoïdes (comme les carotènes, les lycopènes, les lutéines et les flavoxanthines), les anthocyanes et les flavonoïdes tels que les flavones et les flavonols (Solovchenko *et al.*, 2019 ; Atia et Troudi, 2023).

Le rendement d'extraction a été calculé en fonction de la masse initiale de poudre obtenue à partir des feuilles de *Ruta graveolens*. Les résultats ont été présentés sous forme de pourcentage. Ces données sont illustrées dans la figure suivante (Figure 07).

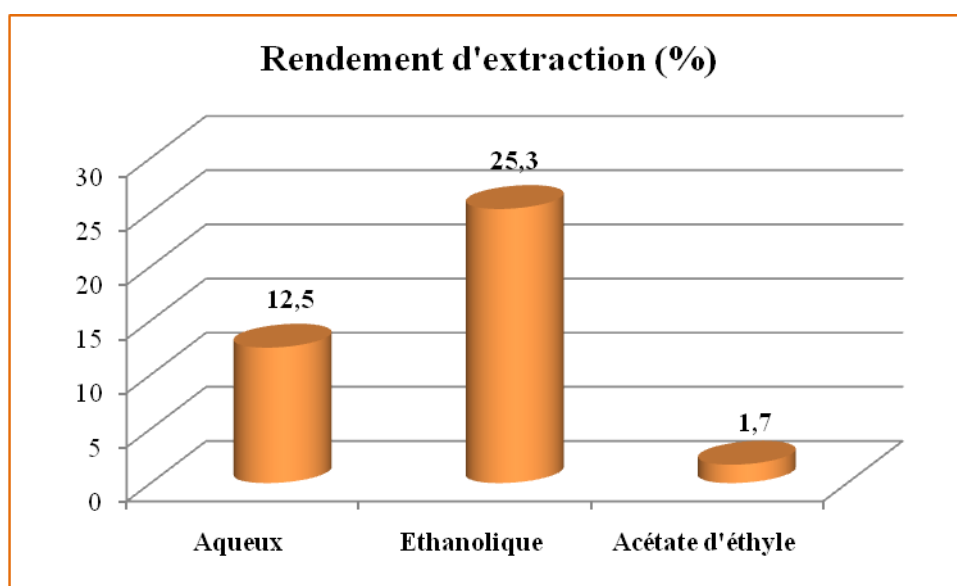


Figure 07 : Rendements d'extraction des différents extraits de *Ruta graveolens*.

Le calcul du rendement d'extraction a montré une variation significative entre les pourcentages obtenus selon le type du solvant utilisé. Ainsi, il ressort de ces résultats que l'extrait éthanolique a présenté le rendement le plus élevé soit 25,3 %, suivi de l'extrait aqueux avec un taux de 12,5 %, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a montré le rendement le plus faible avec seulement 1,7 %.

Le rendement élevé de l'extrait éthanolique peut être attribué à la polarité de l'éthanol, qui lui permet de solubiliser une large gamme de composés bioactifs des feuilles de *Ruta graveolens* tels que les composés phénoliques. L'extrait aqueux, bien que présentant un rendement inférieur à celui de l'éthanol, sa capacité modérée à extraire certains composés peut être s'expliquer par que l'eau est un solvant fortement polaire, est connu pour extraire une vaste diversité de molécules, y compris une proportion significative de composés non phénoliques tels que les glucides et les protéines (Telli, 2017). En revanche, l'extrait à

l'acétate d'éthyle a affiché le rendement le plus faible (1,7 %), ce qui indique une faible présence de composés lipophiles ou faiblement polaires solubles dans ce solvant.

Ces résultats soulignent l'importance du choix du solvant en fonction de la nature chimique des composés ciblés, et mettent en évidence l'efficacité de la macération à froid pour préserver l'intégrité des substances thermosensibles. Cette méthode traditionnelle efficace permettant d'extraire les composés biologiquement actifs des plantes. (**Ouedraogo et al., 2021**). Cependant, il a été prouvé que des durées d'extraction plus longues n'amélioreraient pas nécessairement le rendement de l'extraction (**Michel, 2011**).

L'extraction des principes actifs est une étape cruciale pour la valorisation de ces composés, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. En général, l'extraction des divers composants des plantes est principalement réalisée à l'aide de solvants organiques purs ou mixte avec l'eau. Par ailleurs, l'association de solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone avec de l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques. Dans cette étude, il ressort que la macération par l'éthanol est la meilleure technique d'extraction par rapport les autres solvants. Toutefois, l'éthanol aqueux est l'un des solvants les plus utilisés pour extraire les composés phénoliques à partir des matières végétales, vu qu'il permet l'extraction de plusieurs groupes de ces composés comme : les flavonoïdes et leurs glycosides, les catéchols et les tanins (**Abcha, 2020**).

De nombreuses études ont été réalisées sur *Ruta graveolens* en utilisant diverses parties de la plante, solvants et techniques d'extraction, permettant une comparaison pertinente avec nos résultats. Selon une étude menée par Velmurugan et al. (2022), les feuilles de *Ruta graveolens* ont été collectés dans une région proche d'Arbaminch, puis extraits par macération aqueuse avec un ratio de 1:2 (p/v) pendant 72 heures, ce qui a donné un rendement de 8 %, inférieur à celui obtenu dans notre étude (12,5 %). En revanche, dans l'étude d'Al Qaisi et al. (2021), les parties aériennes de la plante, collectées en Jordanie, ont été extraites par macération méthanolique, donnant un rendement de 23,51 %, légèrement inférieur au nôtre (25,3 %). Selon l'étude de Barbouchi et al. (2024), les feuilles de la plante, prélevées au Maroc, ont été extraites par infusion aqueuse, ce qui a conduit à un rendement de 19,65 %, tandis que l'extraction par Soxhlet a permis d'obtenir des rendements plus élevés : 26,36 % avec l'éthanol et 14,46 % avec l'acétate d'éthyle, nettement supérieurs à notre rendement obtenu avec ce solvant (1,7 %). Enfin, dans l'étude de Jaradat (2016), les échantillons ont été prélevés en Palestine, et l'hydrodistillation des feuilles pendant 60 minutes avec un ratio de

1:5 (p/v) a donné un rendement faible de 1,2 %. Contrairement à notre étude, dans laquelle l'échantillon (feuilles) a été séché à l'étuve, les autres travaux rapportent un séchage à température ambiante à l'ombre (Al Qaisi et al., 2021 ; Jaradat, 2016), ou à l'air libre (Barbouchi et al., 2024), tandis que l'étude de Velmurugan et al. (2022) mentionne un séchage à l'ombre, sans précision claire de la température

D'autres études ont également été menées sur le genre *Ruta*. Parmi lesquelles, le travail de **Barbouchi et al. (2024)**, sur les feuilles d'espèce *Ruta chalepensis* qui ont montré un rendement de 23,23 % avec l'eau distillée, 29,21 % avec l'éthanol et 6,87 % avec l'acétate d'éthyle. Ces résultats sont tous supérieurs à ceux obtenus dans notre étude, à l'exception de l'extrait éthanolique dont le rendement (25,3 %) reste proche. Par ailleurs, une hydrodistillation réalisée par **Jaradat (2016)** sur les feuilles de *Ruta chalepensis* pendant 60 minutes a également produit un rendement très faible de 0,6 %. Autant, les extraits méthanolique obtenus du *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. ont déterminé des rendements 23,94 % et 12 % respectivement (**Chaibeddra, 2014**). Selon **Mahmoudi et al. (2013)**, l'extrait d'acétate d'éthyle de *R. tuberculata* a donné un rendement de 0,22 %, ce qui représente une faible extraction par ce solvant.

Cependant, il reste complexe d'établir une comparaison précise avec les données de la littérature, car le rendement est une notion relative. Celui-ci dépend notamment des caractéristiques génétiques des plantes, de leur origine géographique, des conditions et de la durée de conservation des récoltes, ainsi que des techniques d'extraction utilisées. Ainsi, le choix d'un solvant adapté constitue une des phases les plus cruciales dans l'optimisation de l'extraction des polyphénols, flavonoïdes et autres composés antioxydants (**Falleh, 2008 ; Abcha, 2020 ; Tounsi, 2020**). Généralement, la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (**Mahmoudi et al., 2013**). Subséquemment, la grande diversité structurale des composés phénoliques découle une grande variabilité de leurs propriétés physico-chimiques rendant impossible une présentation unique et générale (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

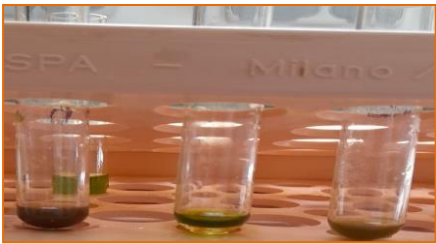
II.2 Criblage phytochimique

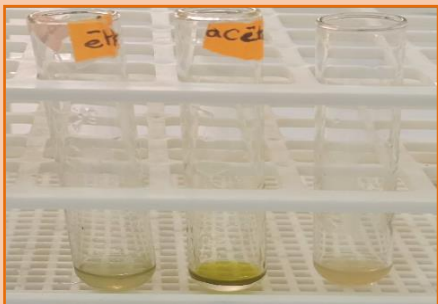
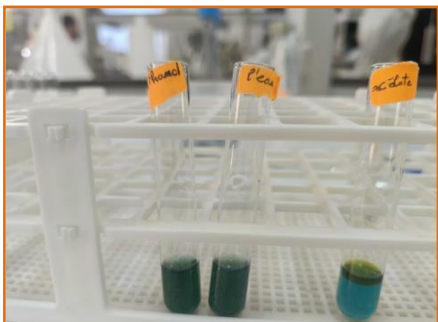
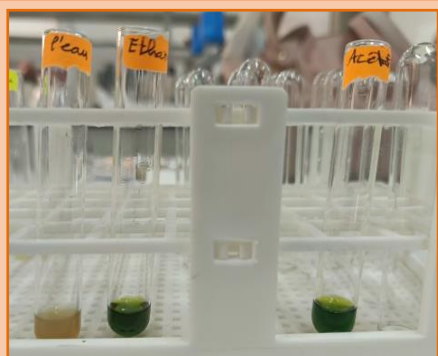
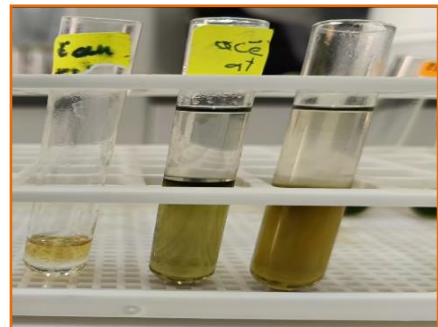
Compte tenu de la grande variété des composés naturels produits par les plantes, nombre d'entre eux possèdent des propriétés antioxydantes. Un criblage phytochimique a été réalisée comme étape préliminaire essentielle pour détecter qualitativement les composants actifs

potentiels dans les extraits végétaux, telles que les composés phénoliques, terpènes, azotés et les composés réducteurs. Ils sont exprimés en fonction du type de réaction observée, qui est lié à l'intensité du précipité ou de la coloration résultante.

Cette analyse a été réalisée sur les extraits préparés à partir des feuilles de la plante *Ruta graveolens* en utilisant trois solvants différents : l'éthanol, l'acétate d'éthyle et l'eau. Les résultats obtenus ont été résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Criblage phytochimique des extraits des feuilles de *Ruta graveolens*.

Groupes chimiques	Aqueux	Ethanol	Acétate	Résultats
Flavonoïdes	++	-	-	
Tanins	+++	+++	++	
Terpénoïdes	-	-	-	
Coumarines	+	-	-	
Anthocyanine	+	+	-	

Quinones libres	-	-	-	
Alcaloïdes	+++	++	-	
Composés réducteurs	-	-	-	
Saponosides	-	-	-	
Stéroïdes	-	++	+++	

Absence (-), Faiblement présent (+), Moyennement présent (++) , Fortement présent (+++)

D'après les résultats du criblage phytochimique des extraits de *Ruta graveolens*, nous observons une variation notable dans la présence des groupes chimiques selon le solvant utilisé. Il est à noter que les flavonoïdes sont uniquement présents dans l'extrait aqueux, tandis que les tanins et les alcaloïdes sont principalement présents dans les extraits aqueux et éthanoliques. Les tanins sont présents en forte concentration dans ces deux extraits, tandis que les alcaloïdes sont bien représentés dans l'extrait aqueux et modérément présents dans l'extrait éthanolique.

Quant aux stéroïdes, leur présence est significative dans l'extrait d'acétate d'éthyle. Les terpénoïdes, les coumarines et les anthocyanines sont pratiquement absents ou faiblement présents dans tous les extraits, particulièrement dans les extraits aqueux et éthanoliques. Tandis que, les composés réducteurs, les saponosides et les quinones libres n'ont pas été détectés dans aucune des solutions analysées. La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Ouahida et al., 2016**).

Ces résultats sont en partie en accord avec l'étude de **Azalework et al. (2017)** sur les feuilles de *Ruta graveolens*, notamment concernant la présence des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes dans les extraits aqueux et éthanoliques. En revanche, ils diffèrent quant à la présence des saponines et des terpènes, mais absents ou faiblement présents dans nos extraits. De plus, la présence marquée des stéroïdes dans l'extrait d'acétate d'éthyle n'a pas été détecté dans l'étude citée.

Egalement, le travail de **Gouami et Nebili (2020)**, sur la composition phytochimique de *Ruta graveolens*, a montré la présence des flavonoïdes (flavoneles, flavone, anthocyanes), des tanins catéchique, des terpènes, des stéroïdes, des alcaloïdes et des huiles essentielles. Ainsi, ils ont déclaré l'absence des tanins galliques, les saponines waet les quinones.

La variation de la composition chimique des plantes peut être influencée par plusieurs critères, qu'ils soient géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : le lieu de récolte et son environnement, la luminosité, les précipitations, le relief, la saison, la nature des sols, la salinité, le moment de la récolte, le patrimoine génétique, la partie de la plante étudiée, conditions et la durée de la récolte et de stockage ou la méthode d'extraction employée (**Falleh et al., 2008; Malik et al., 2012; Akhtar et al., 2018; Serondo et al., 2022**).

II.3 Analyses quantitatives

L'analyse quantitative des composés phénoliques des extraits de *Ruta graveolens* a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible pour déterminer leur teneur en phénols totaux, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques. Les composés phénoliques (tels que les flavonoïdes et tanins) représentent le groupe majeur impliqué dans l'activité antioxydante des végétaux, ce qui justifie leur sélection pour cette étude (Ouahida et al., 2016).

Les quantités de ces composés ont été déterminées en milligrammes d'équivalents de l'étalon utilisé par gramme de la matière sèche (mg EE/g MS) en utilisant l'équation linéaire ($y = ax+b$). alors, des courbes d'étalonnage ont été établies à partir de solutions standards de concentrations différentes.

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Ruta graveolens* a été effectué selon la méthode de Singleton-Rossi, à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Cette technique repose sur la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu en milieu alcalin par les groupes oxydables des composés phénoliques, ce qui conduit à la création de complexes ayant un pic d'absorption à 760 nm. L'intensité de ce pic est proportionnelle à la quantité totale de phénols présente dans l'extrait (Li et al., 2007 ; Bentabet et al., 2014). Pour cet objectif, une courbe d'étalonnage a été établie (Figure 08) en utilisant différentes concentrations d'acide gallique.

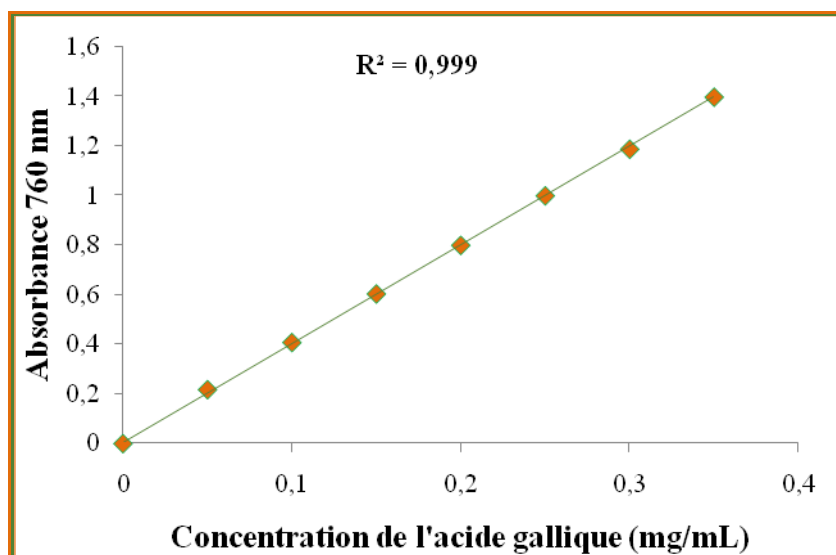


Figure 08: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des phénols totaux sont présentés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS). Ainsi, les résultats d'analyse colorimétrique sont illustrés dans la **Figure 09**.

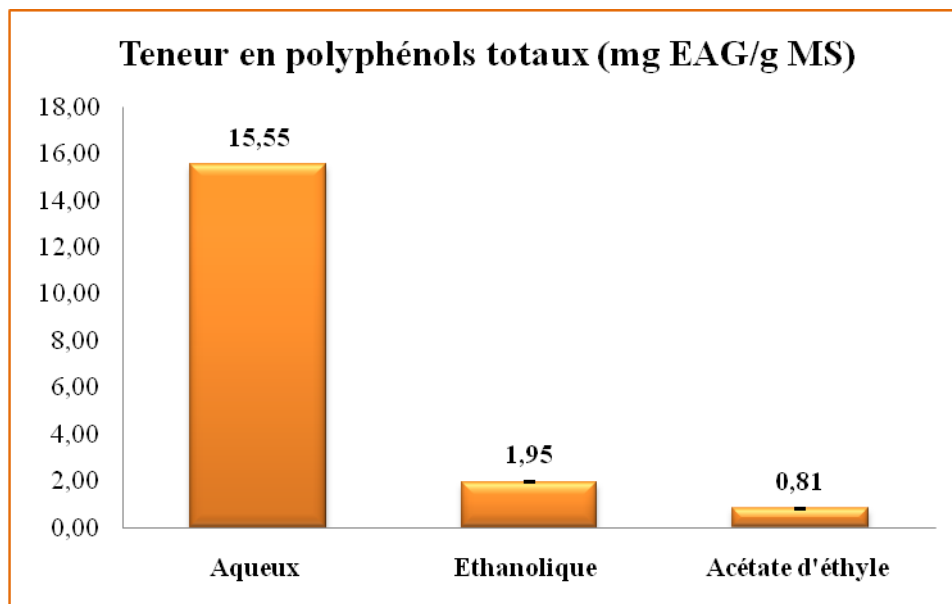


Figure 09 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Ruta graveolens*.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en composés phénoliques totaux varient sensiblement selon le type de solvant utilisé pour l'extraction. Ces teneurs s'étendent de $0,81 \pm 0,006$ à $15,55 \pm 0,0095$ mg EAG/g MS. La teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait aqueux ($15,55 \pm 0,0095$ mg EAG/g MS), suivie de l'extrait éthanolique ($1,95 \pm 0,017$ mg EAG/g MS), tandis que l'extrait à l'acétate d'éthyle présente la teneur la plus faible ($0,81 \pm 0,006$ mg EAG/g). Ces résultats indiquent que l'eau est le solvant le plus efficace pour l'extraction des polyphénols totaux, contrairement à l'acétate d'éthyle qui semble le moins adapté à cet effet.

Par ailleurs, les conditions d'extraction et les solvants utilisés ont des effets remarquables sur le taux des composés phénoliques extraits. Le taux très élevé des polyphénols dans l'extrait aqueux peut être dû à leur grande solubilité dans les solutions très polaires. Des différents travaux confirment que l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique. Cette augmentation est peut-être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (Mahmoudi et al., 2013 ; Abcha, 2020).

En outre, il est connu que les composés phénoliques solubles sont majoritairement localisés dans les vacuoles cellulaires, tandis que la majorité des lignines, flavonoïdes et polyphénols non solubles se situent dans la paroi cellulaire, où ils sont liés par des liaisons hydrogène et hydrophobes à des protéines et polysaccharides (**Machiex et al., 2005**). L'eau, lorsqu'elle contient une concentration adéquate de solvant organique, peut pénétrer les cellules. Toutefois, une concentration élevée de solvant organique peut entraîner la dénaturation des protéines, ce qui empêche la dissolution des polyphénols et affecte l'extraction (**Abcha, 2020**).

Egalement, l'utilisation de solvants tels que l'éthanol, l'eau ou l'acétate d'éthyle ne permet pas d'extraire uniquement les polyphénols, mais entraîne également la solubilisation d'autres composés non phénoliques, comme certains sucres et protéines. Ces substances peuvent interférer lors de la quantification des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. En effet, la faible spécificité de ce réactif constitue une des principales limites de cette méthode colorimétrique. Bien qu'il soit simple à utiliser et très sensible, le réactif réagit avec tous les groupes hydroxyles réducteurs, pas uniquement ceux des composés phénoliques (**Singleton et Rossi, 1965 ; Vuorela, 2005**).

Bien que, plusieurs études antérieures ont rapporté des teneurs en polyphénols totaux de *Ruta graveolens* généralement plus élevées que celles obtenues dans notre étude. Malgré que, la partie utilisée dans cette étude est les feuilles qui sont le siège de la photosynthèse. Généralement, cette partie est caractérisée par sa richesse en composés phénoliques qu'ils interviennent dans la protection de cette partie vis-à-vis différents types de stress (lumineux, hydrique, thermique, salin. etc.) (**Telli, 2017**).

Par exemple, **Barbouchi et al. (2024)**, ont analysé les feuilles à l'aide d'une extraction par Soxhlet, en utilisant de l'acétate d'éthyle comme solvant, obtenant une teneur très élevée de $104,60 \pm 0,45$ mg EAG/g. Une autre étude a été menée par **Asgharian et al. (2020)**, dont ils ont rapporté une teneur nettement plus faible pour l'extrait éthanolique, de $14,1 \pm 0,47$ mg EAG/g. En ce qui concerne la partie aérienne de cette plante, **Yu et al. (2021)** ont procédé par extraction à l'aide d'un mélange hydro-méthanolique, obtenant $24,96 \pm 0,19$ mg EAG/g. Tandis que, **Al Qaisi et al. (2021)** ont opté pour le méthanol pur, avec un résultat de $25,53 \pm 0,49$ mg EAG/g.

Les études précédentes sur les feuilles du genre *Ruta* ont été montrées également une grande variation des teneurs en phénols totaux. **Barbouchi et al. (2024)** ont été réalisés une étude sur *Ruta montana* par extraction à l'aide le Soxhlet dans l'acétate d'éthyle, révélant une teneur élevée de $146,42 \pm 0,76$ mg EAG/g. Ils ont encore mené une autre étude sur l'espèce *Ruta chalepensis*, utilisant le même solvant, et ont été rapportés une teneur de $68,64 \pm 0,63$ mg EAG/g. En revanche, une étude **Saadaoui et al. (2006)** portée sur la même espèce, mais utilisant une extraction au méthanol, a donné une teneur bien plus faible de 4,65 mg EAG/g.

Par conséquent, les différences observées entre ces études et la nôtre peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant utilisé, la méthode d'extraction appliquée, ainsi que la partie de la plante analysée. D'autres éléments, tels que la variété botanique, la période de récolte ou les conditions environnementales, pourraient également influencer significativement la teneur en polyphénols (**Falleh et al., 2008 ; Baba Ouyoub, 2017**).

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent un vaste groupe de plus de 6000 composés naturels, jouant un rôle essentiel en tant que pigments responsables des couleurs jaune, orange et rouge observées dans divers organes végétaux (**Ghedira, 2005**). Pour leur quantification, la méthode de **Lamaison et Carnat (1991)** a été réalisée, en utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui permet la formation d'un complexe de couleur jaunâtre avec les groupement hydroxyles des flavonoïdes, particulièrement stable, dont l'absorption maximale en UV est observée à une longueur d'onde de 409 nm. Alors, c'est une méthode simple, efficace et peu coûteuse (**Ekpo et al., 2020**).

Le contenu des flavonoïdes dans les extraits des feuilles du *R. graveolens* a été effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage basée sur la rutine comme standard (**Figure 10**).

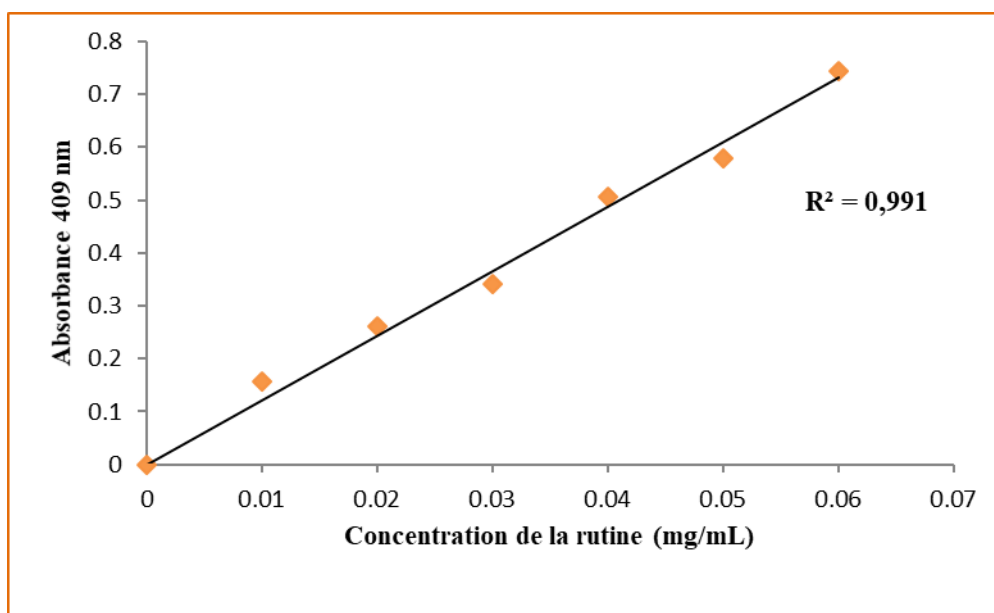


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

La courbe représentée à la Figure (10) permet d'estimer les teneurs en flavonoïdes, exprimées en milligrammes d'équivalent de la rutine (ER) par gramme de matière végétale sèche (MS) (mg ER/g MS) (Figure 11).

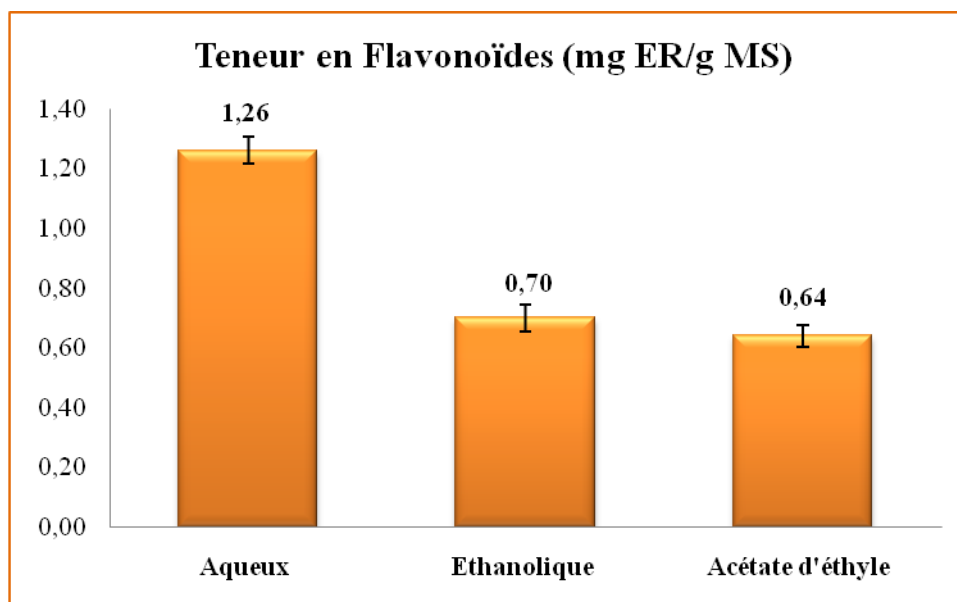


Figure 11 : Teneur en flavonoïdes des extraits de *Ruta graveolens*.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonoïdes s'étendent selon le type de solvant utilisé pour l'extraction. Ces teneurs vont de 0,64 à 1,26 mg ER/g MS, en fonction de la polarité de chaque solvant. La teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait aqueux

(1,26 $\pm$ 0,045 mg ER/g MS), suivie de l'extrait éthanolique (0,70 $\pm$ 0,047 mg ER/g MS), tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle présente la teneur la plus faible (0,64 $\pm$ 0,038 mg ER/g MS).

Au regard de ces résultats, nous pouvons constater que l'extrait aqueux des feuilles de *R. graveolens* est plus riche en flavonoïdes par rapport aux ceux d'éthanol et d'acétate d'éthyle. Ceci, est peut être expliqué par la nature des composés flavonoïdiques qui sont solubilisés préférentiellement dans l'eau. Malgré que l'éthanol est bien cité parmi les meilleurs solvants permettant d'extraire le maximum des composés phénoliques (**Mahmoudi et al., 2013**) ; **Abcha, 2020**). L'utilisation de solvants à polarité différentes permet de séparer les composés de la poudre de feuilles selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction et donc permet de séparer ses flavonoïdes selon leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et tri-glycosylés) (**Ouahida et al., 2016**). De ce fait, la majorité des flavonoïdes de la plante *R. graveolens* sont glycosylés ce qui favorise leur solubilisation dans l'eau. Ainsi, ces résultats confirment nos résultats qualitatifs du criblage phytochimique où nous avons noté la présence des flavonoïdes exclusivement dans l'extrait aqueux.

En termes de comparaison avec d'autres études, ces résultats sont nettement inférieures à ceux obtenus par **Al Qaisi et al. (2021)** qu'ils ont a révélé une teneur de 6,66 $\pm$ 0,31 mg ER/g pour l'extraite au méthanol de la partie aérienne. Tandis que, l'étude d'**Asgharian et al. (2020)**, où l'éthanol à 70 % a été employé comme solvant d'extraction, a montré un taux égale à 15,8 $\pm$ 0,19 mg ER/g.

En général, les changements dans les spectres d'absorption des flavonoïdes dépendent des modifications chimiques : hydroxylation, méthylation, glycosylation, condensation avec d'autres molécules, qu'elles soient phénoliques ou non. Par ailleurs, les propriétés physicochimiques de l'environnement sont aussi responsables de changements significatifs dans les spectres d'absorption : le pH, la concentration en métaux, l'interférence avec d'autres composés, ainsi que la solubilité qui est influencée non seulement par la polarité du solvant d'extraction mais également par le nombre et la position des groupements hydroxyles libres, le poids moléculaire et même le nombre, le type et la position de la liaison entre les glucides et les flavonoïdes (**Bourgou et al., 2016** ; **Telli, 2017**).

II.3.3 Dosage des tanins condensés

Les tanins sont des composés fortement hydroxylés, appartenant au groupe des composés phénoliques de haut poids moléculaire (**Alkurd, 2008**). Ils sont caractérisés par une saveur

astringente. Ainsi, ils sont présents dans différentes parties de la plante, notamment les feuilles, l'écorce, le bois, les fruits et les racines (Scalbert, 1991). La teneur en tanins condensés des feuilles de *R. graveolens* a été déterminée selon la méthode de Sun *et al.* (1998) à l'aide du réactif vanilline-HCl, reposant sur la formation d'anthocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 510 nm (Beddou, 2015). La catéchine a été utilisée comme étalon dans ce dosage.

La quantification des teneurs a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la catéchine (Figure 12).

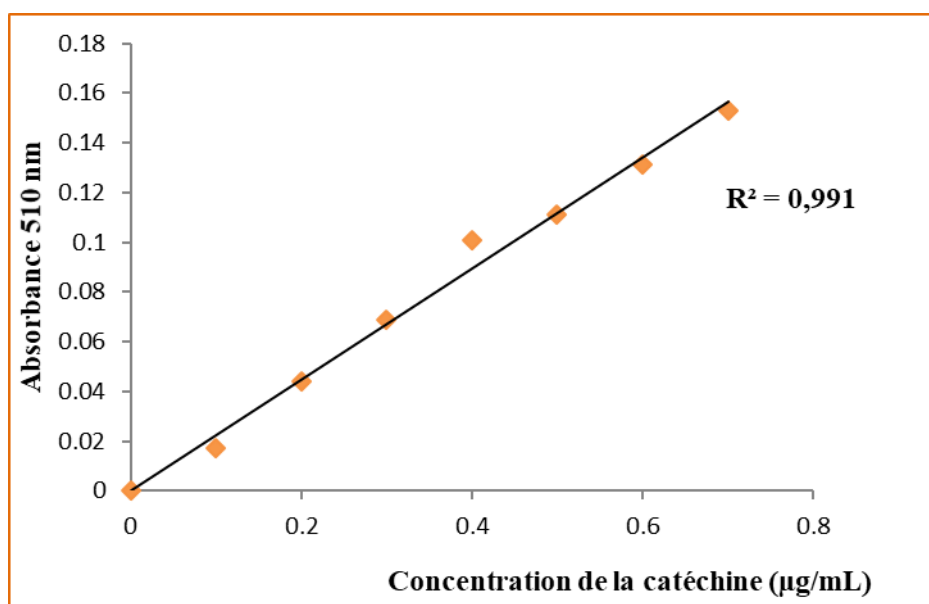


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

La courbe illustrée dans la Figure (12) permet d'évaluer la concentration en tanins condensés des différents extraits de *R. graveolens*, exprimée en milligrammes d'équivalent catéchine (EC) par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

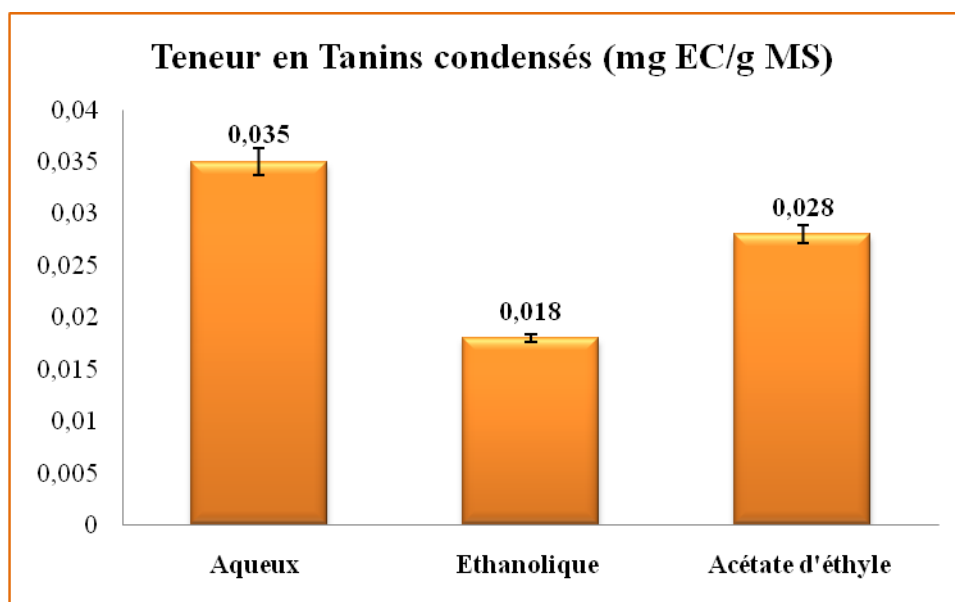


Figure 13 : Teneur en tanins condensés des différents extraits de *Ruta graveolens*

D'après ces résultats, on remarque une variation des teneurs en tanins selon le solvant utilisé pour l'extraction. Cette variabilité est étroitement liée à la polarité du solvant. En effet, les teneurs en tanins condensés des extraits obtenus varient entre 0,018 et 0,035 mg EC/g MS. La teneur la plus élevée est enregistrée dans l'extrait aqueux avec une valeur de $0,035 \pm 0,099$ mg EC/g MS, ce qui suggère une meilleure extraction des tanins avec ce solvant. Elle est suivie par l'extrait d'acétate d'éthyle, dont la teneur est de $0,028 \pm 0,009$ mg EC/g MS, indiquant une efficacité modérée de ce solvant dans l'extraction des tanins. La teneur la plus faible est observée dans l'extrait éthanologique, avec une valeur de $0,018 \pm 0,004$ mg EC/g MS, ce qui montre que ce solvant est le moins efficace pour extraire les tanins des feuilles de *Ruta graveolens*.

En comparant les résultats obtenus sur les feuilles de *Ruta graveolens* extraites par macération, notre teneur en tanins à l'éthanol $0,018 \pm 0,005$ mg/g MS est proche de celle de l'étude **Lakhdari et Mohammedi (2023)** qui était de 0,025 mg/g MS. L'étude **Bekkar et al. (2021)**, utilisant aussi la macération sur les feuilles de *Ruta chalepensis*, ont été révélés des teneurs nettement supérieures à nos extraits avec des valeurs égales à $17,18 \pm 0,005$ mg/g et $18,97 \pm 0,002$ mg/g pour les extraits aqueux et méthanolique respectivement.

Les tanins condensés, aussi appelés tanins non hydrolysables, constituent une catégorie de composés phénoliques dérivés de la condensation des flavane-3-ols (possiblement des flavane-3,4-diols) issus de la (+)-catéchine ou de ses multiples isomères. Ils sont des composés dont la complexité varie en fonction de la nature des composants impliqués et du

type de condensation. Sous un traitement à chaud avec des acides, elles se transforment en pigments de teinte rougeâtre, appelés anthocyanidols. L'extraction de ces substances est déterminée par leur degré de polymérisation, le type de solvant employé et les conditions d'extraction mises en œuvre (**Macheix *et al.*, 2005 ; Sebrou et Haouari, 2018**).

D'après **Baba Ouyoub (2017)**, la présence de liaisons covalentes de type C-C entre les unités flavan-3-ols influence la solubilité des tanins condensés. On pourrait donc avancer que les faibles concentrations en tanins condensés présents dans les extraits des feuilles pourraient être attribuées soit à la faible capacité de dissolution de ces molécules dans les trois solvants choisis pour l'extraction, soit à une réelle pauvreté de cet organe en tanins condensés.

En outre, la technique vanilline-HCl, basée sur l'interaction du cycle A des anthocyanidines avec un aldéhyde aromatique, comme la vanilline. Bien que rapide, elle présente une faible reproductibilité due à la concentration en vanilline, le type de standard, la concentration et la nature de l'acide, la durée de réaction et le type de solvant (**Schofield *et al.*, 2001**).

En général, grâce à leur masse moléculaire élevée et au haut degré d'hydroxylation de leurs noyaux aromatiques, les tanins se caractérisent par un potentiel antioxydant très élevé. Cette activité repose sur leur aptitude à piéger les radicaux libres, à chélater les métaux de transition, à inhiber les enzymes prooxydants et à prévenir la peroxydation lipidique (**Koleckar *et al.*, 2008**).

II.3.4 Dosage des acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent un groupe de polyphénols aux fonctions biologiques variées chez les plantes. Ils interviennent dans leur croissance, leur coloration, leurs propriétés organoleptiques, ainsi que dans la protection contre le stress oxydatif (**Kawsar *et al.*, 2008 ; Challacombe *et al.*, 2012**). Leur quantification a été effectuée à l'aide de la méthode d'**Arnold (1937)**, avec l'acide caféique comme standard pour l'élaboration de la courbe d'étalonnage (**Figure 14**).

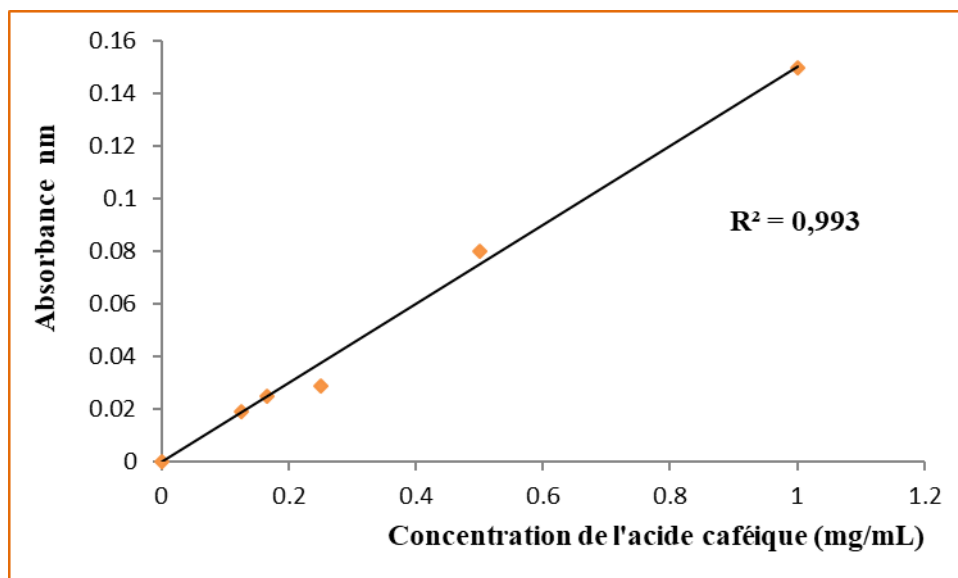


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.

La Figure 15 présente la variabilité des concentrations des acides phénols pour les différents extraits de *Ruta graveolens*. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide caféique (EAC) par gramme de la matière végétale sèche (mg EAC/g MS).

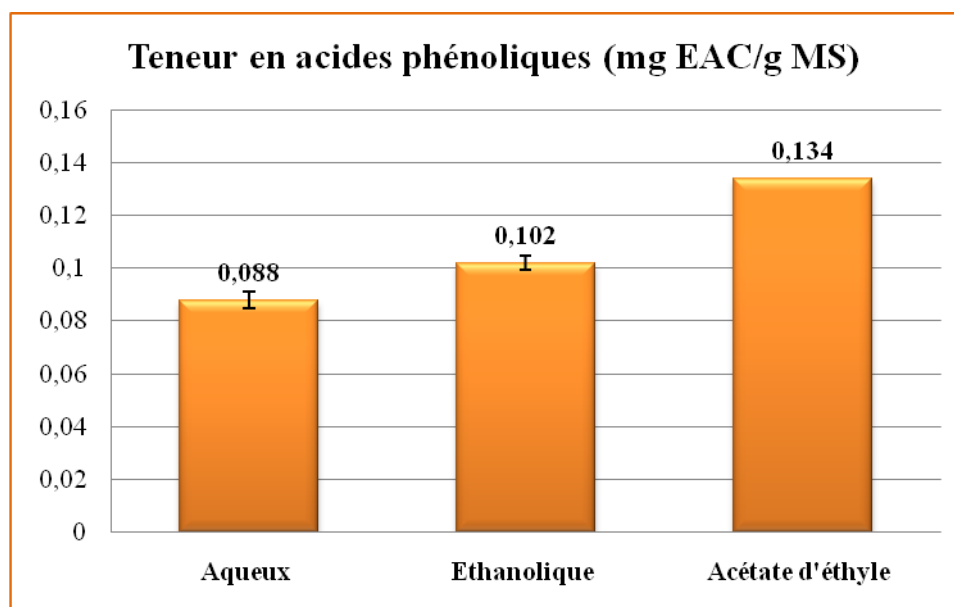


Figure 15 : Teneur en acides phénoliques de différents extraits de *Ruta graveolens*.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en acides phénoliques vont de 0,088 à 0,134 mg EAC/g MS. La teneur la plus élevée a été observée dans l'extrait d'acétate d'éthyle, avec une valeur de $0,134 \pm 0,000$ mg EAC/g MS, indiquant une bonne efficacité de ce solvant pour

l'extraction des acides phénoliques. Elle est suivie par l'extrait éthanolique, dont la teneur est de $0,102 \pm 0,027$ mg EAC/g MS. La teneur la plus faible a été enregistrée par l'extrait aqueux, avec une valeur de $0,088 \pm 0,033$ mg EAC/g MS, ce qui montre une extraction moins efficace des acides phénoliques avec ce solvant.

Les taux faibles enregistrés dans l'extrait aqueux et éthanolique peuvent être dus à l'estérification de différentes fonctions alcools des acides phénols ce qui diminue leur polarité. Egalement, les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique peuvent être méthylés, ce qui conduit à la diminution de la polarité de ces composés, ce qui par conséquent peut justifier la richesse de l'extrait d'acétate d'éthyle par ces composés (**Bruneton, 2009**).

Dans la plante, la nature chimique des acides phénols, allant de composés simples à fortement polymérisés, influence leur solubilité. Cette diversité structurale qui est à l'origine de la large variation des propriétés physico-chimiques influant sur le processus d'extraction (**Telli, 2017**). **Bruneton (2009)** a affirmé que l'extraction de ces composés, de préférence à partir de matériel frais, est habituellement réalisée à l'aide d'un alcool (comme le méthanol) ou d'acétate d'éthyle. Cependant, pour minimiser la quantité de substances lipophiles extraites et prévenir une estérification partielle des acides phénoliques, une solution hydro-alcoolique peut être utilisée. De plus, ces solvants organiques purs ne parviennent pas à extraire entièrement les acides phénols hautement polaires (tels que les acides benzoïque et cinnamique). Il est conseillé d'utiliser des mélanges d'alcools-eau ou d'acétone-eau (**Aitfella, 2010 ; Boulkroune, 2012**).

II.4 Evaluation du pouvoir antioxydant

Un excès de radicaux libres dans le corps et une insuffisance du système de défense interne constituent des éléments clés dans la physiopathologie de diverses maladies (pathologies cardiovasculaires, neurologiques et processus néoplasiques). À l'heure actuelle, les travaux de recherche cherchent à renforcer ces défenses internes grâce à des composés naturels dérivés des plantes, qui possèdent des propriétés antiradicalaires. L'augmentation de l'intérêt pour les bienfaits antioxydants sur la santé a conduit à l'élaboration d'une multitude de tests pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits naturels (**Abdalla et Roozen, 1999 ; Ben-Moussa et al., 2020**). Les extraits naturels sont des combinaisons de divers composés, présentant différents groupements fonctionnels, polarités et propriétés chimiques. De ce fait,

des analyses multiples pour déterminer le potentiel antioxydant des extraits seraient non seulement plus informatif, mais également indispensable (**Ozturk et al., 2007**).

Généralement, il existe une vaste gamme de méthodes analytiques pour évaluer la capacité antioxydante en neutralisant divers radicaux. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux (**Benzid et Litim, 2016**). Dans cette étude, l'activité antioxydante des différents extraits du *Ruta graveolens* est évaluée *in vitro* par trois tests chimiques : balayage du radical libre DPPH•, balayage du radical cation ABTS•+ et le pouvoir de réduction ferrique (test FRAP).

II.4.1 Test du DPPH

Le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est un radical libre stable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène devient stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un atome d'hydrogène. La réduction de DPPH• est déterminée par le changement de couleur du violet vers le jaune (**Atoui et al., 2005**). L'intensité de la décoloration est proportionnelle au pouvoir antioxydant (**Habibou et al., 2019**). La réaction est alors quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 517 nm.

Bien que, IC_{50} , la concentration des extraits nécessaire pour piéger 50% de radicaux libres, est calculée graphiquement en traçant les pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées (**Bertoncelj et al., 2007**).

La variation du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations (mg/mL) des divers extraits de feuilles de *Ruta graveolens* ainsi que des antioxydants standards sélectionnés est illustrée dans la Figure 16.

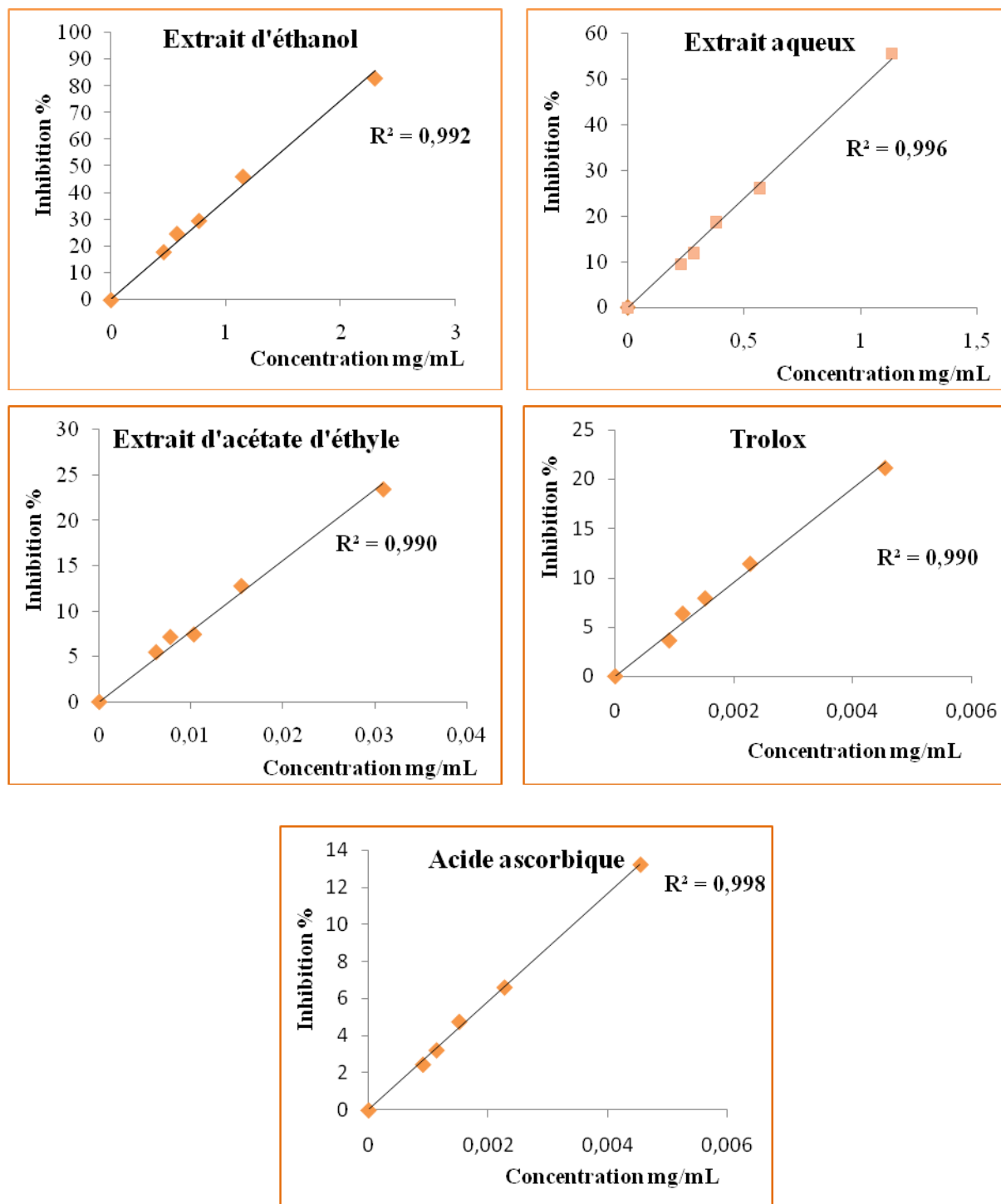


Figure 16 : Courbes montrant la variation du pourcentage d'inhibition I% du radical DPPH• en fonction de la concentration des divers extraits de *Ruta graveolens* et des antioxydants standards.

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés à partir des tracées précédents, nous ont permis de déterminer la concentration d'inhibition à 50% des antioxydants présents dans les extraits exprimés en mg/mL. De même, nous avons calculé les IC₅₀ de l'acide ascorbique et

du Trolox afin de les comparer avec ceux des extraits testés. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 4) :

Tableau 4 : Valeurs d'IC₅₀ de l'activité anti-oxydante déterminée par le test DPPH des différents extraits de *Ruta graveolens* et les antioxydants standards.

Extraits	IC ₅₀ mg/mL
Extraits de <i>Ruta graveolens</i>	
Aqueux	1,041 ± 0,010
Ethanol	1,338 ± 0,023
Acétate d'éthyle	0,064 ± 0,000
Antioxydants standards	
Trolox	0,010 ± 0,000
Acide ascorbique	0,017 ± 0,000

La capacité antioxydante des différents extraits est inversement proportionnelle aux valeurs d'IC₅₀ d'un composé. De ce fait, à faible valeur d'IC₅₀, l'antioxydant est très efficace et puissant dans l'inhibition ou le piégeage du radical (**Khoudali et al., 2014**). D'après les résultats du test de piégeage du radical libre DPPH•, notre plante a montré une activité importante. Nous notons des valeurs d'IC₅₀ des différents extraits des feuilles de *Ruta graveolens* varient globalement entre 0,064 et 1,338 mg/mL.

Ainsi, nos résultats révèlent que parmi les extraits étudiés, celui obtenu avec l'acétate d'éthyle a présenté l'activité antioxydante la plus élevée, avec une IC₅₀ de 0,0643 mg/mL. L'extrait aqueux arrive en deuxième position avec une IC₅₀ de 1,041 mg/mL, tandis que l'extrait éthanolique a affiché la plus faible activité, avec une valeur de 1,338 mg/mL. Autant, les deux extraits (aqueux et éthanolique) représentés des valeurs d'IC₅₀ très proches, ce qui peut expliquer par la présence des mêmes molécules spécifiques et actifs chez les deux extraits. A des fins comparatives, ces résultats sont inférieurs à ceux des antioxydants de

référence, Trolox et l'acide ascorbique, qu'ils ont montré des valeurs d'IC₅₀ égales 0,010 et 0,017 mg/mL respectivement.

Une étude menée par **Boudaba et Benabbes (2022)** a montré que la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH• est égale 36,0555 mg/mL lorsque l'extraction a été menée par l'acétate d'éthyle, cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée par notre étude ; ce qui montre la grande efficacité anti-radicalaire de nos extraits vis-à-vis le radical DPPH•.

Parallèlement, l'étude de **Giresha et ses collaborateurs (2015)** sur les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Ruta graveolens* en utilisant la méthode d'extraction par Soxhlet ; dont ils ont constaté que l'extrait éthanolique est celui qui représente la meilleure capacité à neutraliser le radical DPPH• avec un effet anti-radicalaire de 3,27 µg/mL. Autant, **Sghaier et al. (2018)** ont révélé une forte activité anti-radicalaire de *Ruta chalapensis*, avec des valeurs d'IC₅₀ très faibles pour les extraits aqueux et méthanolique (0,0541 et 0,0736 mg/mL respectivement).

En revanche, le travail de **Terkmane et al. (2018)**, utilisant la méthode Soxhlet pour l'extraction des composés végétaux, a rapporté une activité anti-radicalaire puissante avec l'extrait aqueux (moins 0,1 mg/mL). Tandis que, l'extrait éthanolique pour même travail a également montré une grande efficacité anti-radicalaire contre le radical DPPH• avec une valeur d'IC₅₀ égale $0,05118 \pm 0,00114$ mg/mL. Ce qui est proche avec notre extrait d'acétate d'éthyle qui a montré une faible valeur de d'IC₅₀, soit 0,064 mg/mL. Ces résultats soulignent l'importance du choix du solvant d'extraction et l'influence de la méthode d'extraction sur l'efficacité des composés bioactifs.

On peut attribuer cette variation à l'action combinée des divers composants dotés de propriétés anti-radicalaires qu'ils peuvent renfermer (les glycosides, les polyphénoliques, les peptides, les acides organiques...). On pourrait donc affirmer que la différence du pouvoir antioxydant entre nos extraits peut être attribuée à la concentration et/ou à l'existence de certaines molécules potentiellement actives, telles que les flavonoïdes et/ou les composés phénoliques, présentes dans les extraits (**Ouahida et al., 2016**).

De multiples études sur les caractères antioxydants des extraits végétaux ont révélé que leur potentiel à neutraliser les radicaux libres, mesuré par l'essai DPPH, est étroitement associé à leur concentration en polyphénols totaux. Ce qui confirme que les polyphénols sont

des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. Ces résultats sont conformes à ceux de plusieurs auteurs qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante. Toutefois, l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante, due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Heim et al., 2002 ; Torres de pinedo et al., 2007 ; Falleh et al., 2008 ; Ouahida et al., 2016**).

Le test DPPH est couramment employé pour mesurer la capacité des composés à agir comme des pièges à radicaux libres ou des donneurs d'hydrogènes (**Kaanin et al., 2012**). C'est une méthode rapide, simple et non couteuse pour mesurer la capacité antioxydante des extraits végétaux. Il se distingue par sa capacité à s'adapter à divers échantillons en peu de temps, et il est suffisamment sensible pour identifier les ingrédients actifs à des concentrations faibles (**Khenfer et Medjouel, 2016**). Par ailleurs, les conditions employées (l'usage de solvants organiques et une basse température) évitent l'auto-oxydation des molécules examinées (**Yi et al., 2008**).

II.4.2 Test de piégeage du radical-cation ABTS•+

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•+) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. D'autres oxydants peuvent être utilisés, tels que le dioxyde de manganèse (MnO₂) (**Nadal, 2009**). Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (**Rice-Evans et al., 1995**).

La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à 734 nm. Autant, l'ajout d'un antioxydant à une solution contenant ce radical cationique entraîne sa réduction, accompagnée d'une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé, mais également, dans de nombreux cas, du temps de réaction et de la concentration (**Re et al., 1999**).

L'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* a été évaluée en mesurant la décoloration du milieu réactionnel, après obtention d'une absorbance stable du témoin et l'ajout de l'extrait végétal antioxydant. Le calcul des pourcentages d'inhibition (I%) pour chaque concentration d'extrait a permis d'établir une régression linéaire entre ces pourcentages et les différentes concentrations des extraits ainsi que celles des antioxydants de référence (Trolox et acide ascorbique) (Figure 17).

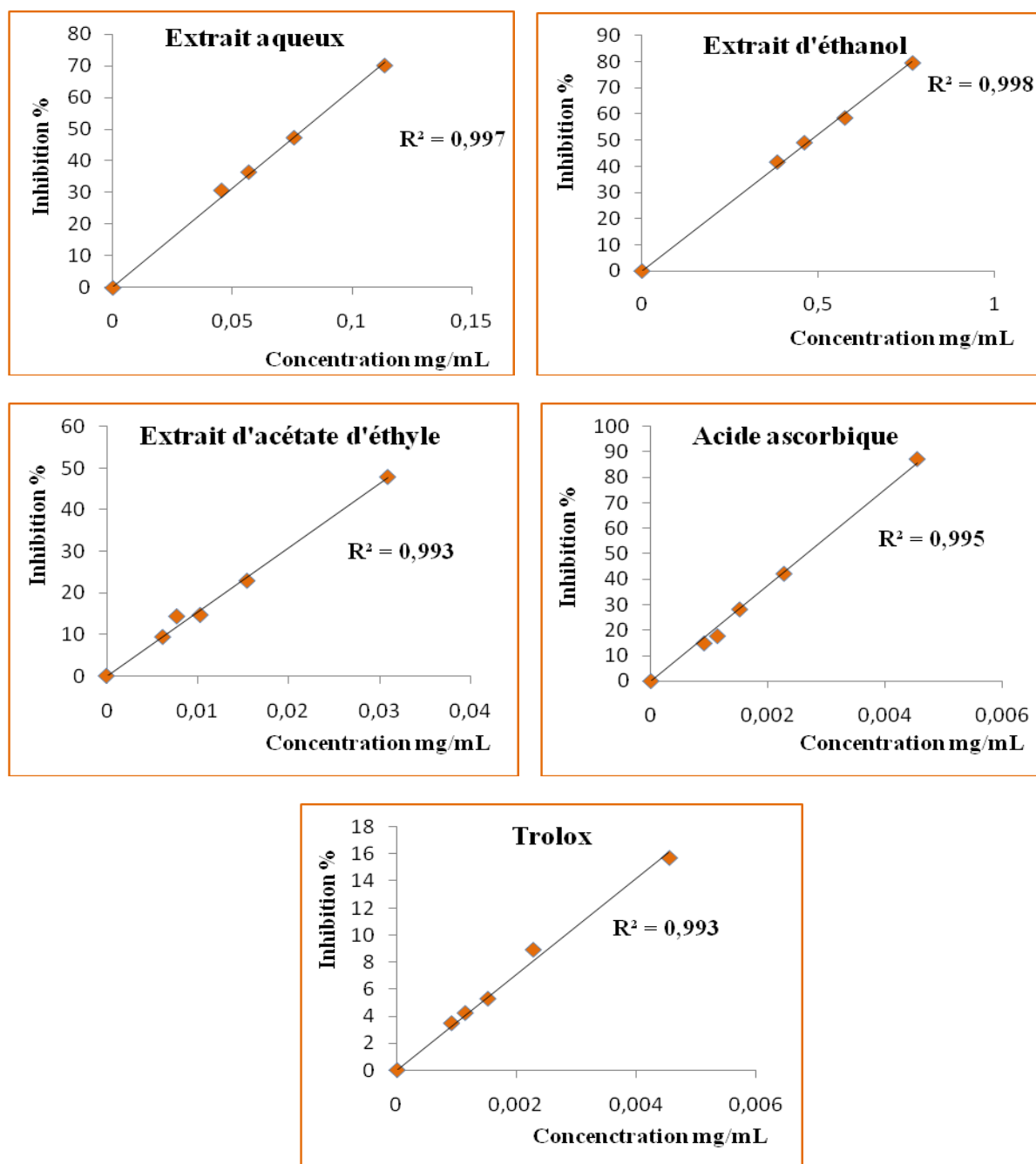


Figure 17 : Courbes montrant la variation du I% du radical ABTS•+ en fonction de la concentration des divers extraits de *Ruta graveolens* et des antioxydants standards.

À partir de ces courbes, nous avons déduit les valeurs d'IC₅₀ de chaque extrait, définies comme la concentration d'extrait nécessaire pour réduire de 50 % les radicaux d'ABTS•+ dans un milieu réactionnel. Une valeur d'IC₅₀ plus faible correspond à une efficacité antioxydante plus élevée ; cette valeur est exprimée en mg/mL (Dias *et al.*, 2020). De même, nous avons calculé les valeurs d'IC₅₀ des standards (Trolox et acide ascorbique) afin de les comparer à celles de nos extraits. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 5.

Tableau 5: Valeurs d'IC₅₀ de l'activité anti-oxydante déterminée par le test d'ABTS des différents extraits de *Ruta graveolens* et les antioxydants standards.

Extraits	IC ₅₀ mg/mL
Extraits de <i>Ruta graveolens</i>	
Aqueux	0,081 ± 0,012
Ethanol	0,481 ± 0,012
Acétate d'éthyle	0,032 ± 0,001
Antioxydants standards	
Trolox	0,014 ± 0,000
Acide ascorbique	0,002 ± 0,000

D'après les résultats présentés dans le Tableau 5, il apparaît clairement que nos extraits possèdent une activité antioxydante très puissante vis-à-vis du radical cation ABTS•+, indiquant de faibles valeurs d'IC₅₀. Ces valeurs sont comparables à celles de l'antioxydant standard, ce qui suggère que nos extraits pourraient constituer une alternative efficace aux antioxydants de synthèse. Ainsi, ces résultats suggèrent que nos extraits présentent globalement une bonne capacité antioxydante, probablement en raison de la présence abondante de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques, leur conférant une forte réactivité vis-à-vis des radicaux libres (Sokol-Letowska, 2007).

De manière générale, les valeurs d'IC₅₀ varient considérablement entre 0,032 ± 0,001 et 0,481 ± 0,012 mg/mL. Parmi les trois extraits de *R. graveolens* testés, l'extrait d'acétate

d'éthyle représente une excellente capacité inhibitrice du radical cation ABTS•⁺ avec une d'IC₅₀ de 0,032 ± 0,001 mg/mL. Par contre, une modérée activité antioxydante a été déterminée pour l'extrait aqueux (0,081 ± 0,012 mg/mL). La faible activité anti-radicalaire de cet extrait peut s'expliquer par la glycosylation des flavonoïdes, où les fonctions hydroxyle donneuses d'électrons sont engagées dans des liaisons glycosidiques (O- glycosides, C- glycoside) et même ester ou éther (**Baba Ouyoub, 2017**).

En ce qui concerne l'extrait éthanolique, il est à noter que son potentiel antioxydant est moins important par rapport les autres extraits (0,481 mg/mL) qui s'avèrent incapable de libérer facilement des protons. Alors, l'activité anti-radicalaire réduite pourrait être due à l'inefficacité de cet extrait à fournir un atome d'hydrogène ou un électron unique, et également à la solubilité limitée de leur composants dans le milieu réactionnel (**Noureddine et al., 2019**).

Par ailleurs, les antioxydants de synthèse actuellement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, notamment le BHA, sont suspectés d'avoir des effets nocifs sur la santé humaine (**Contini et al., 2008**). La comparaison de l'activité antioxydante de nos extraits avec celle des antioxydants de référence (Trolox et acide ascorbique) montre que nos extraits présentent un potentiel inhibiteur des radicaux libres très élevé, comparable à celui observé avec les standards. L'extrait d'acétate d'éthyle, en particulier, a affiché le pouvoir antioxydant le plus élevé avec une valeur d'IC₅₀ très proche de celle du Trolox (0,014 mg/mL).

En termes de comparaison, l'étude de **Boudaba et al. (2022)** a montré que la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical ABTS•⁺ est de l'ordre 0,8661 ± 0,0039 mg/mL lorsque l'extraction a été menée par l'acétate d'éthyle ; cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée par notre étude. Tandis que, **Poonkodi et al. (2017)** ont montré une activité antioxydante très efficace pour les extraits de méthanol et d'éther de pétrole avec des valeurs d'IC₅₀ de 0,04832 mg/mL et 0,07905 mg/mL respectivement. Ces résultats confirment que le choix du solvant joue un rôle déterminant dans l'extraction des composés bioactifs, en particulier les composés phénoliques et flavonoïde, soulignant ainsi le potentiel prometteur de l'extrait d'acétate d'éthyle pour le développement de produits antioxydants naturels.

En outre, les résultats de l'activité anti-radicalaire de notre extrait d'acétate d'éthyle montrent une activité antioxydante plus proche que celle rapportée par **Althaher et al. (2024)** sur l'espèce *Ruta chalepensis*, dont ils ont montré que la concentration d'extrait nécessaire

pour réduire 50% du radical ABTS•+ est égale 0,025 mg/mL lorsque l'extraction a été menée par le méthanol. D'une manière générale et selon la littérature, l'activité anti-oxydante des extraits des végétaux dépend du type du solvant d'extraction et de sa polarité, dont la distribution des substances à activité anti-oxydante entre les différents extraits dépend de polarité des extraits (Baba Ouyoub, 2017).

II.4.3 FRAP (ferric reducing antioxydant power)

Nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* en employant la méthode FRAP. Fréquemment, le pouvoir réducteur est utilisé pour évaluer la capacité d'un antioxydant à donner des électrons. En d'autres termes, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à cette technique une sensibilité spécifique pour évaluer les concentrations de polyphénols participant à la réaction redox (Amarowicz, 2004; Papuc et al., 2017).

Dans cette étude, le pouvoir réducteur des extraits a été effectué selon la méthode d'Oyaizu (1986). Elle s'agit d'une méthode simple et rapide pour évaluer l'activité antioxydante, basée sur la capacité des polyphénols à réduire le complexe fer ferrique Fe^{3+} /ferricyanide (de couleur jaune) en complexe fer ferreux Fe^{2+} /ferricyanide (de couleur bleu-vert). Ce changement est mesuré à une longueur d'onde de 700 nm (HowYee Lai et YauYan Lim, 2011).

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence (contrôle positif), et son absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance reflète une activité antioxydante plus élevée. Le pouvoir réducteur est exprimé par la valeur $A_{0,5}$, correspondant à la concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,5 (Figure 18) (Ben-Moussa et al., 2020).

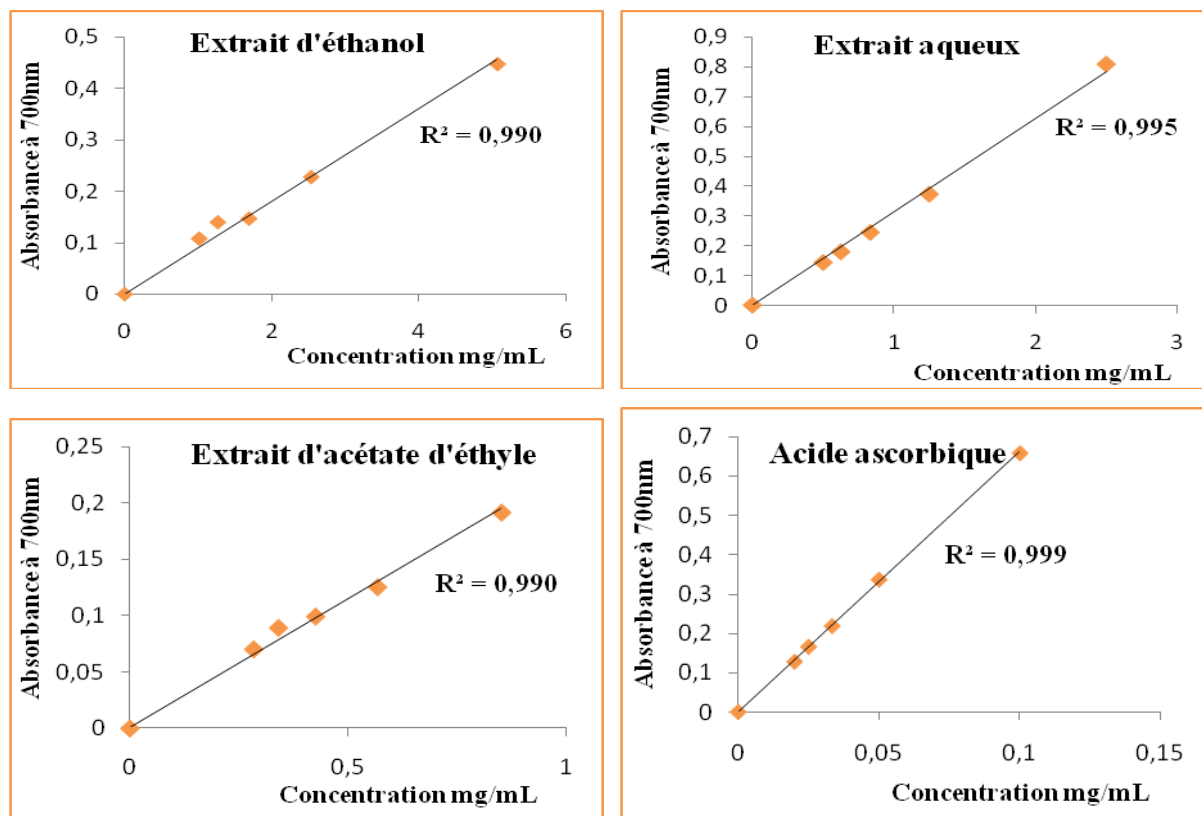


Figure 18 : Pouvoir réducteur à 700nm des extraits de *Ruta graveolens* et l'acide ascorbique.

Les valeurs d' $A_{0.5}$ pour les différents extraits étudiés et de l'acide ascorbique sont indiquées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Valeurs des $A_{0.5}$ du test FRAP des extraits de *Ruta graveolens* et l'acide ascorbique.

Extraits	$A_{0.5}$ (mg/mL)
Extraits de <i>Ruta graveolens</i>	
Aqueux	1,607
Ethanol	5,555
Acétate d'éthyle	2,183
Antioxydant standard	
Acide ascorbique	0,075

Les valeurs $A_{0.5}$ révèlent que les différents extraits de *Ruta graveolens* présentent des pouvoirs réducteurs élevés. Cependant, ce pouvoir réducteur reste inférieur à celui de l'acide ascorbique, dont $A_{0.5}$ est de 0,075 mg/mL. Nous remarquons ainsi que l'ensemble des valeurs d' $A_{0.5}$ varient globalement entre 1,607 et 2,183 mg/mL. En effet, l'extrait aqueux présente un puissant pouvoir réducteur de fer. La capacité réductrice de fer la plus faible est enregistrée pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

Il ressort des résultats regroupés dans le tableau 6 que l'extrait aqueux présente le meilleur pouvoir réducteur de fer par rapport les autres extraits. L'analyse quantitative a été montrée ainsi que cet extrait expose les meilleurs teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. Ce ci peut être explique sa puissante capacité réductrice de fer. Alors, la capacité des extraits végétaux à réduire le complexe fer ferrique varie en fonction des composés phénoliques présents.

Pareillement, L'activité antioxydante des trois extraits pourrait également être attribuée à la présence d'autres composés capables de céder des électrons, comme les terpénoïdes (monoterpène et sesquiterpène). De plus, les coumarines, qui ont la capacité de capturer les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, jouent un rôle crucial dans l'inhibition de la peroxydation des lipides membranaires. Elles possèdent une activité antiperoxydante (Igor, 2002).

Dans l'étude de Elansary *et al.* (2020) portant sur *Ruta graveolens*, cette plante a présenté l'activité antioxydante la plus élevée parmi les différentes espèces végétales étudiées. En revanche, dans l'étude menée par Terkmane *et al.* (2018) sur *Ruta chalepensis*, l'extrait éthanolique a montré un pouvoir réducteur plus important avec une valeur d' C_{50} de $0,660 \pm 0,0083$ mg/mL, tandis que l'acide ascorbique avait une grande capacité réductrice de fer (IC_{50} de $0,0407 \pm 0,0011$ mg/mL).

La capacité des extraits végétaux à diminuer le complexe fer ferrique est variable, dépendant des composés phénoliques présents. En effet, ces composés sont généralement liés à des agents réducteurs qui ont la capacité d'éliminer les radicaux libres en les transformant en formes plus stables (Abirami *et al.*, 2014). De même, bien que nos extraits contiennent moins de composés phénoliques, ces résultats s'expliquent par la synergie des composés phénoliques présents dans les extraits. Il est à noter que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de

la quantité de composés phénoliques, mais également de leur structure (**Attou, 2011 ; Belyagoubi, 2012**).

Plusieurs études ont rapporté que l'activité antioxydante des plantes qui ont des propriétés thérapeutiques est due à la présence de substances naturelles principalement des polyphénols (**Ouahida *et al.*, 2016**). En effet, il existe une relation entre le pouvoir anti-oxydant et la structure des composés phénoliques (nombre et position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule, glycosylation et présence d'autres groupements donneurs de protons). Effectivement, il est difficile de clarifier le lien entre les antioxydants et l'activité antioxydante d'une plante uniquement à partir d'une analyse quantitative, étant donné qu'il y a un lien non seulement avec le taux d'antioxydants, mais également avec l'interaction entre ces derniers et d'autres composants, il est essentiel de définir ces composés (**Beddou, 2015**).

Conclusion Générale

Compte tenu de la toxicité et/ou des effets secondaires indésirables des molécules de synthèse ainsi que du coût élevé de plusieurs produits pharmaceutiques, les plantes restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale. L'usage de ces plantes est lié certainement, aux vertus thérapeutiques attribuées aux molécules bioactives synthétisées par la plante, non seulement en tant qu'agents chimiques luttant contre les maladies, mais également comme des agents médicaux parmi les quels les antioxydants (Nardjis et al., 2022).

Actuellement, les antioxydants naturels apparaissent comme des ingrédients à fort intérêt dans les industries alimentaires et cosmétiques pour remplacer les antioxydants synthétiques (Pradal, 2016). Pour cela, la recherche des composés naturels font l'objet de plusieurs études aujourd'hui. Dans ce contexte, on s'est intéressé à l'étude phytochimique et biologique (activité antioxydante) des différents extraits des feuilles de *Ruta graveolens* (rue), récoltée au niveau de la région de Zelfana –Ghardaïa. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce travail nous amène à avancer les conclusions suivantes :

➤ L'extraction par macération à froid des feuilles de *Ruta graveolens* dans trois solvants (éthanol, acétate d'éthyle et eau distillée) a dévoilé des rendements d'extraction importants, variant entre 1,7 % et 25,3 %. L'éthanol a permis d'obtenir le rendement le plus élevé, tandis que l'acétate d'éthyle a donné le plus faible.

➤ Le criblage phytochimique nous a permis de mettre en évidence que nos extraits sont riches en tanins, alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, anthocyanines et coumarines. Cependant, la recherche sur les composés réducteurs, les quinones libres, les terpénoïdes et les saponosides a donné des résultats négatifs.

➤ L'analyse quantitative des polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et acides phénoliques a montré que l'extrait aqueux possède les teneurs les plus élevées en phénols totaux ($15,55 \pm 0,0095$ mg EAG/g MS), flavonoïdes ($1,26 \pm 0,045$ mg ER/g MS), et tanins ($0,035$ mg EC/g MS), tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a présenté les teneurs les plus faibles dans ces composés. En revanche, pour les acides phénoliques, c'est l'extrait d'acétate d'éthyle qui a montré la teneur la plus élevée ($0,134$ mg EAC/g MS).

➤ L'activité antioxydante des feuilles de *Ruta graveolens* a été évaluée *in vitro* par trois testes chimiques: le test du DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) et le test du radical cation

ABTS (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) et le test de FRAP (Ferric Reducing/ Antioxidant Power).

➤ La mesure de l'activité antioxydante des différents extraits, qui est éprouvée par le test DPPH *in vitro*, a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle était le plus efficace pour piéger les radicaux libres du DPPH•, avec une valeur d'IC₅₀ faible de 0,064 ± 0,000 mg/mL. En revanche, les extraits testés s'avèrent moins actifs par rapport à ceux déterminés par le Trolox et l'acide ascorbique (0,0104 mg/mL et 0,017 mg/mL respectivement).

➤ L'évaluation de l'activité antioxydante par le test du piégeage du radical cation ABTS•+ a indiqué que tous les extraits exercent un effet considérable. La meilleure inhibition du radical cation ABTS•+ a été enregistrée par l'extrait d'acétate d'éthyle avec une valeur d'IC₅₀ égale à 0,032 ± 0,001 mg/mL. Tandis que, l'extrait éthanolique a présenté l'activité antioxydante la plus faible (IC₅₀ = 0,481 ± 0,012 mg/mL). Toutefois, les antioxydant standards (acide ascorbique et Trolox) ont montré la grande efficacité anti-radicalaire vis-à-vis le radical d'ABTS•+.

➤ Le test FRAP a permis d'évaluer la capacité réductrice de fer par les extraits des feuilles de *Ruta graveolens*. Parmi les extraits testés, l'extrait aqueux a montré la meilleure activité antioxydante, avec une A_{0.5} de 1,597 mg/mL. L'extrait d'acétate d'éthyle a affiché une A_{0.5} de 2,183 mg/mL, tandis que l'extrait éthanolique a présenté la plus faible capacité réductrice, avec une A_{0.5} de 5,556 mg/mL. Toutefois, tous les extraits ont présenté une activité inférieure à celle de l'acide ascorbique.

En considérant ces résultats, la richesse des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* en composés bioactifs en particulier les composés phénoliques, ainsi que leur pouvoir antioxydant pourrait valider l'utilisation de cette plante dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement des maladies.

Toutefois, des études supplémentaires sont indispensables pour juger de l'efficacité des extraits examinés, à savoir :

- Caractériser les composés actifs dans les extraits de *Ruta graveolens* par des méthodes plus spécifiques (HPLC et LC-MS) afin d'établir une relation structure-activité ;

- Explorer le potentiel pharmacologique de *Ruta graveolens* comme agent anti-inflammatoire, anti-cancéreux, anti-diabétique et antibactérien ;
- Réaliser des études *in vivo* pour évaluer les effets physiologiques réels ainsi que la toxicité potentielle des extraits ;
- Étudier l'influence des saisons et des périodes de récolte sur la composition chimique et l'activité biologique des extraits ;
- Analyser d'autres parties de la plante, notamment les fleurs et les tiges qui pourraient contenir d'autres molécules d'intérêt avec l'utilisation d'autres méthodes d'extraction pour optimiser la récupération des composés bioactifs.
- Etudier la toxicité de la plante

Références bibliographiques

- ✓ **Abcha, I. (2020).** Etude du potentiel biopharmaceutique et nutraceutique de deux plantes médicinales et comestibles de la Tunisie: *Rhus tripartita* L. et *Ziziphus lotus* L. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Institut National Agronomique de Tunisie.
- ✓ **Abdalla, A.E. and Roozen, J.P. (1999).** Effect of Plant Extracts on the Oxidative Stability of Sunflower Oil and Emulsion. *Food Chemistry*, 64, 323-329.
- ✓ **Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014).** *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3(1), 16-25.
- ✓ **Aitfella, R. (2010).** Méthodes d'études des composés phénoliques. 1ère année Magister. Université Farhat Abbas de Stif, Algérie. p 39.
- ✓ **Akhtar, N., ul-Haq, I., & Mirza, B. (2018).** Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1223-1235.
- ✓ **Al-Bandak, G., et Oreopoulou, V. (2007).** Propriétés antioxydantes et composition des extraits de *Majorana syriaca*. *Revue européenne des sciences et technologies des lipides*, 109 (3), 247-255.
- ✓ **Al Qaisi, Y. T., Khleifat, K. M., & Oran, S. A. (2021).** In Vitro Quantitative Assessment of Viability of *Echinococcus granulosus* Protoscoleces after Treatment with *Ruta graveolens* L. Methanolic Extract. *International Journal of Pharmaceutical Research* (09752366), 13(1).
- ✓ **Alkurd ,A., Hamed, T. R., Al-Sayyed ,H.(2008).**Tannin Contents of selected plants used in Jordan. *Jordan. J. Agric. Sc* , 4, 265 – 274.
- ✓ **Althaher, A. R., Oran, S. A., & Jarrar, Y. (2024).** Phytochemical Investigation and Biological Activities of *Ruta chalepensis* Methanolic Extract: Antioxidant, AntiInflammatory, Anticollagenase, and Antielastase Properties. *Journal of Food Biochemistry*, 2024(1), 9921218
- ✓ **Amarowicz, R., Pegg, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. (2004).** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian Prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551-562.
- ✓ **Amedjoudj N. E. H., Bounab, R.et Menzer, M.(01 /07/2017).** Les polyphénols de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale de la famille des Rosacées: Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine, Mémoire de Master Spécialité : Toxicologie, Université des Frères Mentouri Constantine-Alger.

- ✓ **Arnow, L. E. (1937).** Colorimétrique determination of the components of 3, 4-dihydroxyphenylalanine–tyrosine mixtures. *Journal of Biological Chemistry*, 118(2), 531–537.
- ✓ **Aruoma, O. I. (2003).** Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 523, 9-20.
- ✓ **Asgarpanah, J., & Khoshkam, R. (2012).** Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. *J Med Plants Res*, 6(23), 3942-3949.
- ✓ **Asgharian, S., Hojjati, M. R., Ahrari, M., Bijad, E., Deris, F., & Lorigooini, Z. (2020).** *Ruta graveolens* and rutin, as its major compound: investigating their effect on spatial memory and passive avoidance memory in rats. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 447-453.
- ✓ **Atia, y., Troudi, N. (2023).** Criblage phytochimique et évaluation préliminaire des activités biologiques de différents extraits de la plante *Ruta tuberculata* de la zone de Biskra.
- ✓ **Atoui A., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P. (2005).** Tea and herbal infusions: Their antioxydant activity and phenolic propfile, *Food Cheinistry*, 89: 27-36
- ✓ **Attou, A. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister. Université Abou bekr belkaid de Tlemcen, Algérie. P 66.
- ✓ **Azalework, H. G., Sahabjada, A. J., Arshad, M. D., & Malik, T. A. B. A. R. A. K. (2017).** Phytochemical investigation, GC-MS profile and antimicrobial activity of a medicinal plant *Ruta graveolens* L. from Ethiopia. *Int J Pharm Pharm Sci*, 9(6), 29.
- ✓ **Baba Ouyoub, F. (2017).** Evaluation des activités biologiques de quelques extraits de *Zizyphus lotus* de la région de Ghardaïa. Mémoire de master. Université de Ghardaïa, Algérie. p 46
- ✓ **Badereddine, M. et Moussaoui, H.(23 /06/2014).** Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de *Phoenix dactylifera* .L obtenue par différents méthodes, Mémoire de Master Génie Chimique, Université d'El-Oued-Alger.
- ✓ **Barbouchi, M., Benzidia, B., Elamrani, K., Sabiri, M., El Idrissi, M., & Choukrad, M. B. (2024).** Phytochemical screening, quantitative analysis and antioxidant properties of crude extracts from stems, leaves, and flowers of three *Ruta* species. *Kuwait Journal of Science*, 51(4), 100287.

- ✓ **Beddou, F. (2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius L.* et *Anvillea radiata Coss.* & Dur. Thèse Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie. p 143
- ✓ **Bekkar, N. E. H., Meddah, B., Cakmak, Y. S., & Keskin, B. (2021).** Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Zizyphus lotus l.* and *ruta chalepensis l.* growing in mascara (Western Algeria).
- ✓ **Belkheiri, N. (2010).** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse; Université Toulouse III - Paul Sabatier, 244 p.
- ✓ **Belyagoubi, N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd de Tlemcen, Algérie. P 91.
- ✓ **Ben-Moussa, M. T., Khelil, K., Harkat, H., Lakehal, S., & Hadeif, Y. (2020).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Brochia cinerea* VIS. d'Algérie. *Med Sci*, 7(2), 122-8.
- ✓ **Bensaad, M. S. (2022).** Etude chimique et évaluation biologique de la plante *Centaurea tougourensis Boiss. & Reut.* De la région des Aurès [doctoral dissertation, Université de Batna 2].citer par ABDELALI, S. M. (2024). Etude de l'activité insecticide des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* récolté de région de Ghardaïa.
- ✓ **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.
- ✓ **Benzid, A et Litim, N. (2016)** Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum L.* cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. Mémoire de Master. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie.
- ✓ **Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- ✓ **Bertoncelj J., Dobersek U., Jamnik M., Golob T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey, *Food Chemistry*, 105: 822-828
- ✓ **Boubekri, C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanummelongena* par des techniques électrochimiques, Thèse présentée en vue del'obtention Du diplôme de Doctorat en sciences Spécialité Chimie, Université Mohamed Khider – Biskra-alger

- ✓ **Boudaba, D., Benabbes, N., & Boujerda, A. (2022).** Extraction des métabolites secondaires d'une plante de la famille Rutaceae [Mémoire de Master, Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jije
- ✓ **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.
- ✓ **Boulkroune, N. (2012).** Etude de l'activité antioxydante d'une plante médicinale « *Matricaria pubescens* » : effets de la durée et du solvant d'extraction. Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Algérie. p 54
- ✓ **Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (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.
- ✓ **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition Lavoisier. Paris. 1234p
- ✓ **Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M. B. (1998).** An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis* 9, 196-202.
- ✓ **Chaibeddra, Z. (2014).** Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* forsk [doctoral dissertation, Oum-El-Bouaghi]. Citer par **Lakhdari, N., & Mohammedi, M. (2023).** Etude de l'activité insecticide des extraits de plante *Ruta graveolens* de la région de Ghardaïa.
- ✓ **Challacombe, C. A., Abdel-Aal, E. S. M., Seetharaman, K., & Duizer, L. M. (2012).** Influence of phenolic acid content on sensory perception of bread and crackers made from red or white wheat. *Journal of Cereal Science*, 56 (2), 181-188.
- ✓ **Chen, I., Chang, H., Yang, H. and Chen, G. (2004).** Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs : a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33 pp
- ✓ **Congo M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso, p 42.
- ✓ **Delattre, J., Beaudeau, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques (p. 87-108). Editions Tec & Doc.

- ✓ **Derbal, K., Abidi, B., & Ghrieb, A. (2023).** Evaluation du potentiel antimicrobien des extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* et *Ruta graveolens* [doctoral dissertation, Université Echahid Chikh Larbi Tebessi -Tebessa].
- ✓ **Diallo D., (2000).** Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Minosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse citer par **Lakhdari, N., & Mohammedi, M. (2023).** Etude de l'activité insecticide des extraits de plante *Ruta graveolens* de la région de Ghardaïa.
- ✓ **Dias, C., Fonseca, A. M., Amaro, A. L., Vilas-Boas, A. A., Oliveira, A., Santos, S. A.,Silvestre, A. J. D., Rocha S. M., Isidoro, N., & Pintado, M. (2020).** Natural-based antioxidant extracts as potential mitigators of fruit browning. *Antioxidants*, 9(8), 715
- ✓ **Didi, M. (2020).** Evaluation of the antioxidant activity of the coffee parchment. *Scientific Study and Research*.
- ✓ **Doerper, S. (2008).** Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- ✓ **Dohou, N., Yamni, K., S., T., Idrissi Hassani, L. M., Alain, B., & Najib, G. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 142, 61-78
- ✓ **Ekpo, D. E., Joshua, P. E., Ogidigo, J. O., & Nwodo, O. F. C. (2020).** High resolution UPLC-PDA-QTOF-ESI-MS/MS analysis of the flavonoid-rich fraction of *Lasianthera africana* leaves, and in vivo evaluation of its renal and cardiac function effects.*Heliyon*, 6(7).
- ✓ **Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D. O., A. Al-Mana, F., & Mahmoud, E. A. (2020).** Polyphenol Content and Biological Activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(5), 531.
- ✓ **EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H et Bengueddour, R. (2018).** Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha Spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, pp : 226-233.
- ✓ **Escribano-Bailon, M., & Santos-Buelga. (2003).** Polyphenol extraction from foods. In: Santos-Buelga, C. (eds) *Methods in Polyphenol Analysis* 1-12. London, Royal Society of Chemistry.

- ✓ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331: 372 -379.
- ✓ **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. & Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut devenir toxique? Actual. Chim. 269-270, 91-96
- ✓ **Gentile, M. T., Ciniglia, C., Reccia, M. G., Volpicelli, F., Gatti, M., Thellung, S., ... & Colucci-D'Amato, L. (2015).** *Ruta graveolens L.* induces death of glioblastoma cells and neural progenitors, but not of neurons, via ERK 1/2 and AKT activation. PLoS One ,10(3),e0118864.
- ✓ **Ghaisas M, Navghare V, Takawale A, Zope V, Deshpande A.** In-vitro antioxidant activity of *Tectona grandis* Linn. Pharmacologyonline. 2008;3:296-305.
- ✓ **Ghedadba, N., Hambaba, L., Mohamed-Cherif, A., Mokhtar, S., N.Fercha, & Bousselfela, H. (2014).** Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare L.* Algerian Journal of Natural Products, 2, 64-74
- ✓ **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle Ppophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3 (4), 162-169.
- ✓ **Giresha, A. S., Anitha, M. G., & Dharmappa, K. K. (2015).** Phytochemical composition, antioxidant and in-vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract of *Ruta graveolens L.* leaves. Int J Pharm Pharm Sci, 7(10), 272-76
- ✓ **Gouami, C., Nebili, I. (2020).** Screening phytochimique d'une plante médicinale *Ruta graveolens* et l'étude théorique de son activité biologique sur un modèle biologique *Drosophila melanogaster* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa]
- ✓ **Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O. (2019).** Activité Antioxydante des extraits méthanoliques de différents organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. Eur Sci J ESJ, 15, 159-7171
- ✓ **Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1986).** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. Arch. Biochem. Biophys. 246, 2859-2865.
- ✓ **Hamla, A., Hamla, I. (2020).** Etude de l'activité biologique de deux extraits hydroéthanoliques de *Origanum vulgare* et *Ruta graveolens* sur *Tribolium confusum* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- ✓ **Hamliche, V., Azzouz, M. (2013).** Les rues : Ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité. Phytothérapie, 11(1), 22-30

- ✓ **Hazzit, M., Benchabane, A., Baaliouamer, A., Alloun, K., & Kaci, M. (2015).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*Ruta montana L.*). Recherche Agronomique, 27, 118-129 .
- ✓ **Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutrition and Biochemistry, 13: pp 572–584.
- ✓ **Heroual, K., FILALI, S., & MEGUELLATI, S. (2020).** Les polyphénols: Structure, pouvoir antioxydant et méthodes in vitro de l'évaluation de l'activité antioxydante. DEA, Université des Frères Mentouri Constantine, 1, 93.
- ✓ **HowYee Lai and YauYan Lim. (2011).** Evaluation of Antioxidant Activities of the Methanolic Extracts of Selected Ferns in Malaysia. International Journal of Environmental Science and Development, Vol. 2
- ✓ **Igor Passi, L. B. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). Thèse de Pharmacie. Université de Bamako, Mali. P 12
- ✓ **Miller, J. S. (2011).** The discovery of medicines from plants: a current biological perspective1. *Economic Botany*, 65(4), 396-407.
- ✓ **M. Kacem, G. Simon, R. Leschiera, L. Misery, A. ElFeki, N. Lebonvallet,** ‘Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Ruta chalepensis L.* extracts on LPS-stimulated RAW 264.7 cells’, *Cell. Dev. Biol. Anim.* 2015, 51, 128–141
- ✓ **Jaradat, N. (2016).** Quantitative estimations for the volatile Oil by using hydrodistillation and microwave accelerated distillation methods from *Ruta graveolens L.* and *Ruta chalepensis L.* leaves from Jerusalem area/Palestine. Moroccan Journal of Chemistry, 4(1), J-Chem.
- ✓ **Jianxiong Y, Juan G, Jiangfeng Y. 2008.** In vitro antioxidant properties of rutin. LWT -J Food Sci Technol. 41:1060–1066
- ✓ **Kaanin, G. et Harfi, L. (2012).**Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique del'huile du noyau de datte : essai d'incorporation dans unemargarine de table,Mémoire d'ingénieur d'état, Université Abderrahmane MIRA de Béjaia-Alger.
- ✓ **Kawsar ,S. M. A., Hug, E., Nahar ,N.,Ozeki Y. (2008).** Identification and quantification of phenolic acids in *Macrotyloma uniflorum* by reversed phase – HPLC. American Journal of Plant Physiology, 3 (4), 165-172.

- ✓ **Khenfer, S. et Medjouel, M. (2016).** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Diplôme Master Académique. Université Kasdi Merbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Khoudali, S., Benmessaoud D., Essaqui1, A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M. (2014).** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis L.*) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (3), 887-898.
- ✓ **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165.
- ✓ **Koleckar V, Kubikova K, Rehakova Z, Kuca K, Jun D, Jahodar L, Opletal, L. (2008).** Con-densed and hydrolysable tannins as antioxi-dants influencing the health. *Mini Rev. Med. Chem.* 8(5): 436-447.
- ✓ **Krishnaiah, D., Sarbatly, R. and Nithyanandam, R. (2010).** A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, article in press.
- ✓ **Kroyer, G. (2004).** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 101–105.
- ✓ **Lakhdari, N., & Mohammedi, M. (2023).** Etude de l'activité insecticide des extraits de plante *Ruta graveolens* de la région de Ghardaïa.
- ✓ **Lamaison, C., Freytet P. J., and Carnat, A. (1991).** "Medicinal Laminaceae with Antioxidant Properties, a Potential Source of Rosmarinic Acid," *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, Vol. 66, No. 7, pp. 185-188.
- ✓ **Lalaoui Naima, S. R. (2016).** Etude du potentiel antioxydant de l'huile d'olive et du miel ainsi que leur préparation combiné (Doctoral dissertation)
- ✓ **Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- ✓ **Machiex J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires Romandes, 75-85 p
- ✓ **Madike, L. N., Takaidza, S., & Pillay, M. (2017).** Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 9(10), 1300-1308
- ✓ **Magder, S. (2006).** Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? *Critical Care Med Journal*, Vol 10, pp. 208-216

- ✓ **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technology*, (9), 35.
- ✓ **Malik, F., Hussain, S., Sadiq, A., Parveen, G., Wajid, A., Shafat, S., Channa, R. A., Mahmood, R., Riaz, H., & Ismail, M. (2012).** Phyto-chemical analysis, anti-allergic and anti-inflammatory activity of *Mentha arvensis* in animals. *Afr J Pharm Pharmacol*, 6(9), 613-619.
- ✓ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. and Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera* **Article in** *Food Chemistry* 89(3) : 411-420.
- ✓ **Mansouri, A., Guendez, E., Eugene, K et Panagiotis, K. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411–420
- ✓ **Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques *d'huile d'olive* extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.
- ✓ **Meziti .A., 2007.** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa L* Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna.p 30-35-49-67.
- ✓ **Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat. Université d'Orléans, Français. P 76-86
- ✓ **Miguel, E. S. (2003).** *Rue (Ruta L., Rutaceae)* in traditional Spain: frequency and distribution of its medicinal and symbolic applications. *Economic botany*, 57(2), 231-244
- ✓ **Mirza, M. A., Mahmood, S., Hilles, A. R., Ali, A., Khan, M. Z., Zaidi, S. A. A., ... & Ge, Y. (2023).** Quercetin as a therapeutic product: evaluation of its pharmacological action and clinical applicxations—a review. *Pharmaceuticals*, 16(11), 16031.
- ✓ **Nadal, B. (2009).** Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI) p134.
- ✓ **Nardjis, A., Friane Heythem, H. M., & Abdenmour, T. R. (2022).** Screening Phytochimique Et Evaluation De Quelques Activités Biologiques De Deux Plantes Médicinales.
- ✓ **Nezam, A. et Ali, L. (1982).** Study on the pigment contents of some varieties of date. *J. Res .for .Agric .Water Res. (Iraq)*, 2: 1.

- ✓ **Nouredine, A., Gherib, A., Bakchiche, B., Barrachina, A.A.C., Lamadrid, M.C., Artiaga, L.N. (2019).** Chemical composition, mineral content and antioxidant capacity of phenolic extracts and essential oils of *Lavandula stoechas* L. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20 (3), 423-437.
- ✓ **Ouahida, D., Ridha, O. M., & Eddine, L. S. (2016).** Influence of extraction method on phytochemical composition and antioxidant activity from leaves extract of algerian *Phoenix dactylifera* L. *Int J Curr Pharm Rev Res*, 7(2), 84-89.
- ✓ **Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., ... & Semde, R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2), 750-772.
- ✓ **Oyaizu M.** Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. *Jap J Nut.* 1986;44:307-15.
- ✓ **Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M. and Topcu, G. (2007)** Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* 103: 623 -630
- ✓ **Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017).** Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268.
- ✓ **Petit-Paly G, Rideau M, Chenieux JC (1982)** Etude de quelques Rutacées à alcaloïdes II. *Ruta graveolens*: revue botanique, chimique et pharmacologique (Etude particulière de alcaloïdes quaternaires quinoléiques). *Plantes méd phytother* 16:55–72
- ✓ **Pradal, D. (2016).** Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire (Doctoral dissertation, Lille 1).p76
- ✓ **Hammiche V, Merad R, Azzouz M (2013)** In *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*. Springer, Paris, p 197–222
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
- ✓ **Pincemail, J., Siquet, J., Chapelle, J. P., Cheramy-Bien, J. P., Paulissen, G., Chantillon, A. M., ... & Defraigne, J. O. (2000).** Évaluation des concentrations plasmatiques en anti-oxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un

- échantillon de la population liégeoise. In Annales de Biologie Clinique (Vol. 58, No. 2, Mar-Apr). John Libbey Eurotext, France.
- ✓ **Poonkodi, K. A. T. H. I. R. V. E. L., Gomathi, K., Akila, M., Deepadevi, S. U. B. R. A. M. A. N. I. A. N., & Dhivya, A. (2017).** Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis and in Vitro antioxidant activities of *Ruta Graveolens L.* from western ghats region-south India. *Gas*, 10(10.22159).
 - ✓ **Prouillac, C. (2006).** Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action *in vitro*, Thèse ; Univ Paul Sabatier de TOULOUSE III, 291 p.
 - ✓ **Quezel, P., Santa, S.,(1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. 12. Paris.
 - ✓ **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
 - ✓ **Ribèreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed: DUNOD, Paris, pp 173 - 201.
 - ✓ **Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.
 - ✓ **Rice-Evans, C., Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., & Yang, M. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-1237.
 - ✓ **Saadaoui, B., Bekir, J., Akrouit, J., Ammar, S., Mahjoub, A., & Mars, M. (2006).** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions arides*, 316-321.
 - ✓ **Salmi, R., Maifi, M. (2021).** Effet pupicide de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa]
 - ✓ **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30 (12), 3875-3883.
 - ✓ **Schofield P., Mbugua D.M. & Pell A.N., (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 21-40.

- ✓ **Sebrou, I., & Houari, N. (2018).** Evaluation de l'activité anti-oxydante et antibactérienne des différents extraits d'*Anvillea radiata* récoltée dans la région de Ghardaïa (Doctoral dissertation, université ghardaia).
- ✓ **Sekher Pannaa A, Chan TS, O'Bren PJ, Rice-Evans CA (2001)** Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Commun* 282 1161-1168 citer par .Boligon, A. A., Machado, M. M., & Athayde, M. L. (2014). Technical evaluation of antioxidant activity. *Med. Chem*, 4(7), 517-522.
- ✓ **Serondo, H., Mategeko, A., Liberata, N., & Mpiana, P. T. (2022).** Criblage phytochimique, évaluation des activités antimicrobiennes et antiradicalaires des extraits de la partie aérienne de *Leucas martinicensis* (Jack.) R.Br. (Lamiaceae) et de ses fractions. *Afrique Science Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 21, 181-193.
- ✓ **Sghaier, M. B., Louhichi, T., Hakem, A., & Ammari, Y. (2018).** Chemical investigation of polar extracts from *Ruta chalapensis* L. growing in Tunisia: Correlation with their antioxidant activities.
- ✓ **Shahin Sharif, A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur, S., Abhishek, S., Utpal, B. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, volume 41, 1–15.
- ✓ **Singleton, V. L. & Rossi J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*16: 144-158
- ✓ **Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J. andwojdylo, A. (2007).**Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103:853-859.
- ✓ **Solovchenko AE, Ismagulova TT, Lukyanov AA, Vasilieva SG, Konyukhov IV, Pogosyan SI, Lobakova ES, Gorelova OA. (2019).** Luxury phosphorus uptake in microalgae. *J Appl Phycol* 31:2755–2770.
- ✓ **Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. 2007.** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208
- ✓ **Suhaj, M. (2006).** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 531-537.
- ✓ **Sun B, Ricardo-da-Silva J. M. Spranger I., 1998.-** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10): 4267-4274
- ✓ **Svoboda, K. P., Svoboda, T. G., & Syred, A. D. (2000).** Secretory structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs (pp. 60).

- ✓ **Tadhani, M. B., Patel, V. H., & Subhash, R. (2007).** In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. Journal of food composition and Analysis, 20(3-4), 323-329
- ✓ **Telli, A. (2017).** Activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de Magister. Université de Kasdi Merbah-Ouargla P 93,97
- ✓ **Terkmane, S., Gali, L., Bourrebaba, L., Shoji, K., Legembre, P., Konstantia, G., ... & Bedjou, F. (2018).** Chemical composition, antioxidant, and anticancer effect of *Ruta chalepensis*'s extracts against human leukemic cells. Phytothérapie, 16(1), 225-236.
- ✓ **Torres de pinedo, A., Pen alver, P. & Morales, J. C. (2007).** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant: structure-activity relationship. Food Chemistry, 103: pp 55-61.
- ✓ **Tounsi, A. (2020).** Evaluation de l'activité antioxydante et de l'effet anticorrosif des extraits phénoliques de plantes locales (*Plantago ciliata* et *Thymelia microphylla*) (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA) p 60.
- ✓ **Valentin, B., Amuri, B., Serge, M., Kahumba, B., Duez, P., & Lumbu-Simbi, J. (2017).** Étude ethnobotanique, phytochimique et évaluation de l'activité antiplasmodiale de 13 plantes réputées antipaludéennes dans la commune du Kenya (Lubumbashi, RDC). Phytothérapie, 1-10.
- ✓ **Vârban, D. I., Marcel, D. U. D. A., Varban, R., & Muntean, S. (2009).** Research concerning the organic technology for *Satureja hortensis* L. culture. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture, 66(2)
- ✓ **Velmurugan, C., Subramaniyan, V., Ilanthalir, S., Fuloria, S., Sekar, M., Fuloria, N. K., & Hasan Maziz, M. N. (2022).** Evaluation of anti-diabetic and wound healing potential of Ethiopia plant '*Ruta graveolens*' in diabetic induced rat.
- ✓ **Vuorela, S. (2005).** Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics (Doctoral dissertation, Helsingin yliopisto).
- ✓ **Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011).** Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food research international, 44(1), 217-224
- ✓ **Xu, B.J.; Chang, S.K.** A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. J. Food Sci. 2007, 72, S159-166.

- ✓ **Yi Yan, Y., Liang ,YandZeng B. (2008).** *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. LWT, 41: 597-603
- ✓ **Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I. (2004).** Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. Food Chemistry. Pp 199–206.
- ✓ **Yu, M., Gouvinhas, I., Rocha, J., & Barros, A. I. (2021).** Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. Scientific reports, 11(1), 10041.