



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 ..... / 2023

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**Leulli Yousra Lammamra Aya**

## **Etude phytochimique et activité antioxydante d'une plante médicinale *Ranunculus macrophyllus* Desf., 1798**

Le: dimanche 25 juin 2023

---

### **Jury :**

M.	Madjed Aggouni	MAA	Université de Biskra	Président
M.	Samir ZEROUAL	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Amirouche Deghima	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022/2023

## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord ALLAH tout puissant qui nous a donné la Santé, le Courage, la volonté et la patience afin de pouvoir accomplir ce modeste Travail. Nos vifs remerciements encadreur, Pr. Zeroual Samir, pour sa Précieuse aide, ses Encouragements et ses conseils, à finir ce travail. On adresse nos sincères remerciements à Mr Deghima Amirouche. Pour Ses conseils. Aussi pour son soutien, son attention .Nous tenons à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer Ce mémoire.*

*Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes (amis, familles, Enseignants...etc.) Qui nous ont bien aidés à la réalisation de ce Mémoire.*



*Dédicace*

*A mes chers parents*

*A mes chères sœurs et mon cher frère*

*A toute la famille*

*A tous mes amis*

*Yusra*

*Dédicace*

*Avant tout, je remercie Dieu, le Miséricordieux de m'avoir donné*

*Courage, la force et la patience pour réaliser ce mémoire.*

*Je dédie ce modeste travail à mon très cher père qui m'a toujours*

*Soutenu et qui a été toujours présent pour moi.*

*A la plus chère au monde, ma mère qui m'a toujours offert ses aides.*

*A ma chère grand-mère*

*Mes chères sœurs Chourouk, Insaf, Hibat Elrahmane et Malak*

*Me chère frère : Rayane*

*Tous mes chers collègues et amis spécialement: Amira Menacer, Ibtissam, Ikram*

*, Amani, Assia, Nawel, Safa, Soumia, Chourouk, Saïd, Nadhira, Omaïma, Noujoud, Ilham*

*, Salma, Amira Meriem.*

*Tous ceux qui ont contribué de près.*

*AYA*

# Table des matières

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures .....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction générale.....	I

## Synthèse bibliographique

### Chapitre 1 : Notions sur le stress oxydatif et antioxydant

1.1. Stress oxydatif .....	2
1.1.1. Définition de stress oxydant .....	2
1.1.1.1. Maladie liée au stress.....	2
1.1.2. Radicaux libre .....	2
1.2. Antioxydant .....	2
1.2.1. Définition des antioxydants .....	2
1.2.2. Classification des antioxydants.....	3
1.2.2.1. Systèmes antioxydant enzymatique.....	3
1.2.2.2. Systèmes antioxydant non enzymatiques .....	3

### Chapitre 2 : Présentation de la plante

2.1. La plante <i>Ranunculus Macrophyllus</i> .....	4
2.1.1. La famille des Ranunculaceae .....	4
2.1.2. Le Genre <i>Ranunculus</i> .....	4
2.1.3. l'espèce <i>Ranunculus Macrophyllus</i> .....	4
2.1.4. Classification .....	5
2.1.5. Usage Traditionnelle et activité biochimique .....	5

### Chapitre 3 : Les métabolites secondaires

3.1. Définition des métabolites secondaires .....	6
3.2. Poly phénols .....	6
3.2.1. Classification des poly phénols .....	6
3.2.1.1. Acides phénoliques .....	6
3.2.1.2. Flavonoïdes .....	6
3.2.1.3. Tanins .....	6
3.3. Alcaloïdes .....	7
3.4. Terpénoïdes .....	7

## Partie Expérimentale

### Chapitre 4 : Matériel et méthodes

4.1. Matériel biologique.....	8
4.1.1. <i>Ranunculus macrophyllus</i> .....	8
4.2. Méthodes .....	8
4.2.1. Extraction et Fractionnement des Extraits .....	8
4.2.1.1. Mode Opérateur .....	8
4.2.1.2. Rendement de l'extraction .....	9
4.2.2. Screening phytochimique préliminaire .....	9
4.2.2.1. Préparation de l'infusé.....	9
4.2.2.2. Criblage des tanins totaux.....	9
4.2.2.3. Criblage des coumarines .....	9
4.2.2.4. Criblage des quinones .....	9
4.2.2.5. Criblage des terpénoïdes .....	10
4.2.2.6. Criblage des composés réducteurs .....	10
4.2.3. Dosage des composés phénolique .....	10
4.2.3.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC) .....	10
4.2.3.2. Teneur en Flavonoïdes Totaux (TFC).....	10
4.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante .....	11
4.2.4.1. Test antiradicalaire (test DPPH) .....	11
4.2.4.2. Test de pouvoir réducteur FRAP .....	12
4.2.4.3. Test de Capacité Antioxydante Totale .....	12

### Chapitre 5 : Résultats et Discussion

5.1. Rendement des extraits.....	13
5.1.1. Rendement d'extraction et de fractionnement .....	13
5.2. Screening phytochimique .....	14
5.3. Dosage des composés phénolique .....	15
5.3.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC).....	15
5.3.2. Teneur en Flavonoïdes Totaux (TFC) .....	17
5.4. Evaluation de l'activité antioxydante .....	18
5.4.1. Test de DPPH.....	18
5.4.2. Test de pouvoir réducteur .....	20
5.4.3. Test de capacité antioxydante totale .....	22

<b>Conclusion.....</b>	<b>25</b>
------------------------	-----------

<b>Références bibliographique</b> .....	<b>25</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>32</b>
<b>Résumés</b>	

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification botanique de l'espèce <i>Ranunculusmacrophyllus</i> Desf.....	5
<b>Tableau 2 :</b> Résultat du screening phytochimique .....	15
<b>Tableau 3 :</b> Pouvoir réducteur de différents extraits.....	21



## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Photographies de <i>Ranunculus macrophyllus</i> Desf.....	5
<b>Figure 2:</b> Protocole D'extraction Hydro-Méthanolique.....	8
<b>Figure 3:</b> Rendement de extrait brut hydro-méthanolique .....	13
<b>Figure 4:</b> Rendement de différents fraction de extrait hydro-méthanolique .....	14
<b>Figure 5 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols .....	16
<b>Figure 6:</b> Teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits .....	16
<b>Figure 7:</b> Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoides .....	17
<b>Figure 8 :</b> Teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits .....	17
<b>Figure 9:</b> Activité antioxydant des extraits exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH. 19	
<b>Figure 10 :</b> Variation d 'IC50 des extraits et les standards .....	20
<b>Figure 11 :</b> pouvoir réducteur de différentes fractions .....	20
<b>Figure 12 :</b> Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	20
<b>Figure 13 :</b> courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test TAC.....	22
<b>Figure 14 :</b> la capacité antioxydant des différentes fractions.....	22

# Liste des abréviations

**BHT** : Butylhydroxytoluène

**BHA** : Butylhydroxyanisole

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**EAG** : équivalent acide gallique

**EAA** : équivalent acide ascorbique

**EC** : équivalent catéchine

**EQ** : équivalent quercétine

**ES** : extrait sec

**FRAP** : ferric reducing antioxydant power

**IC50** : Concentration d'inhibition 50%

**TAC** : Total antioxydant Capacity

# **Introduction générale**

## Introduction

L'utilisation de plantes médicinales pour traiter les maladies est probablement la plus ancienne méthode utilisée (Trevizan *et al.*,2020). Selon de nouvelles statistiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 80 % de la population mondiale utilise des traitements à base de plantes et des traitements traditionnels pour répondre à ses besoins en matière de soins de santé primaires (Hazim,2022)

Le matériel végétal est une source de nombreux composants précieux, tels que les composés phénoliques, qui peuvent piéger les radicaux libres et ainsi réduire le stress oxydatif. les composés phénoliques présentant des propriétés antioxydants comprennent les flavonoïdes, les acides phénoliques, les lignanes et les stilbènes . Les propriétés des composés susmentionnés sont utilisées par les plantes comme mécanisme de défense contre les effets néfastes du rayonnement UV, de la température et des dommages mécaniques. Ils constituent également une défense chimique importante contre les herbivores grâce à leur action physiologique spécifique sur les insectes (Kazlowska *et al.*, 2022).

Le genre *Ranunculus* de la famille des *Ranunculaceae* est représenté dans la flore d'Algérie par 50 espèces. Le genre *Ranunculus* est connu pour produire des flavonoïdes, triterpènes , des saponines et des coumarines .classes de composés sont bien connues pour leurs activités biologiques importantes. Diverses espèces de renoncules sachant que de nombreuses plantes médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle. (Hachlaf *et al.*,2013)

En particulier, *Ranunculus macrophyllus* Desf. est l'une des espèces de renoncules trouvées en Algérie ( Deghima *et al.*,2020), les racines de cette plante sont une source riche de composés phénolique bioactifs, elle sont couramment disponible sur les marchés d'Afrique du nord (Algérie, Maroc et Tunisie ) comme remède contre l'infertilité féminine et pour le gain du poids(Ouarghidi *et al.*,2013).en revanche, les partie vertes (feuilles et tiges),sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés médicinales pour traiter certaines maladies de la peau(Rai *et al.*,2011) et comme aliment traditionnel dans les régions méditerranéennes (Rivera *et al.*, 2006).

L'objectif de ce travail est :

Dans la première partie, une étude qualitative et quantitative des composés phénolique des différents extraits de la plante « *Ranunculus macrophyllus* » par estimation de la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes.

La deuxième partie de ce travail nous sommes intéressés, à l'évaluation de l'activité antioxydants (in vitro) de nos extraits avec trois méthodes.



# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 1 : Notions sur le stress oxydatif et antioxydant**



## **1.1. Stress oxydatif**

### **1.1.1. Définition du stress oxydant**

Tout organisme qui consomme de l'oxygène produit à son tour les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Benslama, 2020). On écrit dans le livre intitulé « Stress oxydatif » en 1985. Le stress oxydatif est comme « une perturbation de l'équilibre peroxydant-antioxydant en favori d'un premier » (Niki, 2016). la génération d'oxydants accablé le système de défenses antioxydants, que ce soit Par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses Antioxydants. Ce déséquilibre peut être dû à une carence alimentaire en antioxydants ou à une exposition environnementale à un oxydant (Smirnoff, 2005).

#### **1.1.1.1. Maladie liée au stress**

Avec l'âge, la personne vulnérable aux maladies causées par le stress oxydatif, car avec l'âge, le stress antioxydant diminue, et la production de radicaux par les mitochondries augmente. Par conséquent, le stress oxydatif est à l'origine de nombreuses maladies et est lié à leur développement, notamment le diabète, les maladies cardiaques, les maladies neurodégénératives et le cancer. Il est également considéré comme la principale cause d'une hausse de la pression artérielle (Mehri, 2021).

### **1.1.2. Radicaux libre**

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes hautement instables qui ont un électron libre dans le champ électronique le plus externe, qui est chargé électriquement. En tournant sur lui-même, il induit un champ magnétique appelé « SPIN » (cette propriété est utilisée en résonance magnétique) (Cerou, 1994)

## **1.2. Antioxydant**

### **1.2.1. Définition des antioxydants**

Antioxydant est un terme lorsqu'une substance est capable pour entrer en compétition avec d'autres substrats pour inhiber leur activité oxydative et cela se fait à faible concentration (Tanohet *al.*, 2019).

Ils ont la capacité de contrecarrer les effets nocifs des radicaux libres dans les tissus, Et cela en empêchant ou en retardant les processus d'oxydation causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Par conséquent, ils sont censés protéger contre le cancer,

l'athérosclérose, les maladies cardiaques et de nombreux autres métabolismes (Chakraborty *et al.*, 2007).

### **1.2.2. Classification des antioxydants**

Les cellules sont équipées de différents systèmes d'antioxydants dans toutes les sections du corps. Que ce soit dans les cellules intérieures, la membrane ou une cellule supplémentaire. Il utilisait dans de nombreuses stratégies pour contrôler le niveau des types d'oxygène interactifs et consommer de nombreuses énergies (Powell, 2000). Dans le système de défense antioxydant de notre organisme, on distingue des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.

#### **1.2.2.1. Le système antioxydant enzymatique**

Dans les cellules se trouvent les principaux systèmes enzymatiques, le super oxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydase (GSH-PX). Aide à protéger contre les radicaux libres produits physiologiquement au cours du métabolisme cellulaire normal (Kehili, 2018).

#### **1.2.2.2. Systèmes antioxydant non enzymatiques**

Système antioxydant non enzymatique: la défense antioxydant est composée de antioxydant non enzymatique endogène et antioxydant exogène.

##### **A. système antioxydant endogène non enzymatique**

Antioxydant endogène qui sont synthétisés par le corps comme:

- la bilirubine.
- L'acide urique.
- Le glutathion réduit (GSH) c'est le principal antioxydant non enzymatique dans toutes les cellules.

##### **B. système antioxydant exogène non enzymatique**

Les antioxydants exogènes présents dans les aliments contribuent également à protéger les cellules contre les radicaux. Les principaux antioxydants alimentaires comprennent la vitamine E (tocophérols et tocotriénols), la vitamine C (acide ascorbique), les caroténoïdes (comme le  $\beta$ -carotène), les flavonoïdes, l'acide alpha-linoléique et plusieurs oligo-minéraux (Scott *et al.*, 2018 ).

# **Chapitre 2 : Présentation de la plante**

## **2.1. La plante *Ranunculus macrophyllus***

### **2.1.1. La famille des Ranunculaceae**

La famille des Ranunculaceae est la plus grande en termes de nombre d'espèces au sein de l'ordre des Ranunculales avec environ 2300 espèces réparties en 62 genres. La famille présente une grande diversité florale incluant une partie des variations florales observées chez les Eudicotylédones. Ainsi, au sein du groupe il est possible de trouver nombreuses variantes, telles que des genres avec des fleurs qui ne présentent pas de pétales à l'état adulte, avec des fleurs à symétrie radiale, ou à symétrie radiale avec des structures nectarifères et des staminodes .... etc. (Moreno, 2019).

### **2.1.2. Le Genre *Ranunculus***

*Ranunculus* est le genre le plus diversifié de la famille des Ranunculaceae, avec plus de 600 espèces que l'on trouve dans le monde entier et en particulier dans les régions tempérées de la méditerranée de nombreuses espèces de ce genre ont une importance économique, que ce soit pour leur valeur horticole (*Ranunculus asiaticus*, *Ranunculus lyallii*, ou pour leur utilisation comme aliment populaire dans les régions méditerranéennes (*Ranunculus repens* et *Ranunculus ficaria*) (Deghima *et al.*, 2020).

Elle constitue une réserve de plantes médicinales traditionnellement utilisées pour le traitement des fièvres intermittentes, des rhumatismes, des hémorragies et des antihelminthiques (Deghima *et al.*, 2021).

### **2.1.3. l'espèce *Ranunculus Macrophyllus***

Appelée aussi « Mouter, الموتر » en Arabe, c'est une plante herbacée annuelle velue avec des poils écartés ou droits et des tiges rampantes ou érigées. Les feuilles du bas sont segmentées, chacune ayant 3 segments lobées et dentées. Les feuilles du haut sont coupées en segments étroits. Les sépales sont velus par la suite repliés (plié vers le bas). Les fleurs sont jaunes sur de longues tiges, solitaires. Les akènes sont velus ou chauves avec le bec incurvé minuscule. Fréquemment retrouvée dans des zones humides telles que des cours d'eau cette espèce fleurit entre le mois d'Avril et Mai (Deghima, 2021).



**Figure 1:** Photographies de *Ranunculus macrophyllus* Desf. a: Parties aériennes en pleine floraison ; b : Racines (Deghima, 2020)

#### 2.1.4. Classification

**Tableau 1:** Classification botanique de l'espèce *Ranunculus macrophyllus* Desf

<b>Régne</b>	<b>Plantae – Plantes</b>
<b>Subclass</b>	Magnoliidae
<b>Order</b>	Ranunculales
<b>Famille</b>	Ranunculaceae
<b>Genre</b>	<i>Ranunculus</i>
<b>Espec</b>	<i>Ranunculus macrophyllus</i> Desf

#### 2.1.5. Usage Traditionnelle et activité biochimique

*Ranunculus macrophyllus* Desf est une plante médicinale comestible à usages multiples dont les parties aériennes sont utilisées pour traiter les troubles inflammatoires de la peau (Deghima *et al.*, 2022), elle est utilisée comme remède contre l'infertilité féminine et pour prendre du poids. D'autre part, les parties vertes (feuilles et tiges) sont traditionnellement utilisées pour traiter certaines maladies de la peau. Dans le régime méditerranéen, elles sont consommées fraîches sous forme de salades ou cuites pour préparer des légumes bouillis ou des soupes (Deghima *et al.*, 2021).

# **Chapitre 3 : Les métabolites secondaires**

### **3.1. Définition des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont essentiels pour la cellule ou l'organisme. Ces molécules sont nombreuses et présentent une extraordinaire diversité structurale. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. Dans un sens général, les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Les métabolites secondaires sont divisés en trois grandes familles chimiques (Badiaga, 2011).

### **3.2. Poly phénols**

Les composés phénoliques sont des composés avec un ou plusieurs cycles aromatiques et un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils sont largement répandus dans le règne végétal, c'est les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes. Plus de 8 000 structures phénoliques actuellement connues, allant de molécules simples telles que les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées telles que les tanins (Dai *et al.*, 2010).

#### **3.2.1. Classification des poly phénols**

##### **3.2.1.1. Acides phénoliques**

On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille: Les dérivés d'acide benzoïque et d'acide cinnamique. L'acide hydrox benzoïque est la base des structures complexes telles que des tanins hydrolysables, l'acide hydrox cinnamique est plus abondant que l'acide hydrox benzoïque, Ils sont principalement composés d'acide coumarique, caféique, férulique et sinapique (Rezaire, 2012).

##### **3.2.1.2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent la plupart des composés phénoliques, il se caractérise par un faible poids moléculaire. En effet, plus de 4000 flavonoïdes responsables de la pigmentation des plantes, comme les xanthocyanopsies donnant la coloration rouge ou bleu ainsi que les chalcones, les aurones et les flavonols qui ont la couleur jaune (Jeb, 2008).

##### **3.2.1.3. Tanins**

Ce sont des substances d'origine végétale non azotée, de structure poly phénolique, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, légèrement soluble dans l'éther, avec gout astringente et ont la propriété commune de tanner la peau en la rendant moins périssable et étanche en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000. Dans les plantes, les tanins existent sous des formes complexes, les tannoïdes ; certains combinés à des sucres dénommés tanosides (Clément, 2009).

### 3.3. Alcaloïdes

On peut simplement définir « un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin avec une structure complexe ». Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique; les alcaloïdes a une activité pharmacologique importante. Plusieurs auteurs soutiennent que ces alcaloïdes proviennent uniquement du règne végétal. Mais avec le temps certains alcaloïdes isolés chez certains animaux .Ainsi, les alcaloïdes sont divisés en trois catégories : les alcaloïdes vrais, les proto- alcaloïdes et les pseudo- alcaloïdes (Badiaga,2011).

### 3.4. Terpénoides

Les terpénoides peuvent être le plus grand groupe connu de métabolites secondaires aux végétaux, ce sont des molécules polygéniques également présentes dans règne animal.

Ce groupe de composés est constitué uniquement des éléments suivants : carbone, hydrogène et oxygène, comportent des huiles essentielles, des résines; des stéroïdes et des polymères comme le caoutchouc (Touafek, 2010).



# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre 4 : Matériel et méthodes**

## 4. Matériel

### 4.1. Matériel biologique

#### 4.1.1. *Ranunculus macrophyllus*

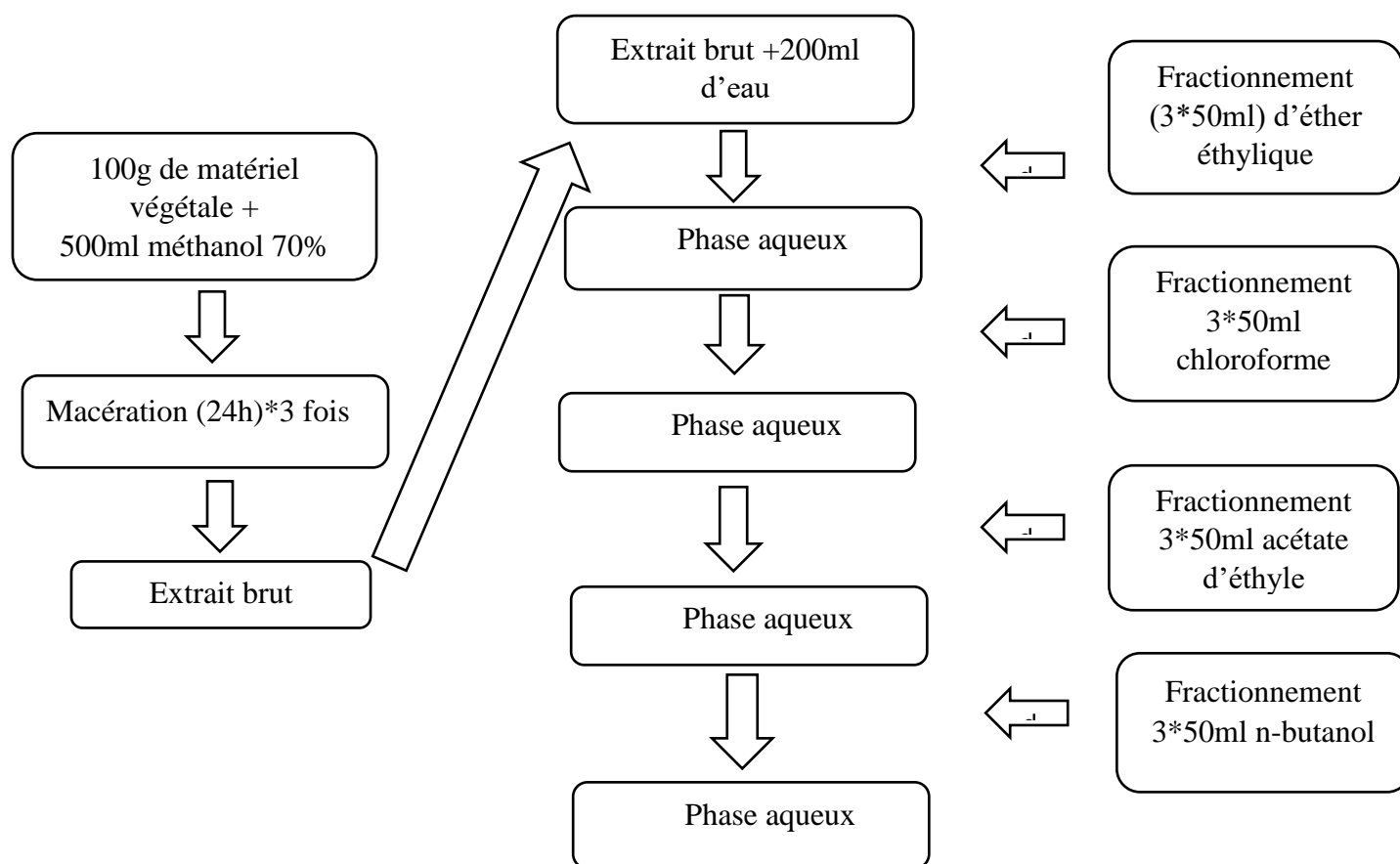
*Ranunculus macrophyllus* Desf., ont été récoltées dans la province de Ras el oued-bordj (Bou Arreridj), au nord-est de l'Algérie, en mai 2020. Ont été bien lavées avec de l'eau milli Q puis séché à l'air pendant un mois et réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

### 4.2. Méthodes

#### 4.2.1. Extraction et Fractionnement des Extraits

##### 4.2.1.1. Mode Opératoire

L'extrait de la partie aérienne de la plante *Ranunculus macrophyllus* Desf., prépare par extraction dans 500ml méthanol 70% .on obtient l'extrait brut qui fractionnent par la suit par des solvants de polarité croissant, tous les fractions passe a évaporateur rotatif a température douce



**Figure 2:** Protocole d'extraction Hydro-Méthanolique(Luz *et al.*, 2011)

#### 4.2.1.2. Rendement de l'extraction

- **Rendement d'extrait brut**

Rendement d'extraction est calculé selon l'équation suivante :

$$R\% = (Me / Mv) * 100$$

**Me** : masse de l'extrait en gramme.

**Mv** : masse de matière végétale en gramme (Boubekri,2014).

- **Rendement des fractions**

$$R\% = (Me / Mb) * 100$$

**Me** : masse de fraction en gramme.

**Mb** : masse d'extrait brut en gramme. (Boubekri,2014).

#### 4.2.1. Screening phytochimique

##### 4.2.1.3. Préparation de l'infusé

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs en les dissolvant dans l'eau bouillante .pour cela, on met 5g de poudre de plante sèche dans 100ml d'eau distillée bouillante. Après infusion pendant 15 min, on a filtré et ajusté le filtrat à 100ml d'eau distillé (Harbone,1998).

##### 4.2.1.4. Criblage des tanins totaux

Ajouter 5 ml de l'infusé à 1 ml de chlorure ferrique (1%), l'apparition de vert ou bleu foncé indique un test positif « la présence de tanins totaux » (Bentabet,2015).

##### 4.2.1.5. Criblage des coumarines

On met 2 ml de l'infusé avec 3 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10%. Agiter la solution et observer l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine (Diallo,2000).

##### 4.2.1.6. Criblage des quinones

Nous ajoutons 2ml d'hydroxyde de sodium à 1 % à l'infusé de 1 ml. Agiter vigoureusement .une apparition rapide ou lente de rouge-orangé indique la présence de quinones (Dohou *et al.*,2003).

#### 4.2.1.7. Criblage des terpénoïdes

Ajouter 5 ml de l'infusé à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et la couleur brune de l'interphase indiquent la présence des terpénoïdes (Khan *et al.*, 2017).

#### 4.2.1.8. Criblage des composés réducteurs

Prélever 1 ml d'infusé dans un tube à essai, ajouter 2 ml de solution de Fehling (1ml de réactif A et 1 ml de réactif B), incuber pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs (Khan *et al.*, 2017).

### 4.2.2. Dosage des composés phénolique

#### 4.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC)

Le contenu phénolique total des fractions a été estimé avec la méthode de Singleton et Rossi (1965).

##### • Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

##### • Mode opératoire

Un mélange de 200  $\mu$ L d'échantillon et 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10% a été incubé pendant 4 min, puis 800  $\mu$ L de carbonate de sodium (7,5%) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé pendant 2 heures et l'absorbance a été lue à 765nm.

Le blanc: 200ul méthanol, 1ml folin et 800ul carbonate de sodium. L'acide gallique a été utilisé comme standard et une courbe d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions.

##### • Expression des résultats

Les concentrations des composés phénoliques totaux ont été exprimés en  $\mu$ g d'équivalent acide gallique /mg d'extrait sec.

#### 4.2.2.2. Teneur en Flavonoïdes Totaux (TFC)

La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée selon la méthode au trichlorure d'aluminium.

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Ali-Rachedi *et al.*,2018)

- **Mode opératoire**

Une quantité de 0,5 ml d'extrait a été mélangée avec le même volume de trichlorure d'aluminium (2%) et incubée pendant 15 min et l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

Le quercétine utilisé comme standard et courbe d'étalonnage été préparé dans les mêmes conditions.

- **Expression des résultats**

Les concentrations des flavonoïdes totaux ont été exprimés en µg d'équivalent en quercétine /mg d'extrait sec.

### 4.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 4.2.3.1. Test antiradicalaire (test DPPH)

- **Principe**

La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre (DPPH) soit par le mécanisme par lequel l'atome d'hydrogène est libéré du groupe hydroxyle, soit en libérant d'un électron. (Afonso, 2016).

- **Mode opératoire**

Un volume de 250 µl d'extrait ou de standard (BHT, BHA) avec un volume de 750 µl de DPPH. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 250µl du méthanol à 750µl de la solution méthanolique de DPPH. Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est à 517nm.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire, exprimé en pourcentage d'inhibition est estimé selon l'équation suivante :

$$Pi\% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle} * 100\%$$

**Pi%** : pourcentage d'inhibition.

**Abs contrôle** : absorbance du contrôle négatif.

**Abs extrait** : absorbance de l'extrait.

#### 4.2.3.2. Test de pouvoir réducteur FRAP

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la mesure de potentiel des extraits à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle. (Benzie et Strain, 1996).

- **Mode opératoire**

On va mélanger 225 µl d'extrait ou standard avec 225 µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et ferricyanure de potassium à 1% puis incubé à bain marie pendant 20 min à une température 50 °C, ensuite 225 µl TCA a été ajouté au mélange puis centrifugés pendant 10 min à 700 TPM/min. puis on enlève 375 µl du surnageant et ajouté 375 µl d'H<sub>2</sub>O distillée et 75 µl de FeCl<sub>3</sub> (0.1%),

L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

Blanc : l'extrait est remplacé par du méthanol.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimées en µg EAA /mg d'extrait par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

#### 4.2.3.3. Test de Capacité Antioxydante Totale

- **Principe**

L'activité antioxydante totale a été effectuée selon la méthode du phosphomolybdène.

Cette méthode est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI) en molybdène Mo(V) par l'extrait (des composés antioxydants) et la formation de complexe vert phosphate / Mo à pH acide. (Lallo et Sahu, 2011).

- **Mode opératoire**

Mélangé 0.1 ml d'extrait avec 1 ml de solution de réactif (3.3 ml d'acide sulfurique avec 96.7 ml d'H<sub>2</sub>O distillé et 4.943 g de molybdate d'ammonium tétrahydraté et 3.359 g de phosphate de sodium), ensuite incubé à 95 °C pendant 90 min. après un repos de 6 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm.

Blanc : l'extrait est remplacé par méthanol.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en nombre d'équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait (Prieto *et al.*,1999).



# **Chapitre 5 :**

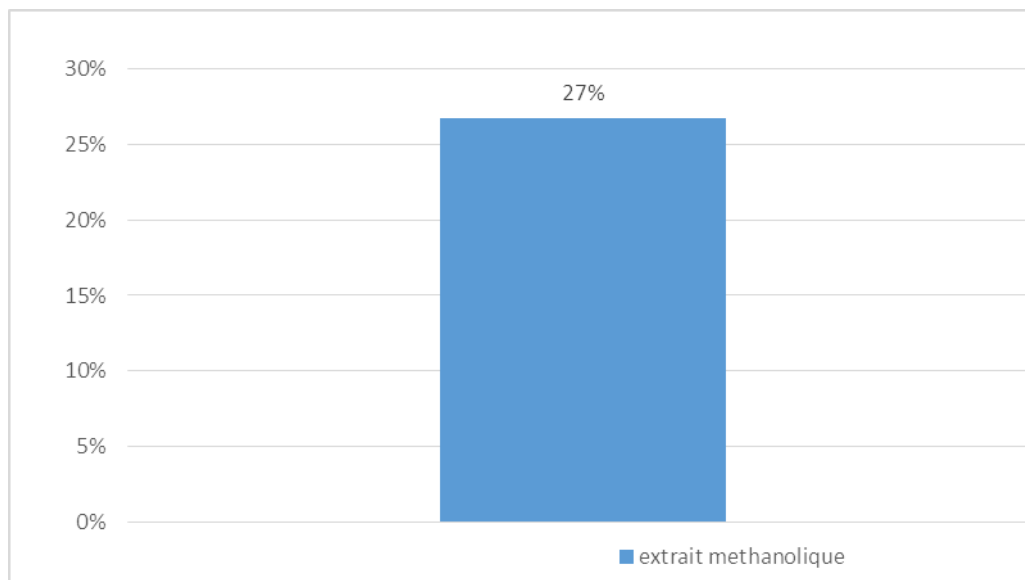
# **Résultats et Discussion**

## 5.1. Rendement des extraits

### 5.1.1. Rendement d'extraction et de fractionnement

- **Rendement d'extraction**

Le rendement donne par extraction hydro-méthanolique de partie aérienne du *R. macrophyllus* Desf est 27 % de poudre initiale de la partie aérienne de la plante, qui représente dans la figure 3.



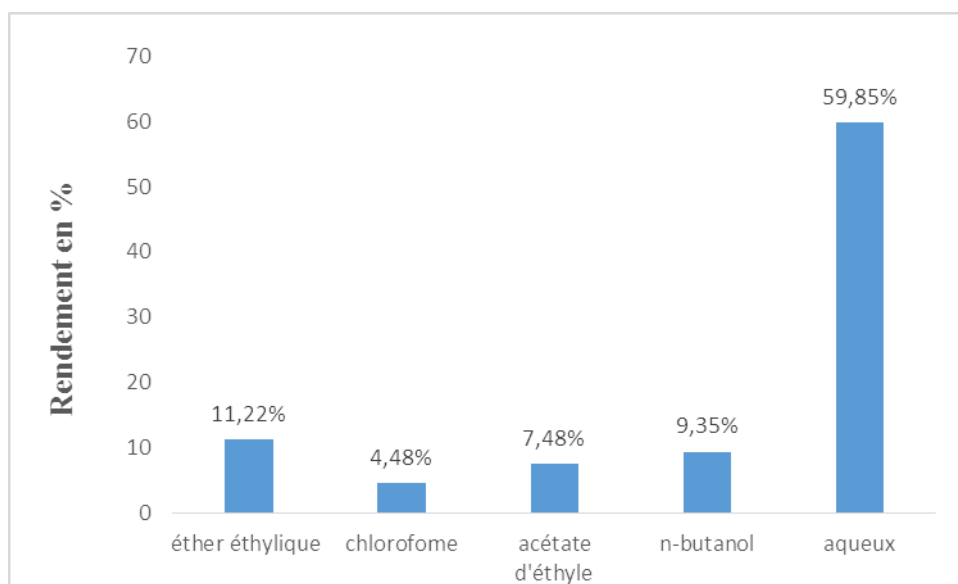
**Figure 3:** Rendement d'extrait brut (Hydro-Méthanolique).

Dans l'étude de Prieto *et al* (2007) sur l'espèce *Ranunculus peltatus* subsp. *baudotti* qui appartient au même genre de la plante étudiée, on a trouvé des résultats inférieurs par rapport à nos résultats (3.7%).

Alors, le rendement d'extraction varie selon l'espèce végétale, le solvant utilisé, l'état de matériel végétal (sèche ou fraîche).

- **Rendement des fractions**

Le rendement des fractions obtenu après le fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique par des solvants à polarité croissante, est présenté dans la figure 4.



**Figure 4:** Rendement de différents fractions d'extrait hydro-méthanolique

L'extrait aqueux représente la fraction la plus importante de l'extrait hydro-méthanolique avec (59.85%), suivie de la fraction éther éthylique avec (11.2%) et la fraction n-butanol avec (9.35%) puis la fraction acétate d'éthyle et Chloroforme ne représentent que (7.48%) et (4.48%).

Prieto *et al* (2007) qui étudie l'espèce *Ranunculus peltatus* subsp. *baudotti* le même genre de la plante étudiée signalé un rendement inférieur pour les fractions n-hexane (4%) et Chloroforme (9%), acétate d'éthyle (4%), n-butanol (5%) et un rendement supérieure pour la fraction aqueuse (78%).

En générale le rendement de fraction varie en fonction de l'espèce végétale leur origine, la variété, la saison de culture, la durée de conservation et la polarité de solvant utilisé.

## 5.2. Screening phytochimique

Ces tests ont été menés pour prouver la présence de certains groupements chimiques, qui peuvent être responsable d'activités biologique étudiées (activités antioxydant), les résultats présentés dans le tableau 2 :

**Tableau 2** : Résultat du screening phytochimique

Les métabolites secondaires	Observation	Résultat
Les tanins	Coloration verdâtre	+
Les coumarines	Couleur jeune	+
Les quinones	Couleur rouge-orangé	+
Les terpénoïdes	La formation de deux phases et la couleur brun de l'interphase	+
Les composés réducteurs	précipité rouge brique	+

(+) : Présence

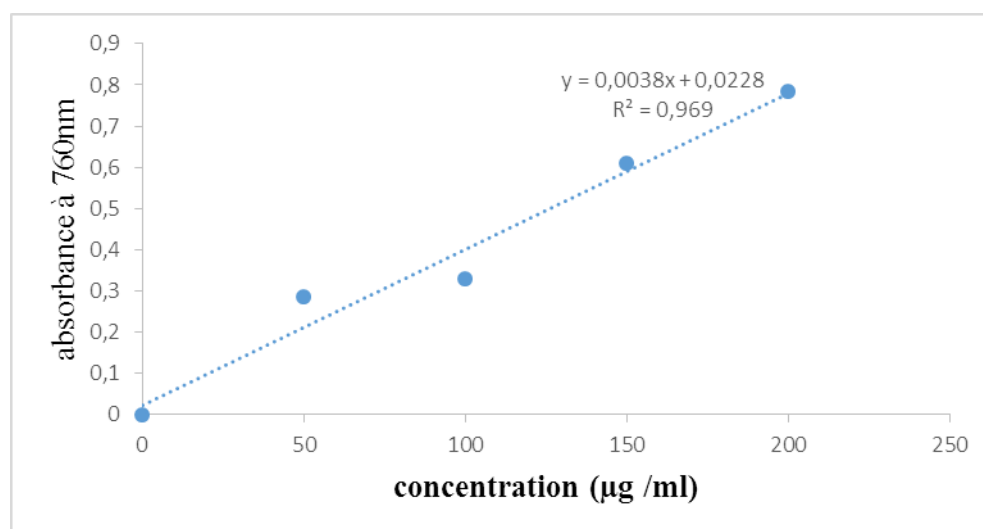
A partir de ces résultats, on conclut que la plante *R. Macrophyllus* est riche en plusieurs familles de métabolites tels que les polyphénols (les tanins, les composés réducteurs, les quinones, les coumarines) et les terpénoïdes.

Mangambu *et al* (2014) a rapporté que la plante *Ranunculus Bullatus* contient plusieurs familles de métabolites parmi lesquelles on retrouve les tanins, les composés réducteurs, les terpénoïdes, et les quinones.

### 5.3. Dosage des composés phénoliques

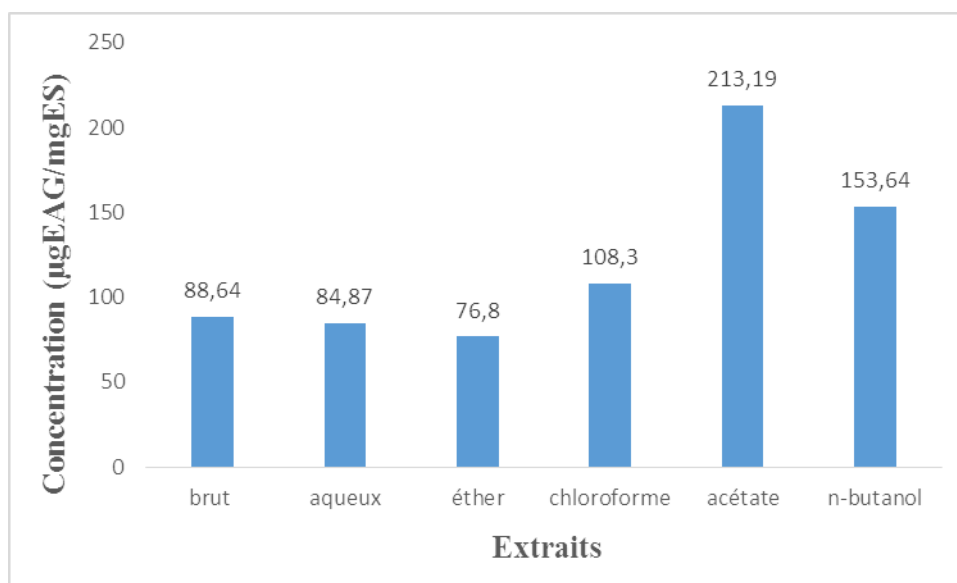
#### 5.3.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC)

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations (figure 5).



**Figure 5 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des différents extraits est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG}/\text{mg ES}$ ).



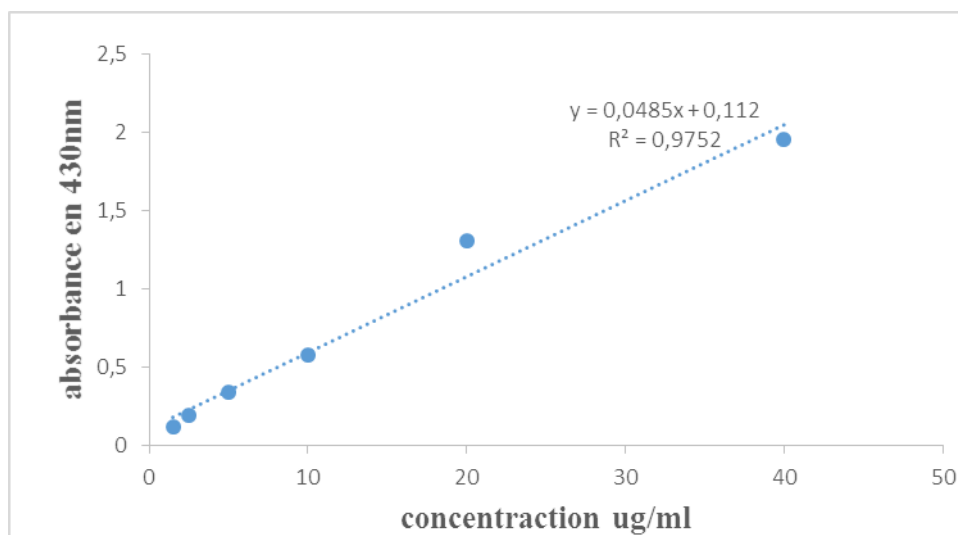
**Figure 6:** Teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits.

A travers nos résultats obtenus (figure 6). La teneur des composants polyphénols des différents extraits varie de  $(76.8 \pm 1.24$  à  $213.19 \pm 10.04)$ . L'extrait de acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en composants phénoliques ( $213.19 \pm 10.04 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ ). En suit n-butanol et chloroforme ( $153.64 \pm 4.23$  et  $108.3 \pm 3.07 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ ). Respectivement. L'extrait brut représente ( $88,64 \pm 6,86 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ ) A la fin la plus faible concentration est trouvée dans les extrait éther éthylique et aqueux ( $76,8 \pm 1,24$  et  $84,87 \pm 11,99 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ ), respectivement. Tandis que Shahid *et al*(2015) qui étudié l'espèce *Ranunculus sceleratus* qui appartient au même genre de la plante étudiée. Ils trouvent des résultats de différentes répartition et différentes quantités (acétate d'éthyle ( $97.1 \pm 1.0$ ) suivi par N-Butanol et chloroforme ( $76.9 \pm 1.0$  et  $73.3 \pm 0.7$ ) respectivement. Enfin la plus faible concentration est trouvée dans d'extrait aqueux ( $64.6 \pm 0.5$ ).

La teneur des composées phénolique varie considérablement selon le type de solvant utilisé, l'espèce végétale et la partie de la plante utilisé (feuilles, tige, fruit, racine), les conditions climatiques et environnementales, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante.

### 5.3.2. Teneur en Flavonoïdes Totaux (TFC)

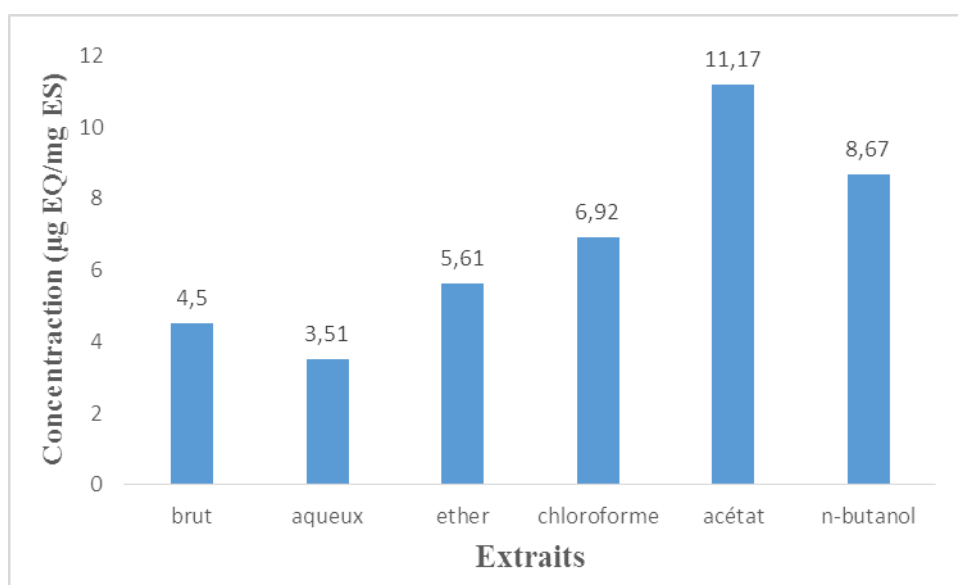
L'étude quantitative des extraits au moyen des dosages spectrophotométriques, selon La méthode de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  avait pour objectif la détermination de la teneur Totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage. A été tracée pour cet objectif, Etablie avec la quercétine (comme standard) à différentes concentration.



**Figure 7:** Droite d'étalonnage de la quercétine .

Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent milligramme de quercétine par gramme d'extrait. et déterminés par L'équation de type :

$$y = 0.0485 x + 0.112.$$



**Figure 8 :** Teneurs en flavonoides des différents extraits .

On peut remarquer, d'après les résultats des flavonoïdes totaux des différents extraits (figure 8).

Que l'extrait Acétate d'éthyle. Est celui qui en contient le taux le plus élevé avec ( $11.17 \pm 0, 1,86$ ). Suivi par n-Butanol et chloroforme ( $8.67 \pm 1,21$  et  $6.92 \pm 1,01 \mu\text{g EQ/mg ES}$ ). Ensuite l'extrait éther éthylique et brut ( $5.61 \pm 0,73$  et  $4.5 \pm 1,86 \mu\text{g EQ/mg ES}$ ). Et enfin l'extrait aqueux ( $3.51 \pm 0,87 \mu\text{g EQ/mg ES}$ ).

Dans l'étude de Gülen *et al*(2008) sur *Ranunculus marginatus* var. *trachycarpus*. L'espace du même genre de la plante étudiée (*R. macrophyllus*), a été trouvé que la teneur du l'extrait Acétate d'éthyle est ( $0.155 \pm 0.01 \mu\text{g RE/mg}$ ) et l'extrait aqueux qui trouvés ( $0.405 \pm 0.05 \mu\text{g RE/mg}$ ) .nettement inférieure par rapport aux valeurs rapportés par aux résultats trouvés.

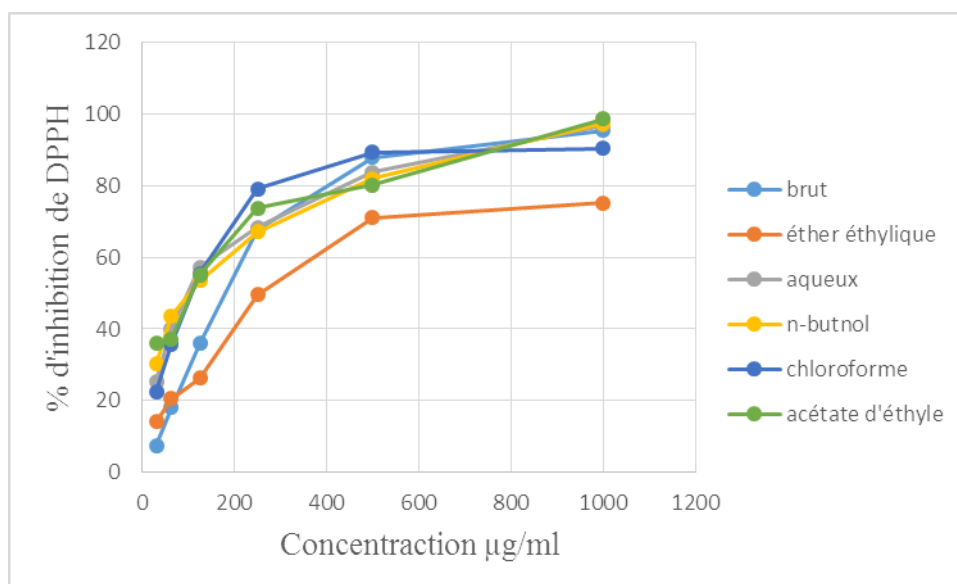
La teneur des composées flavonoïque différents considérablement selon l'espèce végétale, la partie de la plante utilisée (tiges, racines, feuilles et fruit), le type de solvant utilisé et la protocole pour l'extraction (Teugwa *et al.*, 2013).

#### **5.4. Evaluation de l'activité antioxydante**

##### **5.4.1. Test de DPPH**

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte Durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses Concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti – radicalaires des Extraits végétaux (Prieto *et al.*, 1999).

Les résultats d'activité anti radicalaire des différentes fractions de *R. macrophyllus* Desf (figure 9).



**Figure 9:** Activité antioxydante des extraits exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH

Les courbes d'étalonnage de BHT et BHA de l'activité anti radicalaire de DPPH sont présentées dans les figures (1) et (2) (voire l'annexe 1).

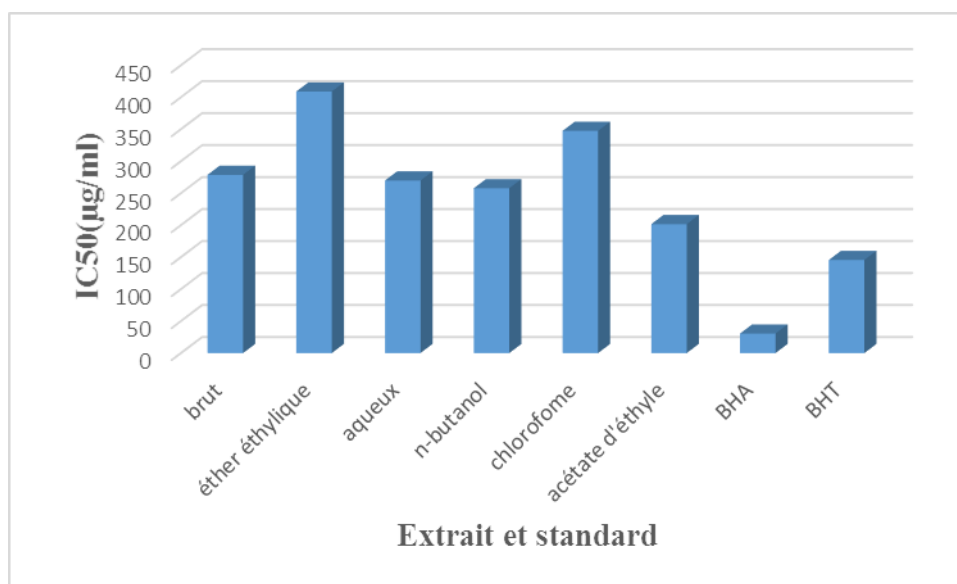
Le pourcentage d'inhibition de DPPH de BHA et BHT sont (94,2 % et 89,48 %) le plus haut inhibiteur de l'oxydation a été atteint par l'extrait acétate d'éthyle (98,7%) et a été suivi par n-butanol (97,54%) , l'extrait aqueux (96,92 %) ,l'extrait brut (95,43 % ), Chloroforme (90,4% ) et à la fin éther éthylique(75,14%).

- **Détermination d'IC<sub>50</sub>**

Par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (Abdulmajed *et al.*, 2005; Ranga *et al.*, 2009; Ahmad *et al.*, 2012 ), il définit la concentration efficace du substrat qui Cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH.

L'activité anti radicalaire de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub> déterminée graphiquement (figure 10).





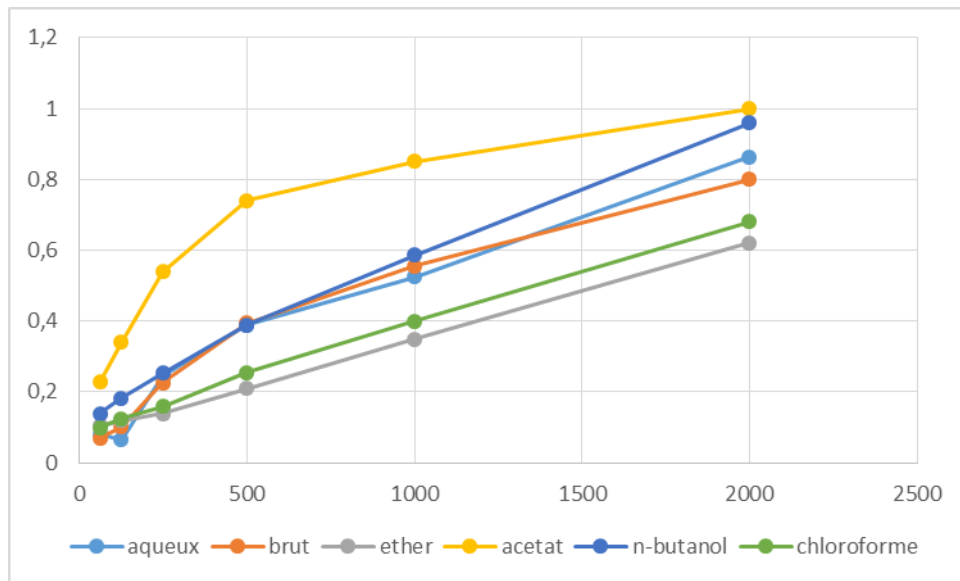
**Figure 10** : Variation d'IC50 des extraits et les standards

L'activité la plus élevée est présentée par l'extrait acétate d'éthyle avec IC50 la plus petite ( $201,57 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ ), suivi par l'extrait n-butanolique ( $257,62 \pm 0,52 \mu\text{g/ml}$ ). Ensuite l'extrait aqueux, brut et Chloroforme ( $269,78 \pm 0,06$  et  $278,61 \pm 0,23$  et  $347,42 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$ ). respectivement, l'activité la plus faible est de l'extrait éther éthylique ( $408,87 \pm 0,8 \mu\text{g/ml}$ ).

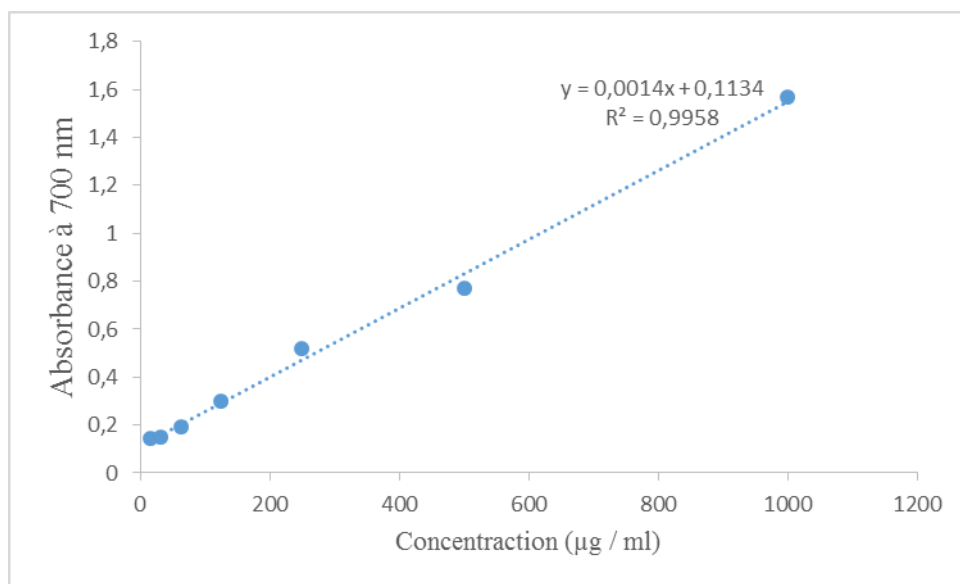
Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Khan *et al* (2017) qui ont trouvé l'IC50 du même genre de la plante étudiée avec la fraction acétate d'éthyle et l'extrait brut ( $71,33 \mu\text{g}$  et  $75,25 \mu\text{g}$ ) respectivement c'est-à-dire possèdent des faibles activités anti-radicalaires par rapport aux résultats trouvés.

#### 5.4.2 Test de pouvoir réducteur

L'un des mécanismes d'action des polyphénols est le don d'hydrogène ou d'électrons, cette capacité a été estimée pour nos fractions à l'aide du test du pouvoir réducteur (figure 10).



**Figure 11** : pouvoir réducteur de différentes fractions.



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Les résultats obtenus dans le tableau (3) montrent le pouvoir réducteur de chaque extrait. Les résultats du pouvoir réducteur et exprimé en µg EAA/2mg d'extrait.

**Tableau 3 :** Pouvoir réducteur de différents extraits

Extrait	$\mu\text{g EAA}/2 \text{ mg d'extrait}$
Ether éthylique	116,85
Chloroforme	168,28
Acétate d'éthyle	346,56
n-butanol	260,42
Brut	173,28
Aqueux	186,14

D'après nos résultats, le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'extrait acétate d'éthyle ( $346.56 \pm 0.06$ ), suivi par le l'extrait n-butanolique ( $260.42 \pm 0.03$ ) ensuite l'extrait aqueux et brut ( $186.14 \pm 0.02$  et  $173.28 \pm 0.04$ ) .respectivement, le pouvoir réducteur faible a été obtenu par l'extrait Chloroformique et éther éthylique ( $168.28 \pm 0.01$  et  $116.85 \pm 0.08$ ) respectivement .

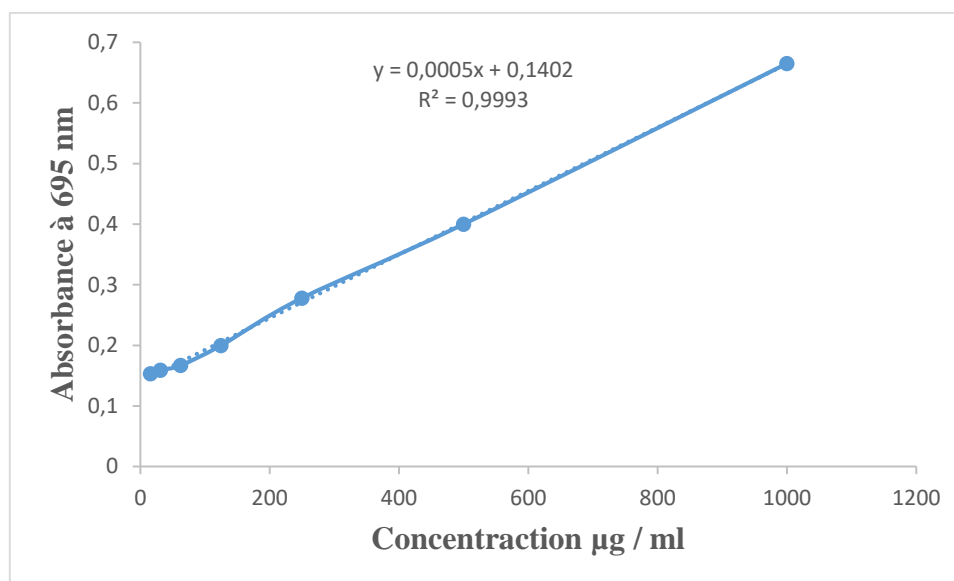
Nos résultats pas pareils avec les résultats de Deghima (2021) sur la même espèce qui a été trouvée. Une activité plus élevée par l'extrait Acétate d'éthyle. Ensuite l'extrait chloroforme. Enfin l'extrait N-Butanol et aqueux qui détermine faible activité.

Cette différence de résultats est due à la partie de plante utilise et le solvant utilise pour l'extraction.

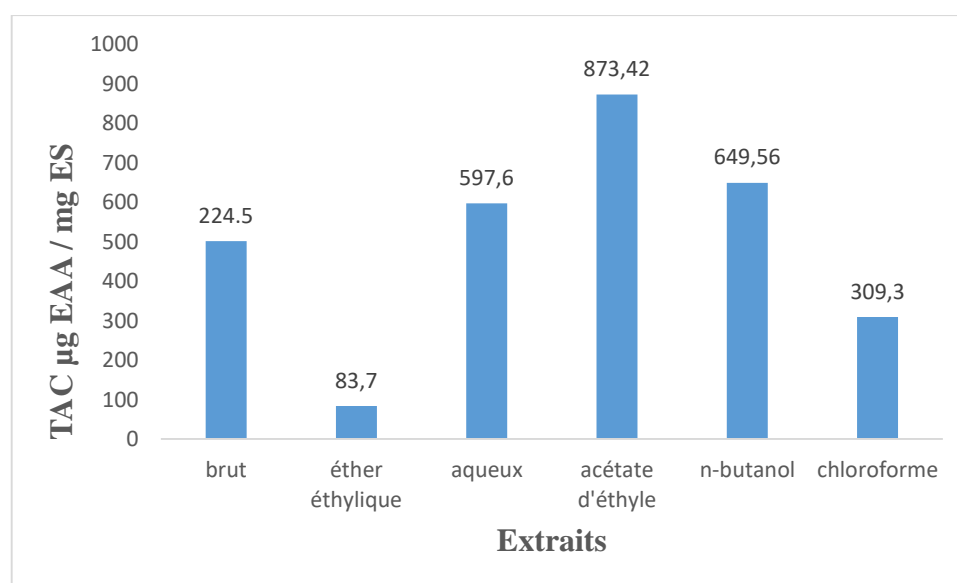
#### **5.4.3. Test de capacité antioxydant totale**

La Capacité antioxydant totale a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage l'acide Ascorbiques à différentes concentrations

Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent acide Ascorbiques par mg d'extrait.



**Figure 13** : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test TAC.



**Figure 14** : la capacité antioxydante des différentes fractions.

L'extrait acétate d'éthyle ont la capacité antioxydante la plus élevée avec une valeur de  $873.42 \pm 0.03$  µg EAA/mg d'extrait, suivie par les extraits n-butanol et aqueux ( $649.56 \pm 0.04$  µg EAA/mg d'extrait et  $597.6 \pm 0.02$  µg EAA/mg d'extrait), la capacité antioxydante la plus faible trouve chez l'extrait brut et éther éthylique ( $224.5 \pm 0.01$  et  $83.7 \pm 0.06$  µg EAA/mg d'extrait).

Tandis que les résultats de l'étude menée par Singla et Pradhan (2019) sur les feuilles de l'espèce *R. muricatus*, inférieur que nos résultats qui ont été trouvés pour l'extrait méthanolique une activité égale de ( $6.30 \pm 0.19$ ).

# **Conclusion**

## Conclusion

Ce travail nous a permis de déterminer les composants secondaires de la partie aérienne de l'espèce *Ranunculus macrophyllus* Desf et l'évaluation de leur activité antioxydante.

Les teneurs en composés phénolique totaux de *R. macrophyllus* varie selon le solvant d'extraction l'extrait aqueux montrent un rendement élevée par rapport les autres extrait (brut, acétate d'éthyle, Chloroforme, éther éthylique, n-butanol).

L'extrait acétate d'éthyle présente une capacité antioxydant supérieur à celui des extrait aqueuse, n-butanolique, éther éthylique, brut, Chloroformique.

Enfin, cette étude n'est que préliminaire et mérite d'être complétée par d'autres travaux ayant pour objectif de :

L'effet des maladies qui peut affecter la plante et la saison de récolte, la conservation sur le teneur des composés secondaires.

# **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques

- Abdulmajed K., Guigan C., Heard C. M. 2005. Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic* 39: 491-498.
- Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. 2012. DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.) *Toxicol*, 5p.
- Ali-Rachedi F., meraghni S., touaibia N., sabrina m. 2018., analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *scabiosa atropurpurea sub.maritima* L. *bulletin de la société royale des sciences de liège*, 87 :13-21p
- Afonso C., Candeias N.R., Simao D.P., Trindade A.F., Coelho J.A.S., Tan F.R. 2016. *Comprehensive organic chemistry experiments for the laboratory classroom*. Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry.
- Badiaga M. 2011. Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de *nauclea latifolia* smith. Thèse doctorat. Université de Bamako, 56p.
- Benslama A. 2020. Étude phytochimique et activités antioxydant et hépatoprotectrice des extraits de *thymus pallidus*. thèse de doctorat, université Ferhat Abbas Sétif 1, p3.
- Benzie I.F., Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry* 239:70-76.
- Bentabet L.N. 2015. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *fredolia aretioides* et *echium vulgare* de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, université aboubeker belkaid Tlemcen (Algérie), 113p
- Boubkri C. 2014. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum Melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, Université Mohamed Khider-Biskra, Alger, 158p
- Chakraborty C., Ray P.K., Ghatak., Bandyopadhyay A.K. 2007. Phenolic Content and Antioxidant Properties of Herbal Sandesh. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7:30.
- Cerou, S. 1994. Radicaux libre et Pathologie Humaine Actyalisation et Perspectives D'avenir. limoges, Pharmacie 5 :3.



- Clément O.E., Louis.2009.Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydants de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines.Thèse de doctorat. Université D'OuagadougouUnité de Formation et de Recherche Sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT).
- Dai J., Russell J., Mumper. 2010.Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties.Molecules, 7314\_735
- Deghima A., Righi N., Rosales-Conrado N.,Leon-Gonzalez M.E., Esther G .,Ianda Madrid F.,Baali,Fbedjou.2020.BioactivepolyphenolsfromRanunculusmacrophyllusDesf.Roots: Quantification, Identification and antioxidants activity.Elsevier B.V All rights reserved 132 : 1\_11
- Deghima A, Righi N, Daud I, Ansrina D, Astiasaran I, Bedjou F.2022.Fatty acid composition acute toxicity and anti-inflammatory activity of the n-hexane extract from ranunculus macrophyllus desf roots .148:315-325.
- Deghima A, Righi N., Conrado N .R .,León-González M.E.,Baali F.,Esther Gómez-Mejia, Yolanda M., Bedjou F .2020. Valorisation of the Green Waste Parts from Large-Leaved Buttercup (*Ranunculus macrophyllus* Desf.): Phenolic Profile and Health Promoting Effects Study. Waste and Biomass Valorization p.2.
- Deghima A, Righi N, Conrado N .R, León-González M. E, Baali F, Esther Gómez-Mejia, Yolanda Madrid, Bedjou F.2021.anti-inflammatory activiy of ethyl acetate and n-butanol extracts from *Ranunculus macrophyllus* desf and their phenolic profile.ethnopharmacology 265:p2.
- Deghima A, Ansorena D, Calvo M. I, Astiasaran I, Bedjou F.2021. Nutritional constituents and effect of in vitro digestion on polyphenols and antioxidant activity of the large-leaved buttercup (*Ranunculus macrophyllus* Desf.). Food Bioscience 34:2.
- Dghima A.2021. Étude de la composition chimique et des activités biologiques d'une plante Algérienne *Ranunculus macrophyllus*Desf. Thèse de doctorat, Université A.mira-Bejaia,p49
- Diallo D.2000.ethnopharmacological survey of medicinal plants in mali and phytochemical study of four of them *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae) , *Diospyros*

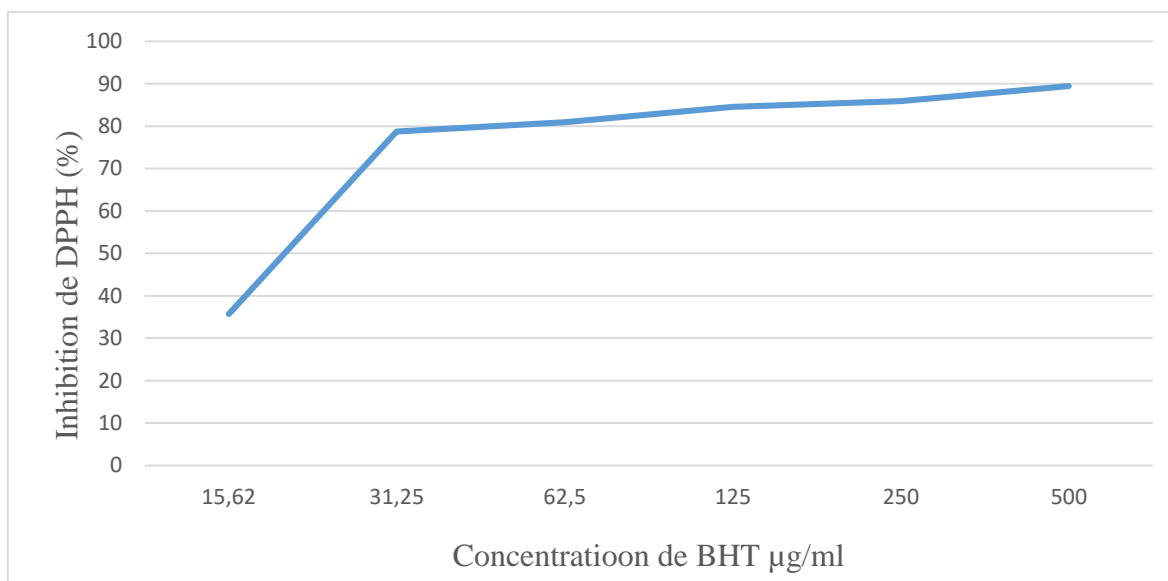
- abyssinica (Ebenaceae), Entada africana. doctoral dissertation, Université de Lausanne, Suisse, 148-176
- Dohou N., Yammi K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N. 2003. Phytochemical screening of an Ibero-moroccan endemic. journal de bulletin de la société de pharmacie de bodeaux, 142 : 61-78
  - Gülen İ. K., Nehir Ü. S., Sibel K., H. Tansel Y., N. Ü. Y., Buket S. et Mustafa A. Ö. 2008. Antioxidant and antibacterial activities of *Ranunculus marginatus* var. *trachycarpus* and *R. sprunerianus*. Turkish Journal of Biology. 34: 139-146
  - Hachelaf, A., Zellagui, A., Toui, A. 2013. «Chemical composition and analysis of antifungal properties of *Ranunculus arvensis* L.» Pharmacophore 4 : 89-91
  - Harbone, J.B. 1998. phytochemical methods: a guide to modern techniques of plants analysis. 3: 203-214p
  - Hazim H, Ibijbijen J, Nassri L. 2022. Plantes Mixture Approach: Effect of Extraction Methods on Polyphenolic Content of Some Medicinal Plants Used against Oral Disorder. Arabia journal of Medicinal & Aromatic Plants, 2p.
  - Jeb I. 2008. Etude de l'effet de F irradiation sur les polyphénols du curcumin . Diplôme National d'Ingénieur. Université du 7 novembre à Carthage.
  - Juan T., Emilio S., Felipe P., Luis B., Parra C. 2020. Antioxidant activity of nine medicinal plants with commercial potential. Idesia, 1p.
  - Khan, M. Z., Jan, S., Khan, F. U., Noor, W., Khan, Y. M., Shah, A., Chaudhary, M. I., Ali, F., Khan, K., Ullah, W., & Sabil, N. 2017. Phytochemical screening and biological Activities of *Ranunculus arvensis*. International Journal of Biosciences, 11(1), 15–21.
  - Lallo D., Sahu N. 2011. antioxidant activities of three indian commercially available nagakesar. journal of chemical and pharmaceutical research, 3(1): 277-283.
  - Lu ZM., Gong JS., He Z., Xu HY., Dou WF., Shi JS. 2011. Optimization of extraction of total triterpenoids from submergedly cultured *Anthodia camphorata* using response surface methodology. Nat Prod Res Dev. 23: 946-51.
  - Mariola K., Iwona S., Jaroslaw L., Agnieszka E., Majewska E., Katarzyna T. J. Malajowicz and Malgorzata Z. 2022. Antioxidants and Antibacterial Activity from selected plants material. Applied science 9871, 12: 2\_20.

- Mehri, Agouazi Ounissa épouse.2021.Etude phytochimique et évaluation de l'activité.Faculté des Sciences biologiques et Sciences Agronomiques,Thèse doctorat , Université Mouloud Mammer,45p.
- Moreno F. E.2019.Etude sur l'origine et l'évolution des variations florales chez *Delphinium* L.(Ranunculaceae) à travers la morphologie, l'anatomie et la tératologie . Thèse de doctorat. Université Paris-Saclay.
- Kehili N.2018.L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium.Biologie: université badji-mokhtar-Annaba, 7p
- Niki E.2016.Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress?Science Direct, 2
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M. 1999. Spectrophotometric quantitation of Antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.
- Rezaire A. 2012. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa).Thèse doctorat. Université des Antilles et de la Guyane .
- Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J. 2009.New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.)17 : 5170-5175.
- Scott K., Pawers., Kurt J., Sollanek. 2018.Exercice D'endurance et apport supplémentaire en antioxydants : est-ce sensé ou Absurde?-partie1.Gatorade sports science institute.
- Shahid, S., Riaz, T., & Asghar, M. N. 2015 . Screening of *Ranunculus sceleratus* for enzyme Inhibition, antibacterial and antioxidant activities. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 10, 436–442).
- Single R., Pradhan S.K.2019.antioxydant potential of some common weeds of agriculture fields of Punjab plains, *journal of pharmacognosy and phytochemistry*,8(2),p06-09.
- Singleton V. L., Rossi J .A.1965.colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture* 16,144-158.

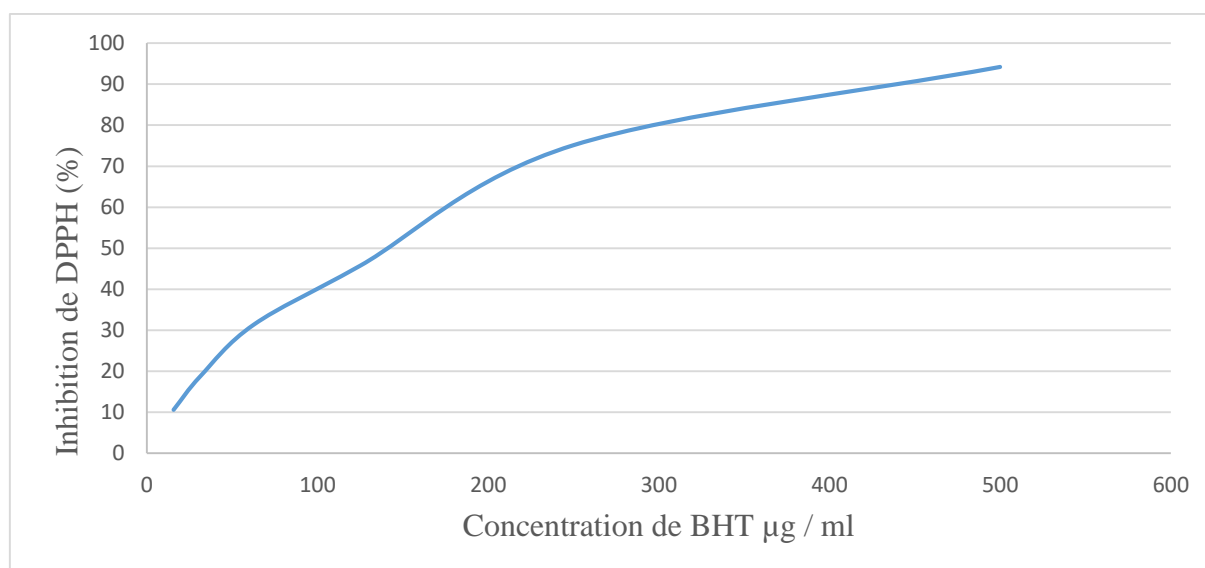
- Smirnoff N., (2005). Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants; Ed BLACKWELL. P: 141-210.
- SR, Powell.2000. The antioxidant properties of zinc. J Nutr,2p
- Tanoh S ., Chantal C ., David B., Jana T., Békro Y .2019. «Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales.» Nature et Technologie, p28.
- Teugwa M., Sonfack D., Fokom R., Penlap B., Amvam Z. 2013. Antifungal and
- Antioxidant activity of crude extracts of three medicinal plants from Cameroon Pharmacopeia. Journal of Medicinal Plants Research 7(21) : 1537-154
- Touafek O .2010. «Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens.» thèse doctorat. constantine: Université mentouri-constantine.

# **Annexes**

## Annexe 1



**Figure 1 :** courbe d'étalonnage de l'activité anti radicalaire (DPPH) de BHA.



**Figure 2 :** courbe d'étalonnage de l'activité anti radicalaire (DPPH) d

## المخلص :

الهدف من هذه الدراسات هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمستخلصات من الأجزاء الهوائية من *Ranunculus macrophyllus* المستخدمة في الطب التقليدي ...

في الجزء الأول, كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود جميع التركيبات التي درسناها. تم تحديد البوليفينول و الفلافونويد في الجزء الثاني, تم إجراء دراسة من الناحية الأولى على النشاط المضاد للأكسدة من خلال 3 إختبارات (DPPH, FARP, TAC) حيث أعطى Acétated'ethyle أعلى نشاط.

في الختام يحتوي مستخلص acétated'èthyle نشاط ممتاز مضاد للأكسدة مقارنة بالمستخلصات الأخرى

الكلمات المفتاحية: بوليفينول, فلافونويد, مضاد الأكسدة. *Ranunculus macrophyllus*.

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro de différents extraits des parties aérienne de *Ranunculus macrophyllus* utilisée en médecine traditionnelle. Dans la première partie. Screening phytochimique a révélé la présence de tous compositions que nous avons étudiées. dosage des polyphénols, des flavonoïdes. Dans la deuxième partie, Une étude a été faite d'un part sur l'activité antioxydante par 3 tests (DPPH, FARP et TAC), dont l'extrait (acétated'èthyle) a donné l'activité la plus élevé. En conclusion, l'extrait (acétated'èthyle) de *Ranunculus macrophyllus* possède une excellente activité antioxydante par rapport aux autres extraits.

Mot clés: *Ranunculus macrophyllus*, polyphénols, flavonoïdes, antioxydants

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity in vitro and extract so fthearine parts of *Ranunculus macrophyllus* use din traditional medicine .In the first part. Phytochemical screening revealed the presence of all compositions that we studied. In the second part a study was made on the antioxidant activity by 3 tests (DPPH ,FARP and TAC),

Whose extract (acetate d'èthyle) gave the highest activity .In conclusion, *Ranunculus macrophyllus* extract ( acétated'èthyle) has excellent antioxidant activity compared to other extracts.

Keywords: *Ranunculus macrophyllus*, polyphenols, flavonoid, antioxidants

