



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2018

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
ATIA YASMINA et TROUDI NAZIHA

Le: lundi 3 juillet 2023

Criblage phytochimique et évaluation préliminaire des activités biologiques de différents extraits de la plante *Ruta tuberculata* de la zone de Biskra

Jury:

M.	MERABTI IBRAHIM	MCA	Université de Biskra	Président
Mme.	SAIDI ASMA	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	BENABDALLAH FATIMA	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022-2023

Remercîments

“La chance dépend de dieu, la réussite dépend de l’homme ”

De Jean Rostand

Tout d'abord, je remercie notre Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné du courage, de la force, de la santé, de la persévérance et de nous avoir permis de faire cette recherche.

À Mme SAIDI qui nous a guidés et nous a fait l'honneur de terminer ce travail sous sa direction d'une manière très scientifique. , pour sa grande patience, sa disponibilité et ses bons conseils.

Malgré l'impossibilité de nommer tout le monde, nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté leurs conseils et leurs compétences pour faire de cette mémoire une réalité.

Merci.

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de penser, la force d'y croire, la patience de voir la fin de mon rêve. Je dédie ce travail à celui qui m'a donné la vie, symbole de tendresse, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite, ma mère Abla, mon père Mohammed, mon école d'enfance, qui a été mon ombre tout au long de ma vie. Vie mes études et qui ont veillé toute ma vie pour m'encourager, m'aider et me protéger.

A mes chers amis proches, Rayane merci d'être toujours à mes côtés quand j'ai besoin de toi, tu es le sens de la véritable amitié, même si tu n'étais pas seulement une amie mais une sœur, a Basma, Achouek, Manel, Yousra, Naziha, merci pour votre encouragement

a tous mes précieux frères et sœurs Khmissi, Nardjes, Lamia, Badreddine,

Table de matière

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	

Partie 1 synthèse bibliographique.

Chapitre 1 : Notions sur les métabolites secondaire

1.1.Définition	02
1.2.Classification des métabolites secondaire	02
1.2.1.Composés phénoliques.....	02
1.2.1.1.Classification des composés phénoliques	03
1.2.1.1.1.Polyphénols monomériques.....	03
1.2.1.1.2.Acides phénoliques	03
1.2.1.1.3.Acides hydroxycinnamiques	03
1.2.1.1.4.Flavonoïdes.....	03
1.2.1.1.5.Polyphénols sous forme de polymers.....	04

Chapitre 2 : Présentation de la plante *Ruta tuberculata*

2.1.Informations générales et distribution	07
2.2.Description et classification botanique.....	07
2.3.Composition chimique.....	08
2.4.Utilisations traditionnelles.....	09
2.5.Activités biologiques de <i>Ruta tuberculata</i>	09

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

3.1.1. Collecte et préparation de la plante <i>Ruta tuberculata</i>	10
3.1.2. Matériel biologique.....	10
3.1.3. Réactifs chimiques.....	10
3.1.1. Préparation des différents extraits de plante <i>Ruta tuberculata</i>	10
3.2.2. Analyse phytochimique des extraits de <i>R. tuberculata</i>	11
3.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	14
3.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	14
3.2.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	15
3.2.5. Etude de l'activité anti-hyperglycémie induite.....	16
3.2.6. Analyses statistiques.....	17

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1.Extraction et rendement.....	18
2. Etude phyto-chimiques des extraits de la plante <i>R. tuberculata</i>	19
3. Résultats d'évaluation des activités biologiques <i>in vitro</i>	22
4. Résultats d'évaluation des activités biologiques <i>in vivo</i>	29
Conclusion.....	33

Références Bibliographie

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1: Propriétés biologiques de certains polyphénols	6
Tableau 2 : Classification botanique du <i>R.tuberculata</i>	8
Tableau 3: Résultats de criblage phytochimique des différents extraits de plante <i>Ruta tuberculata</i>	19
Tableau 4 : Valeurs des IC ₅₀ de différents extraits de <i>R. tuberculata</i> et celle de diclofénac de sodium vis-à-vis la dénaturation de BSA.....	24
Tableau 5 : Valeurs des IC ₅₀ de différents extraits de <i>R. tuberculata</i> et celle des antioxydants standards vis-à-vis le radical d'hydroxyle.....	28

Liste des figures

Figure 1. Structure chimique des polyphénols	5
Figure 2. Structure chimique de l'Acide cinnamique	5
Figure 3. Structure chimique Acide benzoïque.....	5
Figure 4. Structure de base des flavonoïdes.....	5
Figure 5. Structure d'une molécule de coumarine.....	5
Figure 6. Photographie du <i>R. Tuberculata</i> (Wilaya de Biskra – El Hadjeb).....	6
Figure 7. Rendement de différents extraits de la plante <i>R. tuberculata</i>	18
Figure 8. Inhibition de la dénaturation de BSA par le médicament anti-inflammatoire (Diclofénac de sodium).....	22
Figure 9. Inhibition de la dénaturation de BSA par des différents extraits.....	22
Figure 10. Inhibition de la dénaturation de BSA par l'EAcE.	23
Figure 11. Activité antiradicalaire de l'antioxydant BHA.....	25
Figure 12. Activité antiradicalaire de l'antioxydant BHT.....	25
Figure 13. Activité antiradicalaire de différents extraits de l'espèce <i>R. tuberculata</i>	26
Figure 14. Activité antiradicalaire de l'extrait EAcE.....	26
Figure 15. histogramme des tolérances au glucose par voie oral de souris normaux, traités par différents extraits de la plante <i>Ruta tuberculata</i>	30
Figure 16. Volume de l'œdème des pattes droites des groupes témoin positif et les groupes traités par les extraits de <i>R. tuberculata</i> en fonction du temps.....	32

Liste des abréviations

ABS: Absorbance

EAQ: Extrait Aqueux

EMet: Extrait Méthanolique

EAc : Extrait Acétonique

EAcE : Extrait d'Acétate d'éthyle

R. tuberculata: *Ruta tuberculata*

I%: Inhibitions

IC₅₀: Concentration Inhibitrice

M/V: Masse/Volume

PM: poids moléculaire

R(%): Rendement en pourcentage %

BSA: Albumine Sérique de Bovine

Introduction générale

Depuis longtemps, l'Homme a utilisé les plantes pour faire face aux stress quotidiens (**Sen et Samanta, 2015**), par exemple, le soulagement des maux de tête, le soulagement gastro-intestinal ou le traitement d'une plaie avant qu'elle ne s'infecte (**Jones, 1996**). Au cours des décennies, les plantes médicinales sont traditionnellement utilisées ainsi dans le traitement de nombreuses maladies telles que le diabète, cancers et les maladies inflammatoire.

La phytothérapie a également été suivie par de nombreuses civilisations très anciennes, comme la civilisation chinoise qui a utilisé encore les plantes en infusion pour soigner la lithiase rénale par exemple (**Zhu et al., 1998**), et les plantes médicinales des civilisations arabes très anciennes comprenaient plusieurs herbes(**Saad et al., 2005**), qui montrent en plus des propriétés biologiques et vertus thérapeutiques. Les plantes fascinent depuis longtemps la communauté scientifique et médicale par leurs inépuisables propriétés pharmacologiques (**Sofowora et al., 2013**), ce qui continue de nous exciter pour les valoriser. En effet, de nombreuses études montrent le véritable potentiel des plantes, qui traitaient efficacement plusieurs pathologies, notamment chroniques comme le diabète, l'arthrite, l'asthme (**Peltzer et Pengpid, 2019**) et même freinaient le développement de maladies neurologiques, les maladies dégénératives telles que la sclérose en plaques. Aujourd'hui, il existe jusqu'à 450 000 espèces de plantes dans le monde, mais le potentiel chimique et biologique de nombreuses plantes n'a pas encore été exploré (**Pohl et al., 2018**).

En vue de la recherche pharmacologique et l'élaboration d'un remède naturel, l'espèce *Ruta tuberculata* a été valorisée dans le présent travail par le criblage de sa composition chimique en métabolites secondaires et l'évaluation de ses activités antioxydantes et anti-inflammatoires et son effet hypoglycémiant possibles. Cette espèce, provenant de la famille Rutacée, est un arbuste appelé communément « El-Fidjel ». Cette plante pousse spontanément dans les zones arides et semi-aride de la région méditerranéenne comme dans le sud de l'Algérie (**Saad et al., 2005**).

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1
Notions sur les
métabolites secondaires

1.1. Définition

Le terme "métabolites secondaires" a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891 pour décrire le large éventail de composés chimiques dans les plantes responsables des fonctions périphériques indirectes. Les exemples incluent la régulation de la communication intercellulaire, la défense et les cycles catalytiques (**Yeza et Bouchama, 2014**). Contrairement aux métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides résultent du métabolisme principal des plantes, les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques qui sont naturellement synthétisés par les plantes selon une voie alternative secondaire (**Dominique et Zoubida, 2005**). Ces composés ne sont pas essentiels à la vie végétale, mais ils jouent un rôle dans la relation de la plante avec son environnement, par exemple dans la lutte contre les ravageurs et les maladies, comme des attractifs pour les pollinisateurs ou comme des composés de signalisation.

1.2. Classification des métabolites secondaires

La classification des métabolites secondaires est basée sur : la structure chimique, la composition, leur solubilité dans divers solvants ou leur voie de synthèse. Le système de classification principal comprend trois catégories principales :

- Alcaloïdes.
- Terpènes.
- Composés phénoliques.

Chacune de ces classifications contient une intégralité très diversifiée des composés ayant un assez large éventail d'activités en biologie humaine, comme ils ont une énorme importance économique, notamment pour les industries pharmaceutiques et cosmétiques (Aref et Heded, 2015). Pour chaque classe, on trouve des sous-classes structurellement complexes (Justin et al., 2014).

1.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques (Figure 1) ou polyphénols (PP) forment une famille des molécules largement utilisées chez les végétaux. Ils sont produits du métabolisme secondaire au niveau des feuilles de la plante, de la racine, des graines ou des fruits. Cela signifie qu'ils n'exercent pas des fonctions directes dans les activités primaires des organismes végétaux

telles que le développement ou la reproduction (Yusuf, 2006). Ils sont abondants et contiennent au moins 9 000 structures généralisées différentes qui jouent un rôle important en tant que des composants essentiels de la valeur sensorielle (couleur et propriétés organoleptiques) et nutritionnelle des plantes, par exemple, des légumes, des fruits, des céréales ou des fruits secs, ainsi que des boissons, du café, du cacao ou du thé. Les composés phénoliques à base des plantes sont synthétisés en réponse à des stress environnementaux et physiologiques tels que les agents pathogènes, les attaques des insectes, les rayons UV, les basses températures et les blessures (Khoddami et al., 2013).

1.2.1.1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes selon les caractéristiques suivantes : premièrement, en fonction de la complexité de la chaîne principale (du simple C₆ aux formes hautement polymérisées). Ensuite selon le degré de modification de cette charpente (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin, sur la base des connexions possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (Bellebcir, 2008).

1.2.1.1.1. Acides phénoliques

Ces composés appartiennent à deux sous-groupes distincts : Les acides hydroxycinnamiques (Figure 2), dont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique sont les plus présents, et les acides hydroxybenzoïques (Figure 3) où les plus courants sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Ces molécules sont fréquemment détectées dans différentes plantes agricoles et médicinales et présentent dans toutes les plantes céréalières (Yezza et Bouchama, 2014).

1.2.1.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Ils sont dérivés de l'acide cinnamique, ont une structure générale basique C₆-C₃ et une double liaison dans la chaîne latérale qui peut être en configuration *cis* ou *trans*. Parmi les acides hydroxycinnamiques les plus courants et les plus connus, on peut citer l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide moutarde (Hesham et al, 2012).

1.2.1.1.3. Flavonoïdes

Le nom flavonoïde (Figure 4) vient du mot latin « flavus » qui signifie jaune. On les appelait vitamine P car elles normalisaient la perméabilité des vaisseaux sanguins. Le terme a ensuite été abandonné car les flavonoïdes ne répondaient à aucune des caractéristiques associées à la définition d'une vitamine (Harrar, 2012). Ils sont largement distribués dans les

tissus végétaux, où ils se trouvent à l'intérieur des cellules ou à la surface de divers organes végétaux. Les flavonoïdes sont des pigments le plus souvent responsables des couleurs bleu, violet, jaune, orange et rouge de divers organes végétaux, ainsi que des caroténoïdes et de la chlorophylle (Ghedir, 2005 ; Khoddami et al., 2013). Ils sont synthétisés à partir de la phénylalanine dans le cadre de la voie la plus vaste des phénylpropanoïdes (Verpoorte et Alfermann, 2000).

1.2.1.1.4. Tanins

Les tanins sont des polyphénols avec un poids moléculaire de 500-3000 Da et, en plus des réactions phénoliques classiques, ils ont des propriétés de précipitation des protéines (Zimmer et Cordesse, 1996), comme ils peuvent s'attacher à la peau intacte (Jacqueline, 1978). Les tanins se trouvent dans les vacuoles cytoplasmiques des cellules périphériques de différents organes : latige, les feuilles, les fruits ou les graines, ce qui facilite leur extraction (Zimmer et Cordesse, 1996). Ils sont généralement divisés en deux catégories basées sur la structure chimique, le poids moléculaire et la solubilité dans l'eau : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bernays, 1989).

A. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de sucre simple (principalement glucose ou xylose) et d'acides phénoliques. Les acides phénoliques libérés après l'hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique sont l'acide gallique ou l'acide ellagique, qui divise ces tanins hydrolysables en deux sous-classes : les galtanins (ou gallotanins) et les tanins ellagiques (ou ellagitanins) (Zimmer et Cordesse, 1996).

B. Tanins condensés

Appelés aussi catéchine-tanins, la structure est moins connue car ces produits sont très complexes. Sous l'action des acides dilués, au lieu d'obtenir des produits plus simples, il se forme au contraire des composés plus condensés (Jacqueline, 1978). Les tanins condensés sont les tanins les plus abondants dans les plantes vasculaires (Bernays, 1989). Ce sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes et sont beaucoup moins toxiques que les tanins hydrolysables car ils ne sont pas hydrolysables et sont mal absorbés au niveau de la muqueuse gastro-intestinale en raison de leur poids moléculaire élevé (Sabater, 2012).

1.2.1.1.5. Coumarines

Les coumarines (Figure 5) portent le nom de coumarou, le nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3 coumarines (Ford

et *al.*, 2001). On les trouve dans toutes les parties des plantes et notamment dans les huiles essentielles des fruits et des graines (Deina et *al.*, 2003 ; Booth et *al.*, 2004). Les familles des plantes les plus riches en coumarines sont celles appartenant aux légumineuses, *Rutaceae*, *Apiaceae* et *Thyméléaceae*.

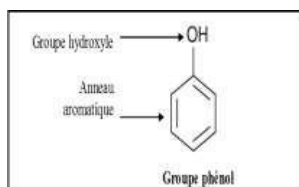


Figure 1: Structure chimique des polyphénols (Yezza et Bouchama, 2014).

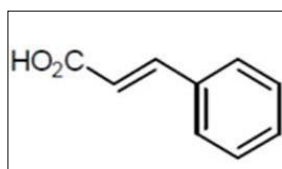


Figure 2: structure chimique de l'Acide cinnamique (Aref et Heded, 2015).

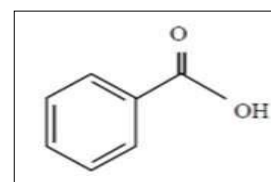


Figure 3 Acide benzoïque (Aref et Heded, 2015).

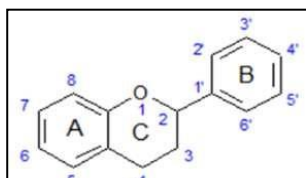


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

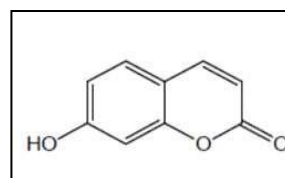


Figure 5: Structure d'une molécule de coumarine (Djemoui, 2012).

1.2.1.1.6. Alcaloïdes

Le terme "alcaloïde" a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle. La définition acceptée des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale (Badiaga, 2011). Les alcaloïdes sont produits par diverses voies de biosynthèse (Mauro, 2006), généralement dans les tissus en croissance tels que les jeunes feuilles et les jeunes racines. Ils se trouvent ensuite à différents endroits et des modifications peuvent leur être apportées lors de ces transferts. Dans de nombreuses plantes, les alcaloïdes se trouvent dans les parties florales, les fruits ou les graines, sous forme concentrée dans les vacuoles (Krief, 2003). Ce sont des composés

relativement stables qui peuvent être organisés en groupes. On estime qu'environ 12 000 alcaloïdes différents les plantes produisent (Jörget Peter, 2008).

1.2.1.1.7. Terpénoïdes

Le terme terpène inventé par Kekulé vient de leur origine historique du térébinthe "*Pistacia terebinthus*" (Ayad, 2008) qui est associé à tous les composés dont leurs structures moléculaires sont construites à partir d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène. Ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux en les synthétisant (Benaïssa, 2011). Ces composés étaient utilisés sous forme d'huiles (huiles essentielles) extraites des plantes par l'approche de l'hydrodistillation (Malecky, 2005).

Tableau 2: Propriétés biologiques de certains polyphénols (François, 2010).

Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénoliques (tels que les dérivés d'acide cinnamique et d'acide benzoïque)	Antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires, antifongiques, antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, Antiparasitaires, analgésiques et anti-œdémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vasodilatateurs, antibactériennes, anti carcinogènes, anti inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes
Lignanés	Anti-inflammatoires, analgésiques
Saponines	Antitumorales, anticancérigènes
Phytostérols	Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons
Anthocyanes	Antioxydantes

Chapitre 02
Généralités sur *Ruta*
tuberculata

2.1. Informations générales et distribution

Les espèces du genre *Ruta* (*Rutaceae*) sont en effet des plantes aromatiques vivaces ligneuses avec un appareil excréteur constitué de poches à excréments, ce qui explique qu'un léger écrasement de la partie molle d'un arbre Rutacée suffit à produire une forte odeur d'essence, comme elles sont caractérisées par fouillage où l'essence est très abondante (**Dupont et Guigard, 2012**). *R. tuberculata* est réparti dans tout le nord du Sahara, dans des dépressions légèrement sableuses aussi loin au sud que Tademaït, et semble être absent ou très rare dans le centre et le sud du Sahara septentrional et le Sud de l'Europe (**Ozenda, 1991**). Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle dans la région méditerranéenne dans le traitement de nombreuses maladies. En effet, les espèces du genre *Ruta* étaient utilisées comme emménagogue, anticonvulsivant, et contre la fièvre et les vers intestinaux (**Forment, 1941**).

2.2. Description et classification botanique

Ruta tuberculata (*Aplophyllum* ou *Haplophyllumtuberculatum*) est un arbuste aromatique avec des tiges de 30 à 60 cm de long, très ramifiées vers le haut, avec des feuilles lancéolées ou le plus souvent très allongées qui sont tordues et enroulées sur les bords. Cette plante se caractérise également par une tige pourrie qui émet une essence très nauséabonde (Figure 6).



Figure 6: Photographie du *R. Tuberculata* (Wilaya de Biskra – El Hadjeb originale)

Tableau.2.Classification botanique du *R.tuberculata*.

Règne	<i>Plantae</i>	Ordre	Sapindales
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>	Famille	<i>Rutaceae</i>
Embranchement	Spermatophyta	Sous Famille	Rutoïdeae
Sous Embranchement	Angiospermae	Genre	<i>Ruta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>	Espèce	<i>Ruta tuberculata</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>	Nom vernaculaire	Fidjel
Sous classe	<i>Rosidae</i>	Nom en Arabe	فيجل

2.3. Composition chimique

Les scientifiques ont identifié plus de 8 000 composés dans les espèces du genre *Ruta* qui contiennent de nombreux métabolites à effet bénéfique sur la santé. Parmi eux se trouvent les polyphénols, qui forment un spectre important de substances naturelles précieuses dans le règne végétal (**Belkassam et al., 2011**). Ils sont regroupés en différentes classes telles que les dérivés des acides cinnamique et benzoïque, les flavonoïdes, les lignines et les lignanes, les triterpènes et les huiles essentielles, la coumarine et les tanins (**Zellagui, 2012**).

Des études phytochimiques récentes ont montré que *R. tuberculata* est une plante aromatique riche en polyphénols (**Chaibeddra et al., 2016**), alcaloïdes (**Sheriha et al., 1985**), lignines (**Gonzalez et al., 1979**), flavonoïdes (**Khalid et Waterma, 1981**) et en huiles essentielles (monoterpènes 77,8%), sesquiterpènes (13,8%) et hydrocarbures (**Abdelsalam et Bogdadi, 2010**). Sa composition chimique semble riche en stéroïdes (**Diar et al., 2005**), tanins. (**Eldarier et al., 2020**), glucides et dérivés coumariniques (furocoumarines) (**Diar et al., 2005**). En plus, les monoterpènes constituent la classe la plus prédominante des huiles essentielles détectées dans les plantes de ce genre où les taux varient selon la saison, l'année et le lieu de récolte (**Hammiche, 2013**).

2.4. Utilisations traditionnelles

La diversité de la composition chimique des espèces du genre *Ruta* en composants bioactifs favorise son utilisation comme médicament, car ces composés ont un large éventail spectre d'effets biologiques et de propriétés thérapeutiques, ce qui peut expliquer leur inclusion dans la médecine traditionnelle et même dans l'alimentation et l'industrie (**Ratheesh et al., 2009**). En effet, les parties aériennes fleuries sont traditionnellement utilisées pour les douleurs rhumatismales, tout comme les préparations des feuilles qui sont utilisées pour

soulager l'arthrite. En outre, cette plante a été également incorporée dans le traitement des infections cutanées. En médecine traditionnelle, les espèces du genre *Ruta* ont été utilisées pour traiter de nombreuses maladies, telles que les troubles digestifs (Eissa et al. 2014), les convulsions chez les enfants et les maladies du système nerveux (Kalle et al., 2009). Cependant, une infusion de feuilles est indiquée pour les diabétiques et les personnes atteintes d'une maladie hépatique (Al-snafi, 2018). De plus, les feuilles de cette plante sont employées contre l'infertilité et la fièvre (Said et al., 2002).

2.5. Activités biologiques de *Ruta tuberculata*

Selon Sabry et al. (2016), les différents extraits de la partie aérienne de *Ruta tuberculata* ont révélé de nombreuses propriétés antioxydantes, notamment l'effet antiradicalaire qui peut s'attribuer à leurs contenus en composés phénoliques (Hamdi et al., 2017a). D'autre part, des études antérieures sur *Ruta tuberculata* ont montré que certains de ses métabolites secondaires tel que, les flavonoïdes et les tanins présentent des capacités antimicrobiennes et antipaludiques (Adedegaleil et al., 2020), aussi *R. tuberculata* possède autres propriétés anti-inflammatoires (Asheur et al., 2011), antioxydantes (Sriti et al., 2011), pesticides (Ghasmzadeh et al., 2018). De plus, ils ont rapporté que cette espèce exerce un effet protecteur cardiovasculaire (Daoudi et al., 2018), un effet cytotoxique (Hamdi et al., 2018a) et un effet inhibiteur de l'acétylcholinestérase (Al-Rehaily et al., 2014 ; Saidi et al., 2022a,b).

Partie 02

Partie expérimentale

Chapitre 03

Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Collecte et préparation de la plante *Ruta tuberculata*

La plante *R. tuberculata* a été récoltée en mars 2023 à partir de la Commune d'Ain Naga, (Wilaya de Biskra, Algérie). L'identification de l'espèce a été validée par Dr. Benmeddour Tarek (Département des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed khider-Biskra). Après la récolte, la partie aérienne a été débarrassée des impuretés et bien nettoyée puis séchée à l'ombre dans un endroit sec à température ambiante pendant quelques jours (une semaine), puis conservés à une température ambiante dans des sachets en papier.

3.1.2. Matériel biologique

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris *Swiss albinos* mâles de 25 à 30 g provenant du laboratoire animalier de l'Institut Pasteur (Alger, Algérie). Dans des conditions d'élevage favorables, les souris sont regroupées en groupes (10 animaux par cage) et maintenus pendant une période d'acclimatation d'une semaine durant laquelle ils sont nourris à l'accès libre à l'eau potable jusqu'à leur utilisation, à 22°C ainsi qu'une photopériode de 12h/12h.

3.1.3. Réactifs chimiques

Les réactifs et les solvants utilisés dans notre travail expérimental, Ceux-ci sont: méthanol, éthanol, chloroforme, acétone, acétate d'éthyle, éther de pétrole, trichlorure du fer (FeCl_3), sulfate de fer (FeSO_4), magnésium (Mg), réactif de Stiansy phosphate dibasique (Na_2HPO_4), chlorure d'hydrogène (HCl), hydroxyde de potassium (KOH), hydroxyde de sodium (NaOH), réactif de Mayer, anhydride acétique, acide sulfurique (H_2SO_4), Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), BHT (2,6 Di-tert-Butyl-4-méthylphénol), BHA (Hydroxyansole butylated), albumine du sérum bovin (BSA), glucose, carraghénane, glibenclamide, diclofénac et indométacine.

3.2. Méthodes

3.1.1. Préparation des différents extraits de plante *Ruta tuberculata*

3.1.1.1. Extraction aqueuse

L'extrait aqueux de *Ruta tuberculata* a été préparé par une méthode de décoction de 100 g de la partie aérienne dans de l'eau distillée pendant 15 min selon la méthode décrite par (Ratheesh et Helen 2007). Après filtration sous vide, le filtrat est séché dans une étuve à

40°C. L'extrait aqueux (EAQ) est obtenu sous forme d'une poudre brune qui a été stocké à -4 °C.

3.1.1.2. Extraction méthanolique

Selon les méthodes de (Bekheet *et al.* (2011), (Khlifi *et al.* 2013), l'extrait méthanolique (EMet) de la plante de *R. tuberculata* a été obtenu par la macération de 100 g de partie aérienne (10 % ; p:v) dans du méthanol/eau (80 %) pendant 48 h. Après filtration sous vide, le filtrat est évaporé (Rotavapeur), puis séché dans une étuve à 40°C. Un extrait d'aspect brut cristallin verdâtre est obtenu et stocké à -4 °C.

3.1.1.3. Extraction par des solvants organiques (Acétate d'éthyle / Acétone)

D'après (Kacem *et al.*, 2014), avec des légères modifications, ont trempé 100 g de la partie aérienne de chaque plante dans 300 ml d'éther de pétrole pendant 2 heures sous agitation douce, puis le résidu obtenu après filtration est subi une macération dans de l'acétone ou de l'acétate d'éthyle (10 % p:v) pendant 48h. Les solvants organiques sont ensuite éliminés par évaporation jusqu'à l'obtention d'extraits concentrés. Ainsi et Après le séchage dans une étuve à 40 °C, les extraits d'acétone (EAc) et d'acétate d'éthyle (EAcE) sont stockés sous forme de gomme verdâtre à -4 °C. Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

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

R:rendement %.

M_{ext}: Masse de l'extrait après évaporation de solvant g;

M: Masse de la matière végétale utilisée en g.

3.2.2. Analyse phytochimique des extraits de *R. tuberculata*

a. Caractérisation des saponosides (frothing test)

La présence de saponosides dans les extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne de *R. tuberculata* a été qualitativement déterminée sur la base de l'apparition d'une mousse continue après agitation pendant plus de 15 à 30 minutes. Dans ce contexte, 1 g de chaque extrait a été dissous dans 10 ml d'eau distillée et la solution a été vigoureusement mélangée verticalement pendant 15 à 30 secondes (Dohou *et al.*, 2003 ; Aliyu *et al.*, 2011).

Après 15 minutes, la hauteur de la mousse a été mesurée et si elle dépasse 1 cm, cela indique la présence de saponoside (N'Guessan *et al.*, 2009).

b. Mucilages

Dans ce test, 1 g de chaque extrait de *R. tuberculata* a été ajouté à 5 ml d'éthanol absolu. Au bout d'une dizaine de minutes, la formation d'un précipité pelucheux en mouvement indique la présence de mucilage (Amadou, 2006).

c. Caractérisation des alcaloïdes

Un volume de 10 ml de méthanol a été ajouté à 0,2 g de chaque extrait de *R. tuberculata*. Après un mélange manuel puis un repos de 24h, les extraits sont filtrés. 2 ml d'une solution aqueuse de HCl (1%) ont été ajoutés à 2 ml du filtrat et l'ensemble est chauffé et filtré avant d'ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer. L'observation d'un nuage ou la formation d'un précipité jaune prouve la présence d'alcaloïdes (Aliyu *et al.*, 2011).

d. Caractérisation des coumarines

Pour détecter la présence de coumarines dans les parties aériennes de *R. tuberculata* une quantité de 0,2 g de chaque extrait a été dissous dans du méthanol et quelques gouttes de KOH (10 %) ont été ajoutées. L'apparition d'une coloration jaune, qui disparaît lorsque 10 gouttes d'HCl concentré sont ajoutées, indique la présence de coumarines (Hindumathy, 2011).

e. Caractérisation des quinones libres

Chaque extrait (0,05%, p:v) étudié a été préalablement préparé dans de l'éther de pétrole. Après mélange manuel et un repos de 24h, les extraits ont été filtrés. Alors que, la présence de quinine libre est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 10% lorsque la phase aqueuse devient jaune, rouge ou violette (Dohou *et al.* 2003).

f. Caractérisation des anthraquinones

0,5 g de chaque extrait a été préparé dans 10 ml de chloroforme. Après un mélange manuel pendant une minute et repos pendant 24h, les extraits sont filtrés puis une petite quantité de KOH (10 % ; p : v) est ajoutée à chaque préparation. Après agitation, la détection des anthraquinones est confirmée par un changement de couleur de la phase aqueuse vers le rouge (Dohou *et al.*, 2003).

g. Caractérisation des stérols et des polyterpènes (test de liberman-burchard)

Les stérols et les polyterpènes ont été recherchés à l'aide de la réaction de Libermann (N'Guessan et al., 2009), ou 1 ml d'anhydride acétique puis 0,5 ml de chloroforme sont ajoutés à 0,5 g de chaque extrait de la plante *R. tuberculata*, les solutions sont transférées dans des tubes à essai auxquels on ajoute 0,5 ml d'acide de sulfate concentré. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet dans la phase intermédiaire, qui vire au bleu puis au vert, qui indique une réaction positive (N'Guessan et al., 2009).

h. Caractérisation des tanins (test FeCl₃)

2-3 gouttes de FeCl₃ (1%) ont été ajoutées à chaque extrait. La couleur vire au noir bleuté en présence de gallotannins et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique (Dohou et al., 2003). Le réactif de Stiasny (voir annexe 1) a été utilisé pour différencier convenablement entre les tanins galliques et catéchiques. Pour cela, 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formaldéhyde dans 5 ml d'HCl concentré) ont été ajoutés à 5 ml de chaque extrait. Le mélange est incubé dans un bain-marie à une température de 80°C pendant 30 minutes. Ainsi, la présence du précipité sous forme de gros flocons reflète la présence des tanins catéchique. Alors pour les tanins galliques, la solution précédente a été filtrée, le filtrat recueilli a été ensuite saturé d'acétate de sodium. L'ajout de trois gouttes de FeCl₃ donne une forte couleur bleu-noir, qui est une indication de la présence de tanins galliques (N'Guessan et al., 2009).

i. Caractérisation des polyphénols

La réaction avec le chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les polyphénols. Une goutte de FeCl₃ à 2 % dans du méthanol a été ajoutée à chaque extrait. La présence d'une couleur bleu-noir ou verte plus ou moins foncée est un signe de la présence de polyphénols (N'Guessan et al., 2009).

g. Caractérisation des flavonoïdes (test Shibata ou test Shinoda)

La présence de flavonoïdes dans différents extraits a été mise en évidence dans la réaction avec la cyanidine (Ciulel, 1982). Les flavonoïdes sont responsables du dégagement d'hydrogène et de la couleur orange à rouge violacé en présence d'acide chlorhydrique concentré et de magnésium (Hadj-Salem, 2009). 0,5 g de chaque extrait a été dissous dans 1,5 ml de méthanol (50%) et chauffé dans un bain d'eau bouillante, suivi de l'ajout de 5 ml de HCl et de quelques fragments de magnésium. Après la libération d'hydrogène, la réduction des flavonoïdes aglycones en anthocyanes donne la couleur rouge (Aliyu et al., 2011).

3.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Le principe de cette technique est basé sur la capacité de ces extraits à réduire la dénaturation thermique de l'albumine du sérum bovin (BSA)(**Bouhlali et al., 2016**).Brièvement,1ml de chaque concentration d'extrait ou du standard (Diclofénac sodique)a été mélangé avec1 ml de la solution de BSA 0.2% préparé dans du tampon Tris-HCl(pH : 6,6). Après une incubation à 37 C° pendant 15 min, une autre incubation dans un bain marie à 72°C pendant 5 min a été effectuée. Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm.

Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc de l'extrait été préparé, contenant 1ml d'extrait avec 1 ml du tampon Tris-Hcl

Dans les tubes représentatifs du contrôle négatif de BSA, 1 ml de la solution de BSA a été mélangé avec 1ml du solvant utilisé pour solubilisation des extraits. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de taux des protéines (albumine bovin) a été calculé selon cette formule-là :

$$\% \text{ d'inhibition de la BSA} = [V_s / V_c - 1] \times 100$$

Vs: représente l'absorbance de l'échantillon à tester

Vc: représente l'absorbance du témoin.

3.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité piègeur du radical d'Hydroxyl (OH[•]) a été déterminée selon la méthode décrite par Smirnoff and Cumbes(1989).200µl de chaque concentration d'extrait est mélangée avec 120µl de Sulfate de fer(FeSO₄), 100µl de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et 400µl d'acide salicylique. Après incubation à 37°C pendant 30 min, un volume de 180 µl de H₂Oa été ajouté et la lecture de l'absorbance a été faite à 510 nm. Un contrôle est préparé d'un mélange de400µl d'acide salicylique, 100µl deH₂O₂, 120µl deFeSO₄ et 180µl de H₂O. Deux antioxydants (le BHA et le BHT) ont été utilisés comme des molécules de référence. L'activité antiradicalaire est calculée selon l'équation suivante (**Re et al. 1999**) :

$$(\%) = [(Abs \text{ Contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ Contrôle}] \times 100$$

Abs Contrôle : absorbance du blanc.

Abs échantillons : absorbance de l'extrait ou du standard.

Abs échantillons : absorbance de l'extrait ou du standard.

3.2.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

a) Préparation des lots

Selon (Sene *et al.* 2016) et (Mayoufetal. 2019), l'effet anti-inflammatoire de extraits aqueux et méthanolique de la plante étudiée a été évalué *in vivo* sur un modèle de l'induction de l'œdème de la patte par carraghénane, en utilisant l'indométacine, un médicament anti-inflammatoire, comme un témoin positif (Groupe 2). Les extraits ainsi que l'anti-inflammatoire de référence ont été dissous dans de l'eau physiologique saline (NaCl 0.9%). Les souris ont été préalablement pesées et réparties en 6 groupes de 5 animaux. Après la mise à jeun pendant 6 h avant l'expérimentation, les lots 3-6 ont été traités par l'administration orale de l'une des deux doses testées (100 et 300 mg/kg) des extraits aqueux et méthanolique, respectivement.

-groupe 1 (induit non traité) a reçu l'eau physiologique en raison de 10 ml/kg avant l'induction d'œdème au niveau de la patte droite alors que la patte gauche représente le témoin sain

- groupe 2 (contrôle positif) a reçu une solution de l'indométacine (25 mg/kg).

- groupe 3 (EAQR1) a gavage d'une dose de 100 mg/kg d'extrait aqueux de *R.tuberculata*.

-groupe 4 (EAQR2) a gavage d'une dose de 300 mg/kg d'extrait aqueux de *R. tuberculata*.

-groupes 5 et 6 (EMetR1 et 2) ont reçu des doses de 100 et 300 mg/kg d'extrait méthanolique de *R. tuberculata*, respectivement. Une heure après l'administration orale des différentes solutions, 0,01 ml de carraghénane a été injecté sous-cutané dans la pomme de la patte arrière droite de chaque animal dans tous les groupes.

b) Mesure du volume (V0) et l'induction de l'œdème de la patte

Pour chaque souris, le volume initial (V0) de la patte arrière droite a été mesuré avec un pied à coulisse numérique avant d'injecter la solution de carraghénane (1%), et le volume des pattes injectées a été mesuré après 1h, 2h, 3h et 4h et 24h. l'inhibition de l'évolution d'œdème a été estimée en déterminant le pourcentage moyen d'inhibition (I %) à l'aide de la formule suivante :

$$I \% = [(VMns - VMt) / VMns] \times 100$$

VMns: Volume moyen de la patte droite du groupe témoin non sain à un moment donné ;
VMt : Volume moyen de la patte droite d'un groupe traité par une dose testée, à un moment donné.

c) Œdème de l'oreille induit par la carraghénane

L'œdème de la face interne de l'oreille droite de souris mâles induit par la carraghénane est un consciencieux test pour voir si la plante possède des propriétés anti-inflammatoires potentielles. Les souris (*Swiss albinos*) mâles ont d'abord été divisées en 6 groupes, comprenant 5 souris par groupe, comme suit :

Groupe 1 : représente le témoin non sain et qui a reçu dans l'oreille droite 0,01 ml de carraghénane (1%) pour induire localement l'œdème et n'a été traité au niveau de l'oreille droite qu'avec l'eau physiologique (10 ml/kg). L'oreille gauche des souris est considérée comme un témoin négatif sain.

Groupe 2 : a été considéré comme un témoin positif où les animaux ont été traités par le médicament anti-inflammatoire l'indométacine (25 mg/kg) après qu'ils ont reçu de 0,01 ml de carraghénane (1 %).

Groupe 3 et 4 : les souris dans de chacun de ces groupes ont reçu 0,01 ml de carraghénane (1%) et l'une des doses testées (100 et 300 mg/kg) de l'extrait EAQ de *R. tuberculata* au niveau de l'oreille droite.

Groupes 5 et 6: ces groupes ont reçu l'extrait EMet de *R. tuberculata* à des concentrations de 100 et 300 mg/kg, respectivement, précédé par 0,01 ml de carraghénane (1 %). Le diamètre de chaque oreille a été mesuré avant le traitement et après 2h, 4h, et 24h après l'induction d'œdème traitement (**Manga et al., 2004**).

$$(\%) = [MPE_{cont} - MPE_{treat} / MPE_{cont}] \times 100.$$

MPE_{cont} : est le pourcentage moyen d'inhibition d'œdème du groupe témoin négatif (induit et traité avec une solution saline).

MPE_{treat} : est le pourcentage moyen d'inhibition d'œdème du groupe induit et traité par une dose d'extrait ou du médicament anti-inflammatoire.

3.2.5. Etude de l'activité anti-hyperglycémie induite

L'effet hypoglycémiant de la plante *R. tuberculata* a été investigué *in vivo* sur un modèle d'hyperglycémie induite par forte dose du glucose chez les souris males *Swiss albinos* réparties en 7 groupes:

Un groupe 1 témoin sain non induit, un groupe 2 représentatif de l'hyperglycémie induite sans traitement (témoin non sain), un groupe 3 induit et co-traité avec un médicament antidiabétique (le glibenclamide 5mg/kg), deux groupes (4 et 5) induits et prétraités oralement par l'extrait aqueux de l'espèce *Ruta tuberculata* (les doses 100 et 300mg/kg), respectivement. Deux autres groupes (Groupes 6 et 7) ont reçu chacun l'une des doses testées de l'extrait méthanolique de la plante *R. tuberculata*.

L'effet anti-hyperglycémie de différents extraits de l'espèce *R. tuberculata* a été évalué en mesurant la glycémie à jeun avant et après 1h, 1h30 et 2h de l'administration par voie orale de la solution du glucose (2g/kg) en raison d'un volume de 10ml/kg. La prise de la glycémie a été effectuée individuellement par un prélèvement sanguin à partir de la veine caudale de chaque animal.

3.2.6. Analyses statistiques

Les résultats des tests *in vitro* sont exprimés en moyenne de trois répétitions \pm SD, tandis que les résultats *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm SEM. Les comparaisons entre les différents extraits et les témoins ont été faites en se fondant sur l'analyse statistique par le test student (application Excel).

Chapitre 4

Résultats et discussion

1. Extraction et rendement

Les rendements obtenus sont présentés dans la Figure 7.

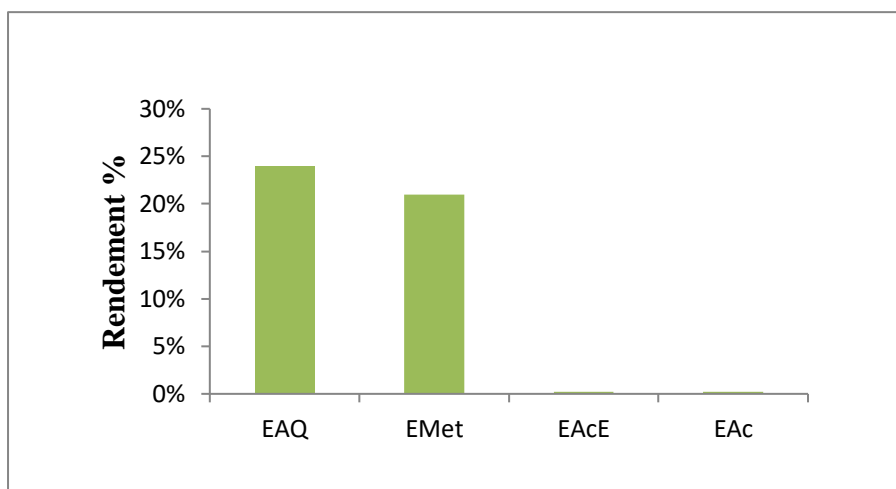


Figure 7. Rendement de différents extraits de *R. tuberculata*.

D'après les résultats obtenus, l'extraction aqueuse a donné le meilleur rendement d'EAQ avec une valeur de 23,9% suivi par celles d'EMet, d'EAc et d'EAce avec des valeurs respectives de 21% et 0,2% et 0,21%.






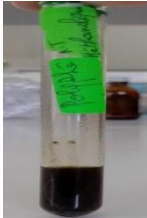

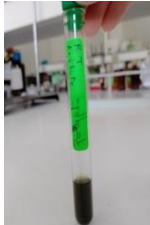

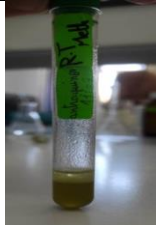





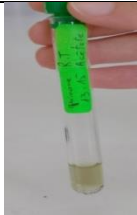
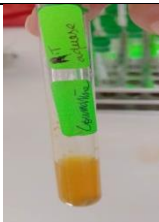
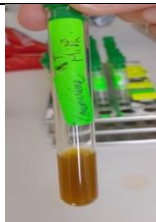


Nos résultats sont en accord avec Mahmoudi et al. (2013), sur la plante *R. tuberculata* qui semblent similaire à celui de nos résultats qui ont trouvé les rendements de l'extrait EAQ, EMet, EAc et EAce de (22,8% et 21%, 0,4% et 0,22%), respectivement, ils ont montré que la solubilité des composés phénoliques végétaux dépend de leur nature chimique, c'est-à-dire de leur polarité et de leur degré de polymérisation, et de la polarité du solvant utilisé. De plus, les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, de phénylpropanoïdes, de flavonoïdes, des quinons et de tanins.



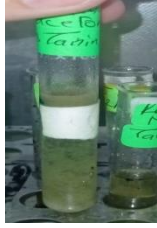

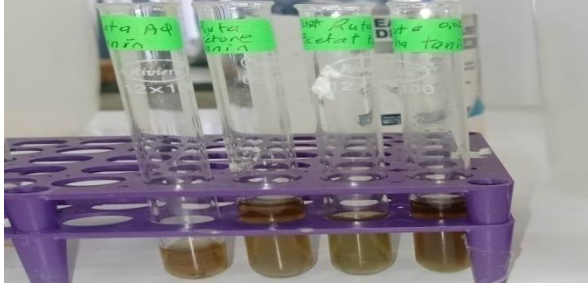
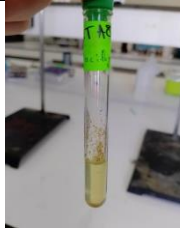
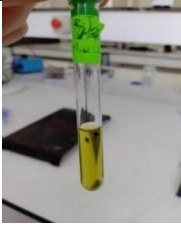
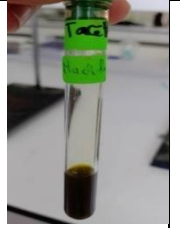
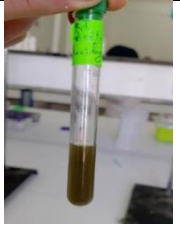





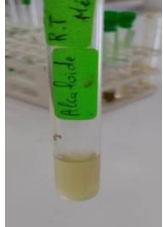

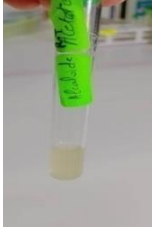




Cette diversité structurale est responsable de la grande variation des propriétés physico-chimiques affectant l'extraction des polyphénols. De plus, le rendement de l'extrait varie d'une plante à l'autre et peut être dû à de nombreux facteurs, notamment la génétique des plantes, le stade de croissance à la récolte, les conditions, le climat et la géographie de la zone de récolte, les conditions de stockage et la technique d'extraction utilisée (Daoudi et al., 2016). Notamment, la différence dans le rendement peut se lier au matériel végétal utilisé tels que les feuilles, les fleurs ou les racines (Smith-Palmer et al., 2001).

2. Etude phyto-chimiques des extraits de la plante *R. tuberculata*

Différents tests de criblage phytochimique ont été réalisés sur des extraits EMet et EAQ, EAC et EACE, de la partie aérienne de *R. tuberculata* a fin de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires. Les résultats de ces tests sont présentés dans le tableau3

Tableau 3:Criblage phytochimique de différents extraits de plante *Ruta tuberculata*.

	EAQ	EMet	EAC	EACE
Saponosides	+	+	-	-
Observation				
Polyphénols	+	+++	++	++
Observation				
Anthraquinones	-	+	-	-
Observation				
Quinones	-	+	++	+
Observation				
Coumarines	+++	++	+	+
Observation				

Tanins catéchiques	+++	++	++	++
Observation				
Tanins galliques	+	+	+	++
Observation				
Mucilage	+	+	+	+
Observation				
Poly-terpènes	++	+++	++	++
Observation				
Alcaloïdes	-	+	-	+
Observation				
Flavonoïdes	++	+	+	+
observation				

(+++): Présence Forte; (++) : présence Moyenne; (+) : Faible présence; (-) : Absence.

Nous avons constaté que l'EMet est le plus riche en métabolites secondaires par rapport aux l'EAQ, l'EAc et l'EAcE, notamment en polyphénols, coumarines, tanins (catéchines) et polyterpènes, en plus des quinones et des saponosides et des alcaloïdes, ainsi que des flavonoïdes et des anthraquinones, qui sont présents mais en moyenne portions. Cependant, l'EAQ semble être plus riche en alcaloïdes, en coumarines, en anthraquinones et en quinones, et contient généralement des saponosides, des polyphénols, ainsi que des polyterpènes et des flavonoïdes. Cependant, les extraits de plante *R. tuberculata* EAc et EAcE sont généralement caractérisés par une faible teneur en coumarines et flavonoïdes, toutefois, il a montré une richesse en polyphénols et en tanins catéchiques et galliques chez l'EAcE en comparaison avec les alcaloïdes et les tanins galliques qui semble être assez important dans cet extrait. Selon les dénouements obtenus par (youcef et al., 2018), ont constaté que l'EMet est le plus riche en métabolites secondaires par rapport aux l'EAQ et les autres extraits (EAc, EAcE) notamment en flavonoïde, Saponoside, les alcaloïdes et les triterpènes, à l'exception des quinones libres et les coumarines qui sont absentes dans les deux extraits.

Cependant, l'EMet semble être plus riche en alcaloïdes, Saponoside et en anthraquinones que l'EAQ et qui dépourvu en eux. Ce dernier contient des triterpènes par contre l'EMet contient des stérols. Néanmoins, l'EMet de *R. Tuberculata* se caractérise généralement par une faible présence des polyphénols, toutefois, il a montré une richesse en flavonoïdes et en tanins galliques en comparaison de l'extrait EAQ qui semble avoir fortement les polyphénols avec une moindre présence des flavonoïdes et les tanins.

3. Résultats d'évaluation des activités biologiques *in vitro*

3.1. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

La structure d'une protéine détermine sa fonction, donc toute modification de la forme tridimensionnelle de celle-ci, appelée « état dénaturé » (Dill et Shortle, 1991), ce qui affecte systématiquement sa fonction ainsi son rôle physiologique. Les protéines sont dénaturées à 100 °C, mais d'autres facteurs, en particulier des facteurs internes tels que des réponses inflammatoires excessives ou des maladies auto-immunes, peuvent également être impliqués dans le processus leur dénaturation (Atassi et Casali, 2008). A long terme, ces phénomènes ont des conséquences négatives et parfois même irréversibles sur la santé de l'organisme.

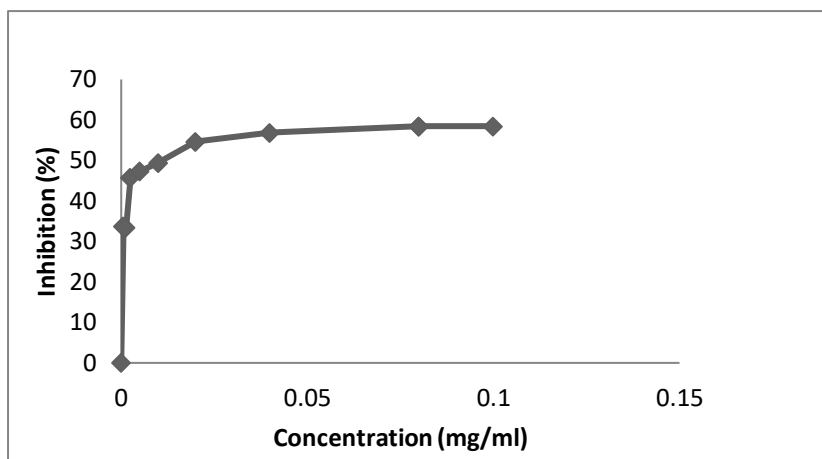


Figure 8.Inhibition de la dénaturation de BSA par le médicament anti-inflammatoire (Diclofénac de sodium). Les valeurs du pourcentage d’inhibition sont exprimées en moyenne± SD (n=3).

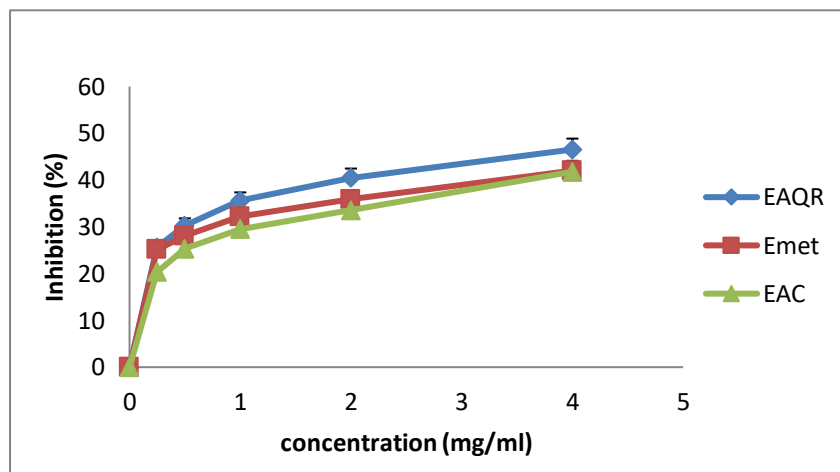


Figure 9.Inhibition de la dénaturation de BSA par des différents extraits Les valeurs du pourcentage d’inhibition sont exprimées en moyenne± SD (n=3).

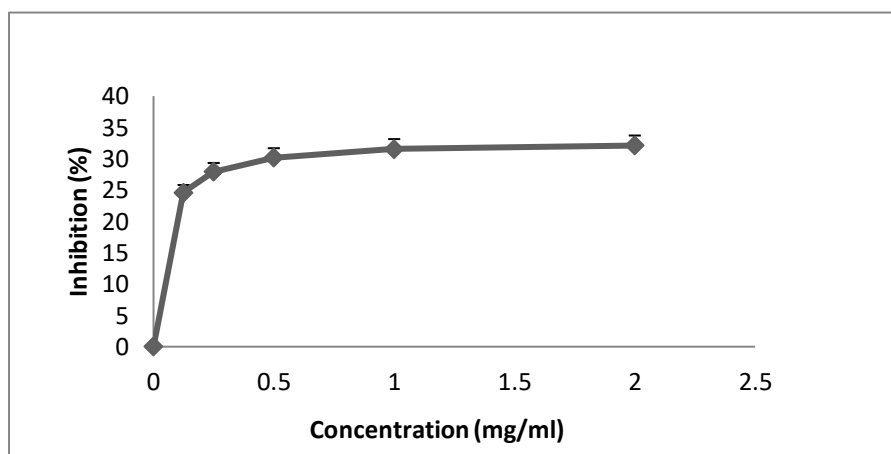


Figure10.Inhibition de la dénaturation de BSA par l’EAcE. Les valeurs du pourcentage d’inhibition sont exprimées en moyenne± SD (n=3).

La capacité de *R. tuberculata* à inhiber la dénaturation de l'albumine bovine (BSA) a été étudiée dans le présent travail. Les résultats obtenus ont révélé que les quatre extraits testés ont inhibé la dénaturation de BSA d'une manière dose dépendante. Ainsi que, l'extrait EAQ a montré significativement le meilleur effet inhibiteur à sa concentration (4mg/ml) avec un taux maximal de (40,43%) en comparaison avec extrait EMet qui a présenté un taux de (36,02%) (Figure 9). À la concentration maximale testée (4mg/ml), les extraits EAc et EAcE, ont inhibé modérément la dénaturation de BSA avec des taux qui sont statistiquement similaires de (34,55) et (32,10%), respectivement (Figure 9 et 10). Toutefois, l'effet protecteur des extraits de l'espèce *R. tuberculata* contre la dénaturation de BSA reste moins important que celui exhibé par le médicament anti-inflammatoire (Diclofénac de sodium) qui est égale à (58,46%), à sa concentration la plus élevée testée (0.1 mg/ml) (Figure 8).

Dans ce test, la concentration inhibitrice IC_{50} est définie comme la concentration d'une substance anti-inflammatoire capable d'inhiber la dénaturation de 50% de BSA. En effet, l'EAQ présente le meilleur agent inhibiteur de la dénaturation de BSA et à un effet anti-inflammatoire le plus important avec la valeur d' IC_{50} ($0,01 \pm 0,04$ mg/ml) qui est significativement ($p \leq 0,01$) la plus faible par rapport aux autres extraits suivi par l'EAc de ($0,03 \pm 0,02$ mg/ml) et l'EMet de ($0,05 \pm 0,10$ mg/ml). En effet, l'extrait EAcE de ($0,31 \pm 0,07$ mg/ml). En revanche, les extraits de l'espèce étudiée demeurent moins actifs que le standard (Diclofénac sodique) qui représente une IC_{50} de ($0,001 \pm 0,10$ mg/ml).

Tableau 4. Valeurs des IC_{50} de différents extraits de *R. tuberculata* et celle de diclofénac de sodium vis-à-vis la dénaturation de BSA.

Extrait/standard	IC_{50} (mg/ml)
EAQ**	$0,01 \pm 0,04$
EMet*	$0,05 \pm 0,10$
EAc*	$0,03 \pm 0,02$
EAcE	$0,31 \pm 0,07$
Diclofénac de sodium**	$0,001 \pm 0,10$

(**); Très significative ; (*) : Different significative.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de **Banerjee et al. (2014)** et **Marrassini et al. (2018)** sur la base desquels ils ont clairement montré la capacité des extraits AQ, Met et AcE de *Ruta tuberculata* à empêcher la dénaturation de l'albumine, ainsi qu'ils ont corrélé l'activité de cette espèce à la richesse en flavonoïdes, en tanins et en alcaloïdes.

Par conséquent, les résultats obtenus par (**Marrassini et al.,2018**), ce résultat reflète un puissant effet anti-inflammatoire, qui a la RME sur le stade inflammatoire tardif et a confirmé la présence de composés naturels inhibiteurs de la phospholipase A2 dans cet extrait. Les composés bioactifs réels inclus dans les plantes, en particulier ceux qui contiennent des flavonoïdes, des triterpénoïdes et des saponines, dans la nature, peuvent grandement interférer dans la physiopathologie de l'inflammation et empêcher la production de nombreux médiateurs pro-inflammatoires, tels que les cyclooxygénases (COX-1 et COX-2), la 5-lipoxygénase (5-LOX), les prostaglandines E2 (PGE2) et certaines cytokines clés telles que l'interleukine (IL)-1 β , mais peuvent également réguler à la baisse l'expression de mPGES-1, ce qui pourrait être efficace pour remplacer progressivement les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

3.2. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante de *R. tuberculata* a été évaluée en estimant l'effet piègeur de ses différents extraits vis-à-vis le radical d'hydroxyle (OH \cdot). Les résultats obtenus sont présentés dans les figures (11,12 ,13 et 14.)

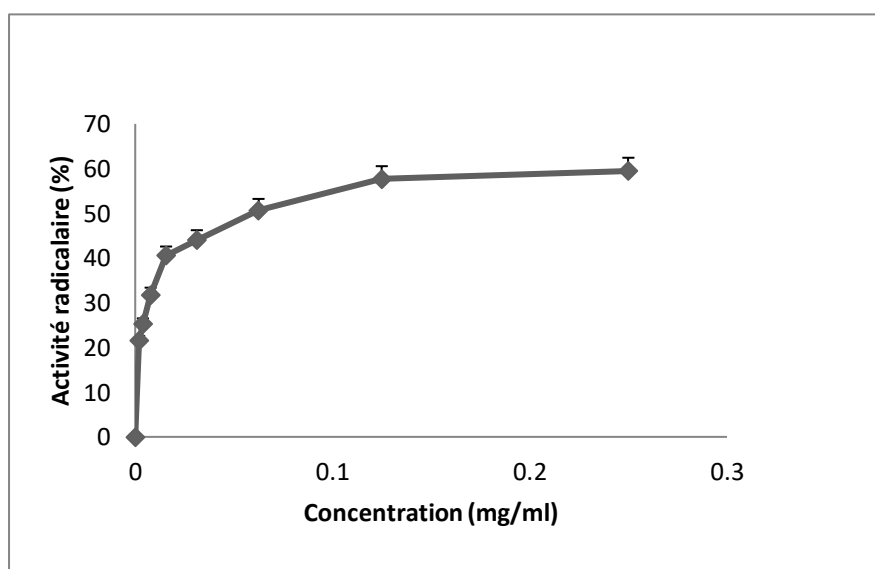


Figure 11.Activité antiradiculaire de l'antioxydant BHA. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3)

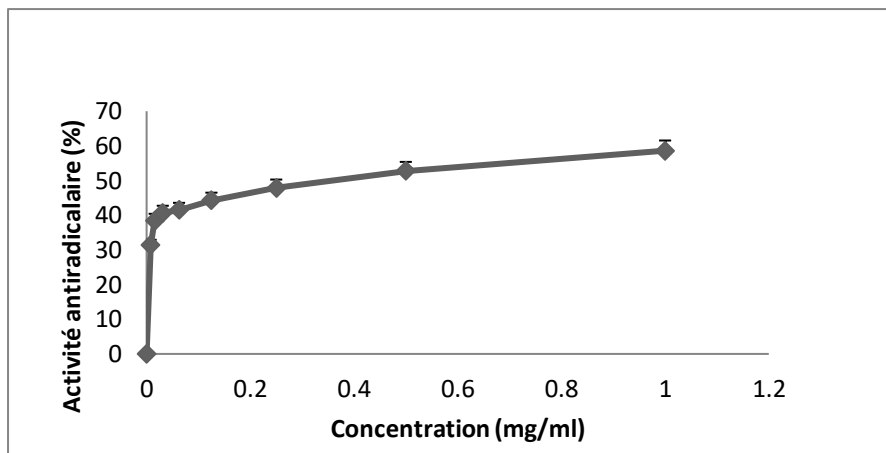


Figure 12.Activité antiradicalaire de l’antioxydant BHT. Les valeurs sont exprimées en moyenne±SD (n=3).

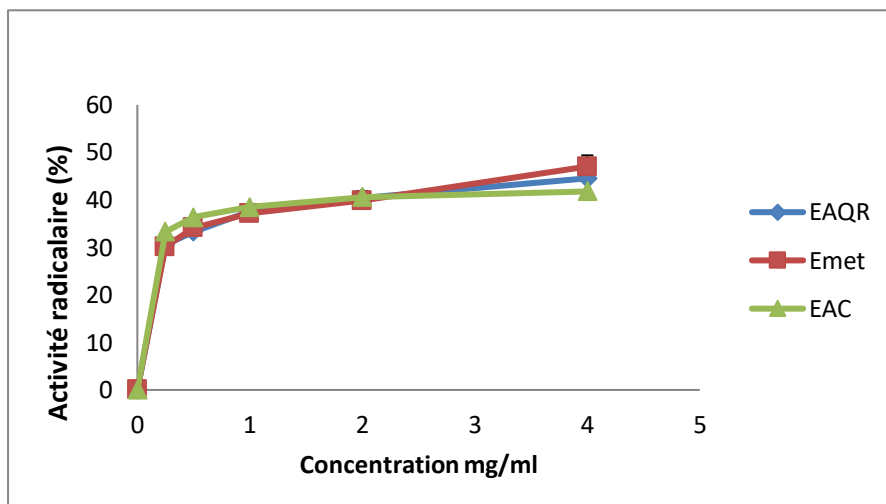


Figure 13. Activité antiradicalaire de différents extraits de l’espèce *R. tuberculata*. Les valeurs sont exprimées en moyenne±SD (n=3).

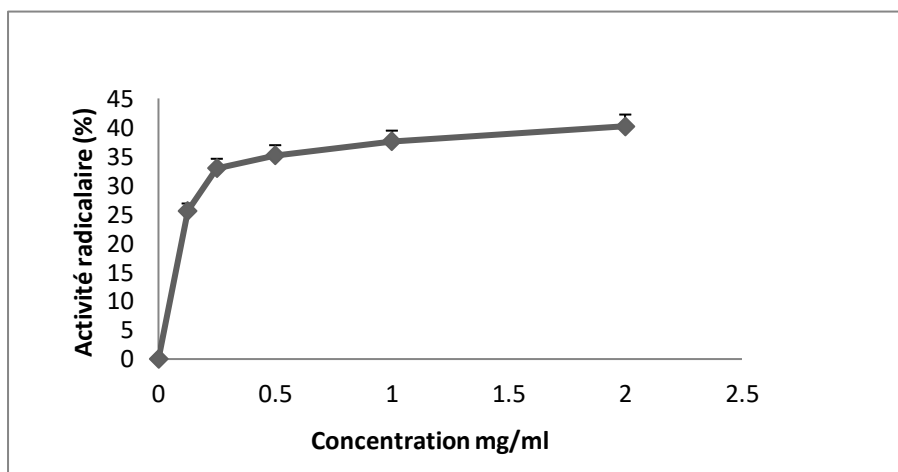


Figure 14.Activité antiradicalaire de l’extrait EAcE de l’espèce *R. tuberculata*. Les valeurs sont exprimées en moyenne±SD (n=3).

D'après nos résultats, tous les extraits testés (EAQ, EMet, EAc et EAcE) et les antioxydants standards ont révélé une activité anti-radicalaire remarquable vis à vis le radical d'hydroxyle (OH[•]) et ceci d'une manière dose-dépendante. À la concentration la plus élevée testée (4 mg/ml), l'extrait EMet a exercé significativement le meilleur effet piègeur avec une activité anti-radicalaire maximale de (44,53%). Alors que le pourcentage exhibé par l'extrait EAQ était de (42,01%). Pour l'EAcet l'EAcE, l'activité antiradicalaire atteint les valeurs de (41,77%) et (40,2%), à la même concentration qui était précédemment mentionnée. En comparaison avec les antioxydants BHA et BHT, l'effet piègeur des extraits de l'espèce étudiée demeure moins important où ces antioxydants standards ont réduit le radical pour enregistrer des taux respectifs d'inhibition de (59,45%) à la dose 25mg et (58,61%), à la dose de 1mg/ml

Plusieurs études (**Conforti et al., 2008; Ugur et al., 2009; Aktumsek et al., 2013**) ont montré que les résultats obtenus dépend principalement du type de solvant utilisé lors de l'extraction, ce qui peut s'expliquer par la présence de composés bioactifs lipophiles capables de neutraliser les radicaux libres dans ce test. En fait, le milieu réactionnel du β -carotène est une émulsion d'acide linoléique qui peut permettre aux molécules bioactives non polaires, telles que les triterpénoïdes, d'accéder librement aux radicaux lipidiques. Il a également été démontré que les solvants alcooliques sont capables de dissoudre certains aglycones de diterpènes et de flavonoïdes.

Il est également intéressant de signaler que les valeurs IC₅₀ des deux standard antioxydants BHA et BHT sont très élevées que celles recordées par les extraits étudiés dont des valeurs de (0,003±0,74), (0,007±0,05), respectivement. L'EMet semble être statistiquement le piègeur le plus puissant avec la faible valeur d'IC₅₀ qui égale à (0,02 ±1,02 mg/ml), suivi par l'EAc (0,05 ±0,01 mg/ml), ainsi l'EAcE, et l'EAc avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre de (0,08 ±0,33mg/ml), (0,12 ±1,10 mg/ml), respectivement. Au vu des résultats obtenus, cette approximation entre les valeurs d'IC₅₀ peut être due à des différences dans la composition chimiques des extraits étudiés et entre leurs contenus en métabolites secondaires notamment en polyphénols, et plus particulièrement en flavonoïdes, qui sont connus par leurs propriétés antioxydantes.

Tableau 5. Valeurs des IC₅₀ de différents extraits de *R. tuberculata* et celle des antioxydants standards vis-à-vis le radical d'hydroxyle.

Extrait/standard	IC ₅₀ (mg/ml)
EAQ**	0,03 ±0,74
EMet**	0,02 ±1,02
EAc	0,12 ±1,10
EAcE	0,08 ±0,33
BHA**	0,003±0,17
BHT**	0,007±3,30

(**); Très significative ; (*) : Different significative

En effet, de nombreuses études sur *R. tuberculata* sur l'EMet ont rapporté que les flavonoïdes font partie des composés phénoliques en tant que contributeurs importants à la capacité antioxydante (Wang et Mazza, 2002), ce qui est en accord. De plus, ils ont également montré que le mécanisme de réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la forme structurale de ce dernier. En effet, la configuration spatiale et le nombre de groupements OH introduisant la structure flavonoïde peuvent influencer ce mécanisme antioxydant (Hein et al., 2002). L'activité de ces métabolites antioxydants est due à leur capacité à donner un atome d'hydrogène ou un électron à partir des groupes hydroxyle des flavonoïdes (Hein et al., 2002).

Les tanins hydrolysables et condensés captent les radicaux libres et les éliminent rapidement. Les radicaux libres, semblablement dus à l'oxydation et à la formation de liaisons covalentes. Les complexes tanin-protéine dans le tractus gastro-intestinal peuvent fournir une activité antioxydante (Riedlet et al., 2002).

Les résultats nous permettent de suggérer que les différents extraits EMet, l'EAQ de *R. tuberculata* contiennent des métabolites, à effet antioxydant, dans leur contenu chimique. En effet, le potentiel antioxydant de la plante étudiée est proportionnel avec sa richesse en polyphénols tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Cela peut également être dû à la quantité, à la nature chimique et au type de composés antioxydants présents dans chaque extrait (Jayaprakasha et Patil, 2007). Ces biomolécules contiennent dans leurs

structures des groupements hydroxyles qui sont responsables du piégeage des radicaux chez les plantes (Li *et al.*, 2007 ; Gulcin *et al.*, 2010), en raison de leur capacité à donner un atome d'hydrogène ou un électron à partir de ces groupements hydroxyle (Gordon, 1990). Cela peut interpréter la capacité antiradicalaire remarquable des extraits étudiés notamment l'extrait EMet où les tests du criblage phytochimique ont confirmé sa teneur élevée en flavonoïdes.

4. Résultats d'évaluation des activités biologiques *in vivo*

4.1. Activité anti-hyperglycémiant *in vivo*

L'effet hypoglycémiant des extraits aqueux (EAQ) et méthanolique (EMet) de l'espèce *R. tuberculata* a été évalué *in vivo* sur un modèle d'hyperglycémie induite chez les souris *Swiss albinos* par l'administration d'une forte dose du glucose. Les résultats sont exprimés en moyenne de taux de réduction de l'hyperglycémie et représentés dans la figure 18.

En comparaison avec le groupe témoin non sain et non traité (la glycémie = $2,30 \pm \text{mg/l}$), l'administration des extraits EAQ et EMet aux souris a réduit significativement l'hyperglycémie induite. Cette réduction de l'intolérance au glucose était dose dépendante pour la glycémie prise après une heure de l'induction de l'hyperglycémie. L'activité hypoglycémiant qu'ils présentent ces extraits semble être similaire ($p > 0,05$) à celle engendrée par l'antidiabétique le glibenclamide qui engendre un taux de réduction de ($99,67 \pm 0,16\%$). En effet, après le passage de la première heure de l'administration du glucose 2g/kg chez les animaux prétraités par les doses 100 et 300mg/kg , les pourcentages de réduction de l'hyperglycémie induite recordés par l'EAQ et EMet étaient très importants de ($90,15 \pm 0,09\%$ et $93,74 \pm 0,05\%$) et de ($81,17 \pm 0,18\%$ et $90,15 \pm 0,18\%$), respectivement. Où l'extrait EAQ révélait le meilleur effet hypoglycémiant par rapport l'extrait EMet.

Au bout d'une heure et demie, nous avons constaté une réduction remarquable de l'intolérance au glucose qui a été exhibée par les deux doses testées (100 et 300mg/ml) des extraits de *R. tuberculata* où les pourcentages de réduction atteignent de ($59,92 \pm 0,21\%$ et $66,75 \pm 0,1\%$) pour l'EAQ et de ($67,41 \pm 0,28\%$ et $67,63 \pm 0,08\%$) pour l'EMet, respectivement. L'effet anti-hyperglycémie engendré par ces extraits après 1h et demi semble être moins important que leur effet enregistré après 1h, comme était indépendamment de la dose uniquement pour l'EMet ($p > 0,05$). Il convient de noter qu'une différence significative ($p < 0,05$) a été constaté entre l'effet hypoglycémiant des extraits de *R. tuberculata* et le médicament antidiabétique ($76,44 \pm 0,06\%$).

Après deux heures, une faible diminution de l'hyperglycémie induite a été observée dans les groupes prétraités par les deux doses testées de l'EAQ ($25,65 \pm 0,07$ et $27,75 \pm 0,09\%$) et ceux de l'EMet ($31,60 \pm 0,08\%$ et $29,23 \pm 0,04\%$), en comparaison au témoin non sain. Cette réduction était statistiquement inférieure ($p < 0,01$) à celle exercée par le glibenclamide ($46,69 \pm 0,08\%$). Cette fois, l'extrait méthanolique semble avoir une activité anti-hyperglycémiant que celle engendrée par l'extrait aqueux de la plante étudiée.

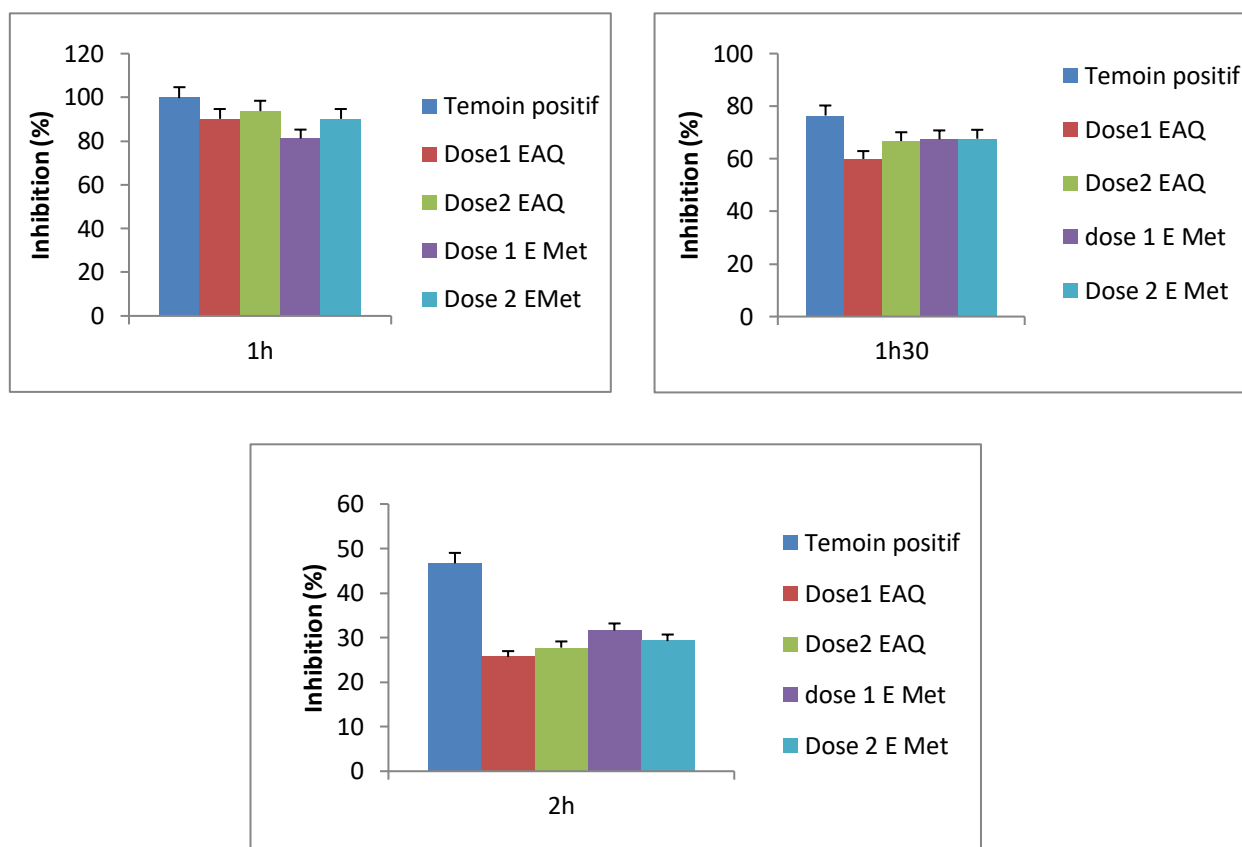


Figure 15. Histogrammes des taux de réduction de l'hyperglycémie induite chez les souris co-traitées par le glibenclamide et les extraits de *R.tuberculata*. Les valeurs de pourcentage de réduction sont exprimés en moyenne \pm SEM. Dose 1 : 100mg/kg ; Dose 2 : 300mg/kg. EAQ : extrait aqueux ; E Met : extrait méthanolique.

Nos résultats obtenus après 1h de l'induction de l'hyperglycémie sont en accord avec ceux trouvés par (Ahmed *et al.*, 2010) qui ont rapporté que les extraits de *R.tuberculata* semblaient un effet hypoglycémiant plus fort en état à jeun et que son extrait EAQ semblaient plus efficace dans la réduction de l'hyperglycémie que son extrait méthanolique tous le long de la période d'étude, après l'administration orale du glucose. En effet, nos résultats ont montré que

des divers extraits de *Ruta tuberculata* présentent des propriétés antidiabétiques en réduisant effectivement l'hyperglycémie induite expérimentalement chez les souris *Swiss albinos*, ce qui peut attribuer au contenu de la plante en métabolites secondaires à effet hypoglycémiant.

Nos résultats sont le reflet d'un accord avec les investigations faites par Kacem *et al.* (2014) sur l'EAQ et l'EMet de *R. graveolens* et son principe actif, la rutine, qui réduisent significativement le taux de glycogène, de l'insuline et du peptide C sériques en diminuant alors l'activité de glucose-6-phosphatase, du glycogène phosphorylase et de l'hexokinase hépatiques chez les souris atteintes d'hyperglycémie, en comparaison au groupe contrôle négatif (souris diabétique sans co-traitement). De nombreuses études (Ahmed *et al.*, 1970 ; Ismail *et al.*, 1986 ; Kubacey *et al.* 2012) ont corrélié l'effet hypoglycémiant des plantes médicinales par leur richesse en flavonoïdes et en sesquiterpéniques lactones, ce qui pourrait expliquer la forte activité anti-hyperglycémiant enregistrée chez l'espèce *R. tuberculata* étudiée dans notre travail. Ces résultats ont été confirmés par Kamalakkannan et Prince (2006) qui ont démontré que les flavonoïdes, en particulier la rutine purifiée et ses différentes doses ont exhibé significativement une réduction importante et dose-dépendante, de l'hyperglycémie induite chez des souris. Une recherche récente menée par Wang *et al.* (2019) utilisant des souris a prouvé que les saponosides peuvent également améliorer la résistance à l'insuline via l'activation de la voie de signal AMPK/NF- κ B qui conduit à la régulation du métabolisme énergétique. Ces informations affirment l'utilisation potentielle de la plante *R. tuberculata* comme un remède traditionnel dans le traitement du diabète.

4.2. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'inflammation aiguë est une réponse immunitaire innée qui se caractérise par quatre symptômes qui sont la chaleur, la rougeur, la douleur et l'œdème ou gonflement. Ce phénomène s'accompagne avec la sécrétion massive de divers médiateurs pro-inflammatoires au niveau du site inflammatoire, en particulier les la sérotonine, l'histamine et les prostaglandines (Merghachee *et al.* 2009). Ces médiateurs solubles jouent un rôle crucial dans l'évolution de l'inflammation et exercent leurs effets sur différentes cellules, en particulier les cellules endothéliales vasculaires, ce qui entraîne localement une augmentation de la perméabilité capillaire. Cela conduit par conséquent à l'infiltration de l'exsudat plasmatique et à la formation alors de l'œdème (Okombe et Nzuzima, 2019). L'œdème formé comprime les terminaisons nerveuses et la prostaglandine et la bradykinine libérées peuvent agir sur le centre hypothalamique, ce qui se traduit souvent par une sensation des douleurs (Etamelo *et al.*, 2018). La mesure du volume d'œdème est alors un excellent outil pour l'évaluation du

développement de l'inflammation cutanée alors que la réduction de l'œdème, suite à un traitement, reflète ses effets anti-œdémateux et anti-inflammatoire.

En effet, l'œdème induit de la patte est un modèle expérimental de bonne répétabilité et d'une valeur prédictive du dépistage d'agents anti-inflammatoires (Luaet *al.*, 2006 ; Cabriniet *al.*, 2011; Okombe et Nzuzima, 2019). Dans le présent travail, d'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et méthanolique, de la partie aérienne de plante *R. tuberculata*, a été évaluée sur les modèles de l'œdème de la patte et de l'œdème de l'oreille induits par le carraghénane chez les souris mâles *Swiss albinos*. Les extraits EAQ et Emet ont été administrés oralement une seule fois, à des doses de 100 et 300mg/kg, aux animaux à jeun pendant 12h, avant d'induction de l'inflammation. Après une demi-heure du traitement, la carraghénane est injecté au niveau de la patte, ou elle a appliqué localement au niveau de l'oreille suivi immédiatement par le traitement par les extraits testés ou le médicament anti-inflammatoire. Le taux d'inhibition de l'évolution de l'œdème induit a été pris après, 1h, 2h, 3h, 4h et 5h pour l'œdème de la patte et après 1h, 2h et 24h pour l'œdème de l'oreille, en comparaison aux groupes : témoin non induit (NaCl 0,9%), le groupe témoin négatif induit (NaCl 0,9%) et le groupe témoin positif induit et traité par l'anti-inflammatoire l'indométacine (25 mg/kg). Les résultats obtenus expriment la moyenne du taux d'inhibition d'œdème \pm SEM (n=5).

D'après les résultats représentés dans la figure 19, le prétraitement des souris par les extraits de *R. tuberculata* et l'anti-inflammatoire indométacine a inhibé effectivement et d'une manière dose-dépendante l'évolution d'œdème induit par la carraghénane tout le long de la période de cette expérience. Cependant, les taux d'inhibition d'œdème de la patte étaient généralement ($p \leq 0.001$) très faibles après 1heure de l'induction d'œdème en comparaison d'évolution de celui-ci chez les animaux du groupe témoin négatif induit et non traité. En effet, ces taux atteignent de ($0,55 \pm 0,023$ %) et de ($8,88 \pm 0,028$ %) pour les groupes prétraités par la dose 100 et 300 mg/kg des extraits EAQ et Emet, qui reste significativement plus faible que celui calculé pour le groupe témoin positif ($18,88 \pm 0,003$ %). Après 2h et 3h d'induction de l'inflammation cutanée de la patte, une augmentation légère a été significative observée dans les valeurs de taux d'inhibition d'œdème dans les groupes prétraités par les doses 100 et 300 mg/kg EAQ et la dose 100 Emet qui deviennent respectivement de ($9,13 \pm 0,002$ %) et ($10,65 \pm 0,041$ %) après 2h et de ($14,35 \pm 0,020$ %) et ($19,80 \pm 0,012$ %) après 3h(Figure 16).

Après 4h de l'induction d'œdème, le traitement des animaux par la dose 300 mg/kg des extraits de *R. tuberculata* a exhibé une activité anti-œdémateuse remarquable qui se traduit à une élévation en taux d'inhibition chez les groupes traités par EAQ ($37,21 \pm 0,02$ %) et par EMet ($44,84 \pm 0,025$ %). Cette activité semble être moins importante ($p \leq 0,01$) que celle engendrée par l'indométacine ($55,15 \pm 0,012$ %). Ainsi que, nos résultats ont montré à tout moment que l'EMet a significativement révélé le meilleur effet anti-inflammatoire *in vivo* ($47,98 \pm 0,03$ %) après 5h de l'induction d'œdème de la patte (Figure 16).

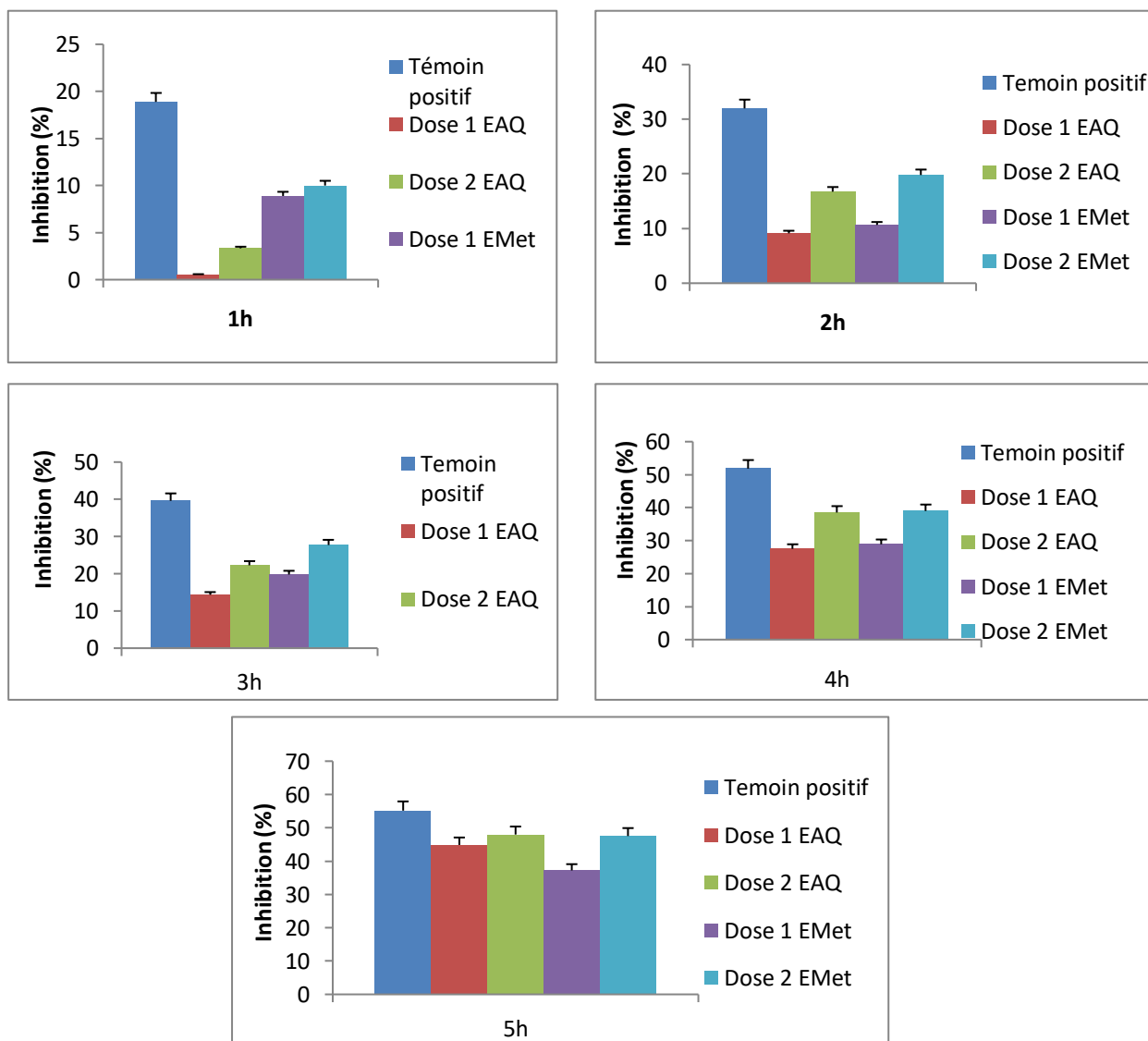


Figure 16. Taux d'inhibition de l'évolution de l'œdème des pattes droites des groupes témoins et les groupes traités par les extraits de *R. tuberculata* en fonction du temps. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=5). **Dose 1** : 100mg/kg ; **Dose 2** : 300mg/kg. **EAQ** : extrait aqueux ; **EMet**: extrait méthanolique.

Concernant l'œdème de l'oreille induit par la carraghénane, les résultats présentés dans la Figure 17 a montré que le taux calculé de l'inhibition d'augmentation de l'œdème

après 2 heures était de $(17,87 \pm 0,01 \%)$ pour la dose 100 mg/kg de l'EAQ, qui semble être très proche ($p > 0,05$) à celui du témoin positif ($18,18 \pm 0,01 \%$). Alors que l'effet anti-œdémateux de sa dose 300 mg/kg était significativement ($p \leq 0,01$) plus important avec un taux d'inhibition ($21,21 \pm 0,01 \%$) qui était supérieur à celui engendré par l'anti-inflammatoire standard. Tandis que, l'extrait EMet a exhibé un modeste effet anti-inflammatoire qui est indépendant de la dose avec des taux d'inhibition de $(9,09 \pm 0,008 \%)$ et de $(3,03 \pm 0,01 \%)$ à ses doses testées de 100 et 300 mg/kg, respectivement.

À partir de la quatrième heure, les deux extraits examinés de *R. tuberculata* ont exercé un effet anti-inflammatoire remarquable avec des taux d'inhibition d'œdème qui étaient en évidence ($37,77 \pm 0,008 \%$ pour l'EAQ et $35,55 \pm 0,006 \%$ pour l'EMet) supérieur à celui de l'indométacine ($31,11 \pm 0,01 \%$). Après 24h, l'œdème a continué d'être évolué chez les animaux du groupe témoin induit et non traité alors que le traitement par l'extrait EAQ et EMet a l'inhibé intensivement ($p \leq 0,001$) avec des taux d'inhibition respectifs de $(68,65 \pm 0,02 \%$ et $65,38 \pm 0,04 \%)$ et de $(59,61 \pm 0,01 \%$ et $53,84 \pm 0,006 \%)$ pour les doses testées 100 et 300 mg/kg, en comparaison avec le médicament anti-inflammatoire ($65,38 \pm 0,008 \%$).

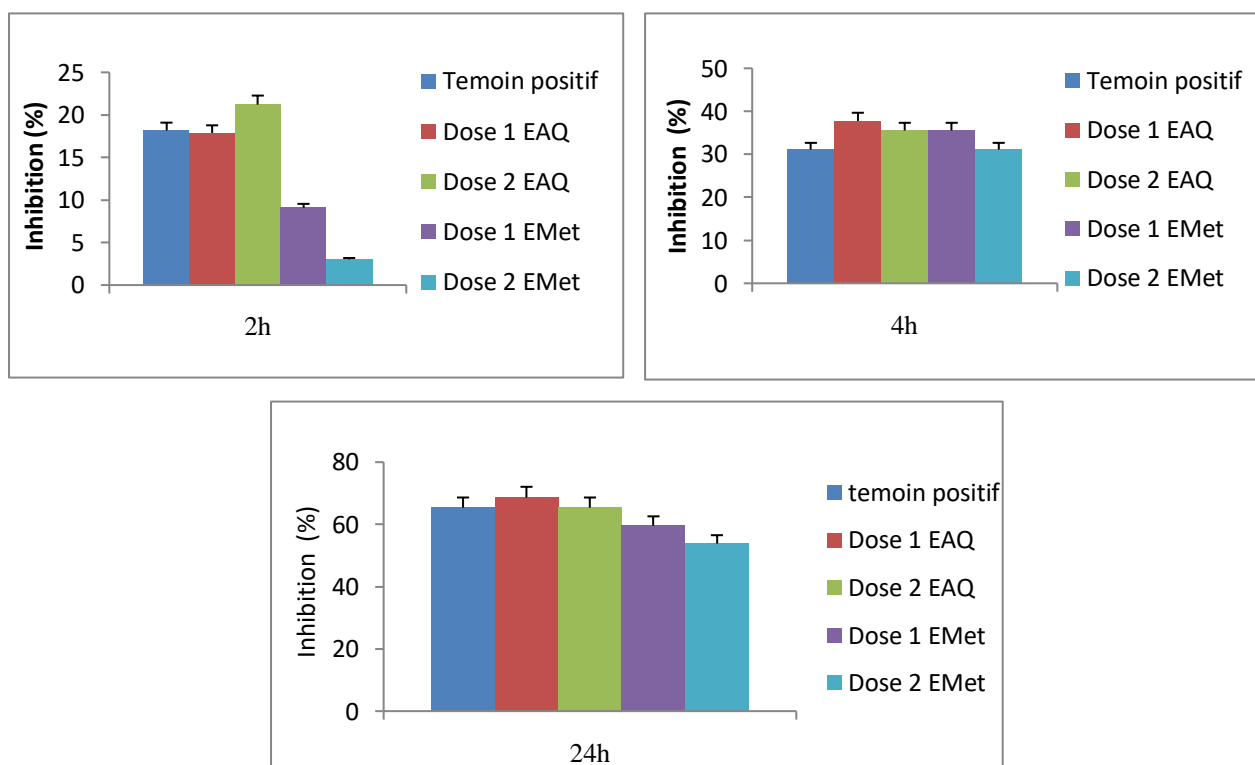


Figure 17. Taux d'inhibition de l'évolution d'œdème de l'oreille des groupes témoins et les groupes traités par les extraits de *R. tuberculata* et l'indométacine en fonction du temps. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($n=5$). **Dose 1** : 100mg/kg ; **Dose 2** : 300mg/kg. **EAQ** : extrait aqueux ; **EMet**: extrait méthanolique.

Nos résultats ont montré que les extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne de *R. tuberculata* réduisent significativement le gonflement inflammatoire induit par la carraghénane au niveau de la patte, leur effet anti-œdémateux était comparable à celui de l'indométacine, notamment l'extrait EMet à sa dose 300mg/k, tout le long de l'expérience. Par contre, l'extrait aqueux semble être le meilleur candidat anti-inflammatoire vis-à-vis le modèle d'œdème de l'oreille. Ces résultats complètent ceux de **Merghacheet al. (2009)** qui ont trouvé que l'extrait à l'éthane de *R. chalepensis* présenté des effets anti-pyrétique et anti-inflammatoire en réduisant l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez les souris.

Il a été rapporté que les activités pharmacologiques des plantes médicinales sont en forte corrélation avec leur contenu en métabolites bioactifs qui sont connus par leur pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire. En effet, le criblage phytochimique mené dans la présente étude et même par plusieurs études antérieures sur les extraits des espèces du genre *Ruta*, en particulier ceux de l'espèce *R. tuberculata*, ont mis en évidence la présence de polyphénols tels que les flavonoïdes. Ces études pharmacologiques ont rapporté également que les effets anti-inflammatoires présentés par ces plantes peuvent être attribués à leurs teneurs en polyphénols tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins...etc.

De nombreuses études réalisées *in vivo* ont montré que les flavonoïdes tels que la quercétine et la rutine, et les quinons aussi, ont exhibé des puissants effets anti-inflammatoires chez les modèles d'inflammation aiguë et chronique à la fois, en inhibant la peroxydation lipidique, l'agrégation plaquettaire et la perméabilité vasculaire (**Fallehet al., 2008 ; Hussain et al., 2016 ; Li et al., 2016**).

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de la présente étude indiquent que le criblage phytochimique qualitatif de les extraits EAQ, EMet, EAc et l'EAcE de *R. tuberculata* a permis de déceler la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires, principalement les coumarines, les tanins, les flavonoïdes, les polyphénols, les alcaloïdes, qui étaient présents en quantité important, tandis que les saponosides et les antraquinons, quinons, les mucilage, présents en quantité modérée. Aussi que l'EAQ présent une importante activité anti-inflammatoire. Cependant, l'EMet présente la meilleure teneur en métabolites secondaires. Le criblage qualitatif de l'activité antiradicalaire contre le radicale (OH) a également été effectué et a révélé des bons résultats dont l'EMet exprime la meilleure activité antioxydante.

Notre étude aussi montre que divers extraits d'espèces de *Ruta* ont un effet important anti-hyperglycémiant en abaissant la glycémie. De plus, l'évaluation de test de tolérance aux différentes concentrations du glucose démonté que les extraits de plante *Ruta tuberculata* ont la capacité de réduire ce dernier, l'EMet ou la dose 2 de l'extrait EMet présente une maximale efficacité dans la deuxième heure après l'induction de l'hyperglycémie.

Dans le but d'évaluer les activités biologiques des plantes, le présent travail s'articule autour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits aqueux "EAQ" et méthanolique EMet de *R. tuberculata* sur le modèle de l'œdème inflammatoire de la patte induit par le carraghénane chez les souris, est utilisé comme un agent anti-inflammatoire de référence. Ce qui révèle que les *R. tuberculata*, possèdent une activité anti-inflammatoire remarquable en comparaison à celle de l'indométacine. L'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire quelle engendrent les extraits aqueux et méthanolique de *R. tuberculata* et révèle que l'extrait méthanolique est plus efficace que l'extrait aqueux de la même plante.

Ces résultats montrent également que cette plante possède un pouvoir pharmacologique du fait de sa teneur en molécules bioactives, notamment en polyphénols et flavonoïdes, qui prouve son utilisation traditionnelle pour l'atténuation de diverses maladies inflammatoire et hyper –glycémique

En perspective, pour poursuivre cette étude, il est souhaitable de :

- ✓ Approfondir mieux les travaux pour mieux recenser l'importance quantitative et qualitative de différents extraits de *R. tuberculata*, en déterminant, caractérisant et identifiant les composés actifs quels contient cette plante.
- ✓ Poursuivre les travaux *in vivo* pour évaluer leurs propriétés antioxydantes et anti-hyperglycémiant.

- ✓ Expliquer le mécanisme d'action des principes actifs purifiés de *R. tuberculata* dans l'amélioration de la physiopathologie de l'hyperglycémie.

Références Bibliographique

Aaref M. et Heded M., 2015 : Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). Université echahidhammalakhdar d'el-oued faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire. 59 pages.

Ahmed MF, Kazim SM, Ghori SS, Mehjabeen SS, Ahmed SR, Ali SM, Ibrahim M. (2010). Antidiabetic Activity of *Vinca rosea* Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *International journal of endocrinology*. 2010: 841090.

Ayad R., 2008 : recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. P35-39, 40, 47.

Atassi MZ, Casali P. (2008). Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity*. 41(2): 123-132.

Avery SV. (2011). Molecular targets of oxidative stress. *Biochemical Journal*. 434(2): 201-210.

Autore G, Caruso A, Marzocco S. (2010). Acetamide derivatives with antioxidant activity and potential anti-inflammatory activity. *Molecules*. 15(3): 2028-2038.

Al-Snafi A. E. 2018. Pharmacological importance of *Haplophyllum* species grown in Iraq- A review. *IOSR Journal Of Pharmacy* 8:54-62.

Al-Rehaily A. J., Alqasoumi S. I., Yusufoglu H. S., Al-Yahya M. A., Demirci B., Tabanca N., Wedge D. E., Demirci F., Bernier U. R., Becnel J. J., Temel H. E. 2014. Chemical Composition and Biological Activity of *Haplophyllum tuberculatum* Juss. Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 17(3):452 - 459.

Bellebcir, L. (2008). Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Thèse de Magister en Biologie appliquée. Université de Mentouri-Constantine 1.

Banerjee R, Gupta S, Dey D, Maiti S, Dhara D. (2014). Synthesis of PEG containing cationic block copolymers and their interaction with human serum albumin. *Reactive and Functional Polymers*. 74: 81-89.

Bernays, E. A., Cooper Driver, G., Bilgener, M. (1989). Herbivores and Plant Tannins. *Advances in Ecological Research*, vol. 19 : 263-302.

Benaissa O., 2011 : Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.

Belkassam A., Zellagui A., Gherraf N., Lahouel M. And Rhouati S. 2011. Essential Oil Composition Of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L. And Its Antibacterial Effects On Microorganisms Responsible For Respiratory Infections. *Advances In Natural And Applied Sciences*. 5(3): 264-268.

Babiker Mahmoud A., Danton O., Kaiser M., Han S., Moreno A., Abd Algaffar S., Khalid S., Oh W. K., Hamburger M., Mäser P. 2020. Lignans, Amides, and Saponins from *Haplophyllum tuberculatum* and Their Antiprotozoal Activity. *Molecules* 25(2825):1-15.

Dominique, G., Zoubida, C. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, pp 509-516.

Conforti F, Menichini F, Loizzo MR, Statti AG, Rapisarda A, Menichini F. (2008). Antioxidant, alpha-amylase inhibitory and brine-shrimp toxicity studies on *Centaurea centaurium* L. methanolic root extract. *Natural Product Research*. 22(16):1457-1466.

Dill KA, Shortle D. (1991). Denatured states of proteins. *Annual review of biochemistry*. 60: 795-825.

Dimkić I, Petrović M, Gavrilović M, Gašić U, Ristivojević P, Stanković S, Janačković P. (2020). New perspectives of purple starthistle (*Centaurea calcitrapa*) leaf extracts: phytochemical analysis, cytotoxicity and antimicrobial activity. *AMB Express*. 10(1): 183.

Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L., 2003: Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80:65-70.

Dacosta E., 2003 : Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.

Djemoui D., 2012 : Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée. 53p.

Daoudi A., Hrouk H., Belaidi R., Slimani I., Ibjibijen J., Nassiri L. 2016. Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal Mater. Environ. Science* 7(3):926-932.

Dupont F. And Guigrard J.L. 2012. Botanique (les familles des plantes). 15ème édition ELSEVIER Masson. Paris.

Eissa T. F., Gonza lez-Burgos E., Carretero M. E., Gomez-Serranillos M. P. 2014. Biological activity of HPLC-characterized ethanol extract from the aerial parts of *Haplophyllum tuberculatum*. *Pharmaceutical Biology* 52(2):151–156.

Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. ,2001 : The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.

François, N. M. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.

Ghasemzadeh S., Mirfakhraie S., Najafzadeh R. 2018. Fumigant toxicity of *Haplophyllum tuberculatum*(Rutaceae) and *Nepeta crispa*(Lamiaceae) on the Indian meal moth. *Julius-Kühn-Archiv* 463:687-695.

Hamdi A., Bero J., Beaufay C., Flamini G., Marzouk Z., Heyden Y. V., Quetin-Leclercq J. 2018 a. In vitro antileishmanial and cytotoxicity activities of essential oils from *Haplophyllum tuberculatum*A. Juss leaves, stems and aerial parts. *BMC Complementary and Alternative Medicine* :1-10.

Hein, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* ,13 : 572-584.

Hesham, R. E., Asmaa, M. A., Shaden, A. M., Göransson, U., Lars, B., Anna-Karin, B. and Verpoorte, R. (2012). Biosynthesis, Natural Sources, Dietary Intake, Pharmacokinetic Properties, and Biological Activities of Hydroxycinnamic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 : 10877–10895.

Harrar, A. N. (2012). Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister en Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas –Sétif.

Hamdi A., Viane J., Mahjoub M. A., Majouli., Gad M. H. H., Kharbach M., Demeyer K., Marzouk Z., Heyden Y. V. 2017a. Polyphenolic contents, antioxidant activities and UPLC–ESI-MS analysis of *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves extracts. *International Journal of Biological Macromolecules* :1-33.

Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M. and Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 : 377-392.

Jacqueline, D. (1978). Les tanins dans les bois tropicaux. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES*, pp : 37-54.

Jones FA. (1996). Herbs--useful plants. Their role in history and today. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 8(12): 1227-1231.

Jayaprakasha, G.K., Patil, B.S., 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food.Chem* ,101pp 410–418.

Jörg, Z., Peter, J. F. (2008). Alkaloid Biosynthesis :Metabolism and Trafficking. Annual Review of Plant Biology, vol. 59:735-769.

Khoddami, A., Meredith, A. W. and Thomas, H. R(2013).Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. Molecules, 18 : 2328-2375.

Krief S., 2003 : Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

Kamalakkannan N., Prince P S M. 2006. Antihyperglycaemic and Antioxidant Effect of Rutin, a Polyphenolic Flavonoid, in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 98(1):97-103.

Ken M. Riedl, StephaneCarando, Helaine M. Alessio, Mark McCarthy, and Ann E. Hagerman.2002.Antioxidant Activity of Tannins and Tannin-Protein Complexes: Assessment In Vitro and In Vivo. American Chemical Society,14 :188–200.

Liu J, Wang J, Lee S, Wen R. (2018). Copper-caused oxidative stress triggers the activation of antioxidant enzymes via ZmMPK3 in maize leaves. PLoS One. 13(9): e0203612.

Malecky M., 2005 : Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.

Mauro N.M., 2006 : Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

Montgomery C.A. 1990. Oncological and toxicological research: Alleviation and control of pain and distress in laboratory animals.

Manga HM, Brkic D, Marie DE, Quetin-Leclercq J. (2004). In vivo anti-inflammatory activity of Alchornea cordifolia (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). J Ethnopharmacol, 92, 209–214.

Mayouf N., Charef N., Saoudi S., Baghiani A., Khennouf S., Arrar L. 2019 . Antioxidant and Anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic. *Journal of Ethnopharmacology*:1-35.

Manga HM, Brkic D, Marie DE, Quetin-Leclercq J. (2004). In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 92:209–214.

Mahmoudi S., Khalim., Mahmoudi N . 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*) .*Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques* 9:35 - 40.

Marrassini C, Peralta I. Anesini C. (2018). Comparative study of the polyphenol content-related anti-inflammatory and antioxidant activities of two *Urera aurantiaca* specimens from different geographical areas. *Chinese Medicine* 13(1): 22.

Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara. 2ème édition. Ed. C.N.R.S. Paris. P : 662.

Pushpan H., Shree R. And Shibani P. 2015. Screening Of Antimicrobial, Antioxidant And Anticancer Activity Of *Rutagraveolens*. *Advances In Biological Research Shetty And Ramesh D.H.* 9 (4): 257-264.

Pushpan H., Shree R. And Shibani P. 2015. Screening Of Antimicrobial, Antioxidant And Anticancer Activity Of *Rutagraveolens*. *Advances In Biological Research Shetty And Ramesh D.H.* 9 (4): 257-264.

Pohl F, Kong Thoo Lin P. (2018). The Potential Use of Plant Natural Products and Plant Extracts with Antioxidant Properties for the Prevention/Treatment of Neurodegenerative Diseases: In Vitro, In Vivo and Clinical Trials. *Molecules*. 23(12): 3283.

Peltzer K, Pengpid S. (2019). The use of herbal medicines among chronic disease patients in Thailand: a cross-sectional survey. *Journal of multidisciplinary healthcare*. 12: 573-582.

Ratheesh M., Helen A. 2007. Anti-inflammatory activity of *Rutagraveolens*Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats. *African Journal of Biotechnology*. 6(10): 1209-1211.

Reid WV, Ali MK, Field CB. (2020). The future of bioenergy. *Global change biology*. 26(1): 274-286.

Relja B, Land WG. (2020). Damage-associated molecular patterns in trauma. *European journal of trauma and emergency surgery*. 46(4): 751-775

Ratheesh M., Shyni G. L., Helen A. 2009. Methanolic extract of *Ruta graveolens* L. inhibits inflammation and oxidative stress in adjuvant induced model of arthritis in rats.

*Inflammopharmacology*17:100-105.

Ratheesh M., Helen A. 2007. Anti-inflammatory activity of *Rutagraveolens* Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats. *African Journal of Biotechnology*. 6(10): 1209-1211.

Said O., Khalil K., Fulder S., Azaizeh H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology* 83:251-265.

Sabater, F. (2012).Détermination d'une dose efficace et d'une dose toxique de tanins condensés dans le contrôle des strongyloses digestives chez les caprins. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Devant l'Université Paul-Sabatier, Toulouse.

Saffidine, K. (2015). Etude analytique et biologiques des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas –Sétif.

Sen T, Samanta SK. (2015). Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*. 147(4): 59-110.

Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines. 10(5): 210-229.

Saad B, Azaizeh H, Said O. (2005). Tradition and perspectives of arab herbal medicine: a review. Evidence-based complementary and alternative medicine. 2(4): 475-479.

Smith-Palmer A., Stewart J., Feyel L., (2001). The potential application of plants essential oils as natural food preservative in soft cheese. Food Microbiology .18 :463- 470.

Sriti J., Mejri H., Bachrouch O., Hammami M., Liman F. 2017. Antioxidant Activity and Chemical Constituents of Essential Oil and Extracts of *Haplophyllum Tuberculatum* from Tunisia. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* 43(5):2373-2381.

Sabry O M., El Sayed A M., Sleem A A. 2016. Potential Anti-Microbial, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities of *Haplophyllum tuberculatum* Growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy & Natural Products* 2(1):1-5.

Schijvens AM, Ter Heine R, de Wildt SN, Schreuder MF. (2019). Pharmacology and pharmacogenetics of prednisone and prednisolone in patients with nephrotic syndrome. *Pediatric nephrology*. 34(3): 389-403.

Verpoorte,R., Alfermann, A.W.(2000). Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Edition El Khtwer Academic Publishers, London, pp : 1-29 ; 128-129.

YezaS., et Bouchama S., 2014: index des métabolites secondaires végétaux, université kasdimerbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

Yusuf Y., 2006 : Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.

Zimmer, N., Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales, Institut National de la Recherche Agronomique*, 9 (3), pp : 167-179.

Zellagui A., Belkassam A., Belaidi A.H. And Gherraf N. 2012. Environmental Impact On The Chemical Composition And Yield Of Essential Oils Of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L And Their Antioxidant And Antibacterial Activities *Advances In Environmental Biology*. 6(10): 2684-2688.

Zhu JS, Halpern GM, Jones K. (1998). The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis*: part I. *Journal of alternative and complementary medicine*. 4(3): 289-303.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات لمستخلصات نبات *Ruta tuberculata* تتناقش هذه الدراسة هدفنا من خلال المختلفة. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار الجذور الحرة (OH^*). استخدام اختبارات مختلفة في الجسم الحي وفي المختبر. أولاً ، أظهرت دراسة النشاط المضاد للالتهابات ومضاد السكر في الدم في الجسم الحي أن مستخلص الروتا المختلف قوة أعلى في تمسخ ثم تعطي مستخلصات *Ruta* (BSA) نشاطاً مؤكسداً. أخيراً ، تظهر نتائج الفحوصات الكيميائية النباتية ثراء هذه الأنواع في الجزيئات النشطة بيولوجياً مثل الفلافونويد

والكينون والعفص والقلويدات عن هذه الأنشطة البيولوجية

الكلمات المفتاحية مضاد الالتهاب، مضاد للاكسدة، فيجل ، المواد الفعالة .

Résumé

L'objectif de cette étude est évaluée l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de différents extraits de plant *Ruta tuberculata*. l'activité antioxydant a été évaluée en utilisant le test de d'anti radicale libre (OH^*). Cette étude discute notre objective par l'utilisation des différents tests in vivo et in vitro. D'abord, l'étude de l'activité anti-inflammatoire et anti-hyperglycémie *in vivo* a montré que le différent extrait de *ruta* présente un pouvoir d'inhibition de dénaturation de (BSA) supérieur. Ensuite, les extraits de *ruta* donnent une activité oxydante. Enfin, Les résultats des criblages phytochimique montrent la richesse de ces espèces en molécules bioactives tel que les flavonoides, quinons, tanins, et les alcaloïdes qui sont le responsable de ces activités biologiques.

Les mots-clé: Antioxydant, anti-hyperglycémie, anti-inflammatoire, genre *Ruta*, métabolites bioactive.

Summary

The aim of this study is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of different *Ruta tuberculata* plant extracts. Antioxidant activity was evaluated using the free radical (OH^*) test. This study discusses our objective by using different in vivo and in vitro tests, plus the antihyperglycemic, the evaluating anti-inflammatory and activity in vivo showed that the different *Ruta* extracts have a superior power to inhibit denaturation of (BSA). Finally, the results of phytochemical screening show the richness of these species in bioactive molecules such as flavonoids, quinons, tannins and alkaloids, which are responsible for these biological activities.

Key words: Antioxidant, antihyperglycemic, anti-inflammatory, genus *Ruta*, bioactive metabolites.