



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية.

Département des Sciences biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Toxicologie

Intitulé

**Etude de quelques activités biologiques des
extraits de *peganum harmala L***

Présenté par : Imad Bendjemel

Said Bacha

Soutenu le : 15/09/2021

Devant le jury :

Présidente : M^{me}.Benradia Hamida

Encadrant: Mr.Diafat Abdelouahab

Examineur : Mr.Mezdour Hichem

Co-Encadrour : Mr. Bahloul Ahmed

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout-puissant, le miséricordieux, pour m'avoir donnée la force, la patience et le pouvoir de raisonner.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promoteur monsieur **DIAFAT Abdelouahab** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide et ses encouragements, ses précieux conseils.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à madame **Benradia Hamida**, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Nous adressons un grand merci à monsieur **Mezdour Hichem** pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant à examiner ce mémoire.

Nos profonds remerciements s'adressent également à la doctorante **DEHIRI Mounira** pour son aide et ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je remercie également toute l'équipe de labo pédagogique de l'université de Bordj Bou Arréridj.



Je dédie ce modeste travail à mes chers parents ma source de générosité et de patience tout au long de ma carrière scolaire. Que Dieu vous protège, vous prête bonne santé et longue vie.

Je tiens à présenter mes reconnaissances et mes remerciements à ma femme qui n'ont jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études et avoir une bonne formation et surtout être le meilleur et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes grâces.

Je voudrais remercier mes enfants, Takwa et Iyad qui sont ma source d'inspiration et mon plus grand soutien, mes sœurs pour la tendresse et d'amour infini pour leur soutien moral et leur encouragement.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont apporté une aide pour la réalisation de ce travail de recherche.

BACHA Said



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

À mes chères sœurs « Ilhem, Ibtessem, Nakhla » pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral, A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

À mes chers amis, pour leur appui et leur encouragement, Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Imad Bendjemel

Sommaire

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction3

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1.Généralité sur le *Peganum harmala* L.....2

1.1.Représentation de la plante.....2

1.2.Classification botanique.....2

1.3.La composition chimique.....3

1.3.1. Les alcaloïdes.....3

1.3.2. Les composés phénoliques.....4

1.4. Utilisation traditionnelle du *Peganum harmala*L.....5

1.5. Activités pharmacologiques du *Peganum harmala* L5

1.5.1. Activité antioxydante.....5

1.5.2.Activité antibactérienne.....5

1.5.3. L'effet anti-inflammatoire.....6

1.5.4.Effet cardiovasculaire.....6

1.5.5. Effet antidiabétique.....6

1.6.Les formes de toxicité par le *Peganum harmala* L.....6

1.6.1. Toxicité chez l'animal.....6

1.6.2. Toxicité chez l'homme.....7

1.6.3. Manifestation toxique dans l'organisme.....7

2.Activité anti-inflammatoire.....7

2.1. Définition de l'inflammation.....7

2.2. Les anti-inflammatoires.....8

2.2.1. Anti-inflammatoires conventionnels.....8

2.2.2. Anti-inflammatoires traditionnels.....	9
3. Activité antioxydante.....	9
3.1. Stress oxydatif.....	9
3.1.1. Stress oxydant.....	9
3.1.2. Les radicaux libres	9
3.2. Les antioxydants.....	10
3.2.1. Définition	10
3.2.2. Classification des antioxydants.....	10

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Matériels.....	12
1.1. La plante <i>Peganum harmala</i> L.....	12
1.2. Produits.....	12
2. Méthodes.....	13
2.1. Extraction des composées phénoliques.....	13
2.1.1. L'extrait hydro-méthanolique.....	13
2.1.2. L'extrait aqueux.....	13
2.2. Dosage des composées phénoliques.....	13
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	13
2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	14
2.3. Activités biologiques de la plante.....	14
2.3.1. L'activité antioxydante.....	14
2.3.1.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH.....	14
2.3.1.2. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC).....	15
2.3.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	17

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Résultats.....	18
1.1. Rendement d'extraction.....	18
1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes.....	18
1.2.1. Teneur en polyphénols.....	18
1.1.2. Teneur en flavonoïdes.....	19

1.3. Activités biologiques de la plante.....	19
1.3.1. Activité Antioxydante.....	20
1.3.2. Activité anti-inflammatoire.....	24
2. Discussion.....	25
Conclusion et perspectives.....	28
Références bibliographiques	

ملخص

P. Harmala L "harmel"، نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي، لعلاج أمراض مختلفة مثل الحمى وآلام الظهر الناتجة عن مرض الزهري والبرد والعدوى والاكنتاب والسعال والتهاب المفاصل. الهدف من هذه الدراسة هو تقدير محتوى البوليفينول والفلافونويد والنشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الميثانول المائي (EHm) والمستخلص المائي (EAq) لبذور *P. Harmala L*. تم استخدام طرق القياس اللوني. تستخدم لقياس المركبات الفينولية، بينما تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة في المختبر بطريقتين؛ اختبار التثبيط الجذري لـ DPPH وطريقة قياس النشاط الدوري (CV). تم تحديد تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر من خلال قدرة المستخلصات المختلفة على تثبيط تحلل BSA. أوضحت النتائج أن بذور *P. Harmala L* غنية جدًا بالبوليفينول (29.30 ± 0.20 ملغ مستخلص / ملغ). أظهر مسح جذر DPPH و VC أن المستخلصين من النبات EAG / ملغ؛ 14.50 ± 0.20 ملغ مستخلص EAG / ملغ) وفي الفلافونيدات (EHm)؛ 0.30 ± 28 ملغ. EQ / g؛ 15.40 ± 0.01 ملغ EQ / ملغ). أظهر مسح جذر DPPH و VC أن المستخلصين من النبات المدروس يظهران خصائص مضادة للأكسدة. EHm هو الأكثر نشاطًا مع IC_{50} بمقدار 2.08 ± 93.38 ميكروغرام / مل (اختبار DPPH). فيما يتعلق باختبار VC، يمثل EHm درجة IC تبلغ 85.18 ميكرو لتر / مل، بينما يُظهر فيتامين C تركيز IC بمقدار 22.22 ميكرو لتر / مل. النتائج التي تم الحصول عليها بعد تقييم التأثير المضاد للالتهابات في المختبر لمستخلصات بذور *P. Harmala L*. أظهرت أن المستخلصين يثبطان تحلل BSA. في الختام، يمكن أن يكون *P. Harmala L* مصدرًا محتملاً للمركبات النشطة بيولوجيًا مع إمكانات مضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات. الكلمات المفتاحية: *Peganum Harmala L*، البوليفينول، الفلافونويد، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب.

Résumé

Peganum harmala L. dit « Harmel », est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne, pour traiter diverses maladies telles que la fièvre, la douleur du dos de la syphilis, froid, infection, dépression, toux, polyarthrite rhumatoïde. La présente étude a pour objectif d'estimer la teneur en polyphénols et en flavonoïde et le potentiel antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique (EHm) et l'extrait aqueux (EAq) des graines de *P. harmala* L. Des méthodes colorimétriques ont été utilisées pour quantifier les composés phénoliques, tandis que l'activité antioxydante a été estimée *in vitro* par deux méthodes ; le teste de piégeage du radical DPPH et la méthode de voltampérométrie cyclique (VC). L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été déterminée par la capacité de différents extraits d'inhiber la dénaturation de la BSA. Les résultats ont montré que les graines de *P. harmala* L. sont très riches en polyphénols (EHm : 29.30 ± 0.20 mg EAG/g extrait ; EAq : 14.50 ± 0.20 mg EAG/g extrait) et en flavonoïdes (EHm ; 28 ± 0.30 mg EQ/g; EAq : 15.40 ± 0.01 mg EQ/g). Le piégeage du radical DPPH et le VC, montrent que les deux extrais de la plante étudiée présentes des propriétés antioxydantes. L'EHmest le plus actif avec IC_{50} de 93.38 ± 2.08 μ g/ml (teste de DPPH). Concernant le teste de VC, EHm représente un IC_{50} de 85.18 μ l/ml, alors que la vitamine C montre un IC_{50} de 22.22 μ l/ml. Les résultats obtenus après l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de graines de *P. harmala*L. montrent que les deux extraits inhibent la dénaturation de la BSA. Ainsi, *P. harmala* L. pourrait être une source potentielle des composés bioactifs ayant un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Mots clés : *Peganum harmala* L, polyphénols, flavonoïdes, antioxydante, anti-inflammatoire.

Abstract

Peganum harmala L. is known "Harmel", is a plant widely used in traditional Algerian medicine, to treat various diseases such as fever, back pain from syphilis, cold, infection, depression, cough, rheumatoid arthritis. The objective of the present study is to estimate the polyphenol and flavonoid content and the antioxidant potential of the hydro-methanolic extract (EHm) and the aqueous extract (EAq) of the seeds of *P. harmala* L. Colorimetric methods have been used to quantify phenolic compounds, while antioxidant activity was estimated in vitro by two methods; the DPPH radical trapping test and the cyclic voltammetry (CV) method. The assessment of anti-inflammatory activity *in vitro* was determined by the ability of different extracts to inhibit denaturation of BSA. The results showed that the seeds of *P. harmala* L. are very rich in polyphenols (EHm: 29.30 ± 0.20 mg EAG / g extract; EAq: 14.50 ± 0.20 mg EAG / g extract) and in flavonoids (EHm; 28 ± 0.30 mg EQ / g; EAq: 15.40 ± 0.01 mg EQ / g). The scavenging of the DPPH radical and the VC show that the two extracts from the plant studied exhibit antioxidant properties. EHm is the most active with an IC_{50} of 93.38 ± 2.08 μ g / ml (DPPH test). Regarding the VC test, EHm represents an IC_{50} of 85.18 μ l / ml, while vitamin C shows an IC_{50} of 22.22 μ l / ml. The results obtained after the evaluation of the anti-inflammatory effect in vitro of extracts of seeds of *P. harmala* L. shows that the two extracts inhibit the denaturation of BSA. In conclusion, *P. harmala* L. could be a potential source of bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory potential.

Keywords: *Peganum harmala* L., polyphenols, flavonoids, antioxidant, anti-inflammatory.

Liste des abréviations

ASV : voltampérométrie de stripping anodique.

CD : canal collecteur rénal.

CSV : voltampérométrie de stripping cathodique.

CYTP450 : cytochrome p450.

DCT : tube contourné distal.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Eaq : extrait aqueux.

ECS : électrode au clonal saturée.

EHm : extrait hydro-méthanolique.

LPS : lipopolysaccharide.

MON: monoamine oxydase.

NF- κ B: nuclear factor-kappa B.

PBS : phosphate buffers salin.

SNC : système nerveux central.

TNF- α : tumor necrosis factor alpha.

VC : voltampérométrie cyclique.

Liste des figures

Figure 1 : Différent parties de l'espèce <i>Peganum harmala</i> L. (a et b): les fleurs, (c et d): les grains.	2
Figure 2 : Les structures des principaux alcaloïdes du <i>Peganum harmala</i> L.....	3
Figure 3 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire ..	8
Figure 4 : Les grains de <i>Peganum harmala</i> L.....	12
Figure 5 : Appareil d'électrochimie	15
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique F(c)=DO.....	18
Figure 7 : Teneur de polyphénol des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> L	19
Figure 8 : La courbe d'étalonnage de Quercitine F(c)=DO.....	19
Figure 9 : La teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>P. harmala</i> L.....	20
Figure 10 : Les IC ₅₀ des différents extraits et de standard	21
Figure 11 : L'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de <i>Peganum harmala</i> L. avec les standards.....	21
Figure 12 : Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence de différents volumes de l'EHm (A) et de la vitamine C (B) sur l'oxygène.....	22
Figure 13 : Courbes représentant les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes des composés d'EHm et de vitamine C.. ..	23
Figure 14 : Effet anti-inflammatoire des extraits de <i>P. harmala</i> et de standard (acide diclofénac) <i>in vitro</i> . Chaque valeur représente la moyenne de trois tests \pm SEM.....	24

Liste des tableaux

Tableau I : Rendement d'extraction de l'extraits aqueux et hydro-méthanolique.....	18
Tableau II : Les valeurs IC ₅₀ calculées par la technique électrochimique de voltampérométrie cyclique.....	24

INTRODUCTION

Introduction

Le corps humain ne garantit pas toujours son équilibre et sa santé, il a besoin de son environnement qui contient quelques herbes médicinales qui aident à prévenir, guérir et éliminer les toxines (Pursell, 2015). L'Algérie comprenait plus de 600 espèces végétales d'intérêt médicinal et aromatique (Mokkadems, 1999).

Les plantes médicinales contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des médicaments utiles (Sofowora *et al.*, 2010) ont également été utilisées pour l'extraction de composés bioactifs importants. Les médicaments traditionnels sont généralement moins chers que les médicaments modernes, et probablement les seuls remèdes naturels disponibles et accessibles dans les communautés rurales reculées des pays en développement. Les habitants des zones rurales préfèrent la médecine traditionnelle en raison de leur proximité avec les guérisseurs traditionnels et du fait que les guérisseurs comprennent leur culture et leur environnement ainsi que leurs patients (Mbuni *et al.*, 2020).

De nombreux scientifiques et médecins sont intéressés à la recherche dans le domaine de la phytothérapie en raison de son efficacité et étant la source la plus importante pour la fabrication des médicaments. L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Peganum*, ce dernier est largement distribué dans les régions arides et semi-arides

(Behidj-benyounes *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2017).

Cette étude sera subdivisée en trois parties :

- Dans la première partie, nous faisons une étude bibliographique sur la description botanique de la plante *Peganum harmala* L,
- Dans la deuxième partie, nous avons réalisé l'extraction et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes) ; l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*.
- Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus.

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur *Peganum harmala* L.

1.1. Présentation de la plante

Peganum harmala L. appartient à la famille des Zygophyllaceae et est souvent appelé "rue syrienne", "rue africaine" ou "Harmal". C'est une plante herbacée vivace qui pousse dans les zones semi-acides des steppes et des zones sableuses. Cela peut être trouvé dans les pays méditerranéens ainsi que dans certaines parties de la Chine et du centre Asiatique (Fig.1) (Passos & Mironidou-Tzouveleki, 2016).



Figure 1 : presentation de différentes parties de l'espèce *Peganum harmala* L. (a et b): les fleurs, (c et d): les grains (Nedjimi, 2020).

Cette plante peut atteindre environ 0.8 m de hauteur et la racine peut atteindre une profondeur allant jusqu'à 6 m. Une plante très ramifiée de 5-13 tiges, les feuilles sont palmatisectées en 3-5 lobes linéaires qui sont 3-6 cm de long et 1.5-3.0 mm de large (Shahrajabian *et al.*, 2021). L'harmal fleurit entre avril et octobre, elle présente des fleurs blanches ou blanc jaunâtre, de diamètre environ 2-2.5 cm. La capsule de fruits mesure 6 à 10 mm de diamètre, elle est transversale et déprimée ou retraitée du sommet. Les graines sont brunes noirâtre, triangulaires de longueur environ 2 mm (Marwat et Rehman, 2011a).

1.2. Classification botanique

Peganum harmala L. est classé selon Ozenda, (1991):

- ❖ Embranchement: Spermatophytes;
- ❖ Sous embranchement: Angiospermes;
- ❖ Classe: Dicotylédones;
- ❖ Sous classe: Rosidae;
- ❖ Ordre: Sapindales;
- ❖ Famille: Zygophyllacées;
- ❖ Genre: *Peganum*;
- ❖ Espèce: *harmala* L.

1.3. Les compositions chimiques

Des études phytochimiques réalisées sur la plante *Peganum harmala* ont permis d'isoler plusieurs types de composés chimiques tels que les alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, anthraquinones, acides aminés et les polysaccharides à partir des graines, feuilles, fleurs, tiges et des racines (Hua *et al.*, 2013).

1.3.1. Les alcaloïdes

La plupart de ces alcaloïdes sont des alcaloïdes indoliques simples à β carbolines telles que, harmine, harmaline, harmalol, harmol, harman, tetrahydroharmine et harmalidine et des alcaloïdes quinazolines comme : Peganine (vasicine), vasicinone (Mahmoudian *et al* 2002 ; Lamchouri *et al.*, 2002) et déoxyvasicinone (Fig. 2).

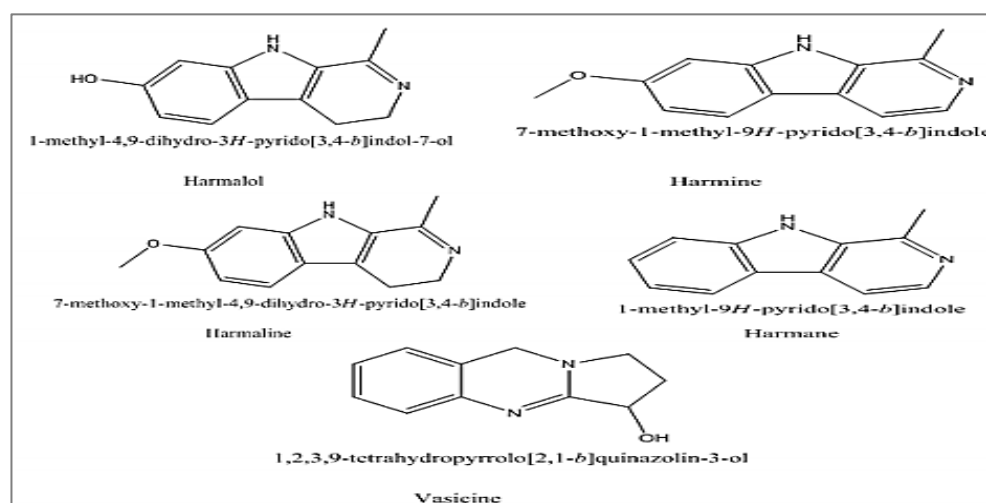


Figure 2: Les structures des principaux alcaloïdes du *Peganum harmala* L. (Ramadhan, 2013).

➤ Les bêtas-carbolines (β carbolines)

L'harmaline, l'harmine, l'harmalol, l'harmol et le tétrahydroharmine sont identifiés et quantifiés comme étant les principaux alcaloïdes bêta-carbolines de *Peganum harmala*. Les graines et les racines contiennent un taux plus élevé des alcaloïdes avec un taux faible dans les tiges et les feuilles, et sont absents dans les fleurs. L'harmine et l'harmaline s'accumulent dans les graines sèches à 4,3 et 5,6%, respectivement, d'harmalol à 0,6% et de tétrahydroharmine à 0,1%. Les racines contiennent l'harmine et l'harmol avec 2 et 1,4% respectivement (Herraiz *et al.*, 2010).

➤ Les alcaloïdes Quinazolines

Les graines de *Peganum harmala* contiennent également une autre classe des alcaloïdes, les quinazolines, dont le précurseur est l'acide anthranilique. Les alcaloïdes quinazolines isolés à partir des différentes parties de la plante *Peganum harmala* sont représentés par la Péganine, le Vascinone (Zharekeev *et al.*, 1974) et la Déoxyvasicinone. Astullah *et al.* (2008) ont isolé deux autres alcaloïdes Dipeganine et Dipeganol à partir de l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala*.

1.3.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre) (Bruneton, 1993).

➤ Les flavonoïdes

L'analyse de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Peganum harmala* a permis d'isoler quatre flavonoïdes glycosides, acacetin 7-O - rhamnoside, 7-O -6'' Oglucosyl-2'' - O-(3'''- glucoside d'acetylramnosyl), 7-O-(2'''-0-rhamnosyl-2'' Oglucosylglucoside) et glycoflavone 2'''-O rhamnosyl-2''-O-glucosylcytisoside (Sharef *et al.*, 1997).

➤ Les terpènes ou terpénoïdes

Du point de vue structural, les terpènes constituent une grande famille de composés phénologiques, c'est-à-dire d'homologues à enchaînement isoprénique. Le terme de terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelés isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Jusqu'à présent, dix triterpénoïdes ont été identifiés à partir du genre *Peganum*. Quatre triterpénoïdes : l'ester méthylique de l'acide 3, 27-dihydroxyl-20 (29) -en-28-oïque, ester méthylique de l'acide 3 -acétoxy-27-hydroxylup-20 (29) -en-28-

oïque et acide 3 -acétoxyolean-12-ène-27,28-dioïque 28-méthylester ont été isolés de l'extrait éthanolique des racines de *Peganum nigellastrum* (Ma *et al.*, 2007).

➤ Anthraquinones

Une étude réalisée sur les graines de *Peganum harmala* a permis d'isoler trois anthraquinones, la peganone I, la peganone II et l'antraquinone glucoside. Les structures ont été déterminées par comparaison de leurs RMN, SM, données physiques avec ceux décrits dans les littératures (Fan *et Yao*, 1992).

1.4. Utilisation traditionnelle du *Peganum harmala* L.

La plante médicinale est utilisée, en général dans les domaines thérapeutiques, cosmétiques, aromatiques ou ornementaux. En effet, l'Harmel est utilisé dans le domaine thérapeutique et parfois en gastronomie comme épice (Bakiri *et al.*, 2016).

- ✓ Les graines de *P. harmala* L. sont utilisées depuis longtemps comme narcotiques, antihelminthiques, antispasmodiques et dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (Siddiqui *et al.*, 1988 ; Bellakhdar, 1997).
- ✓ La plante a été traditionnellement employée pour traiter certains troubles de système nerveux tels que la maladie de Parkinson (Leporatti, 2009), en conditions psychiatriques comme la nervosité (González *et al.*, 2010).
- ✓ *Peganum harmala* a été employé pour traiter le diabète dans la médecine folklorique (Bnouham *et al.*, 2002).
- ✓ La décoction de graines est appliquée et maintenue sur les parties atteintes d'eczéma et les tumeurs.

1.5. Activités pharmacologiques du *Peganum harmala* L.

1.5.1. Activité antioxydante

Le stress oxydatif responsable de nombreuses maladies telles que l'athérosclérose, cancer, diabète, vieillissement...etc. Les antioxydants d'origine végétale peuvent limiter ou empêcher l'activité des radicaux libres susceptibles de provoquer ces maladies (Guergour *et al.*, 2018). L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *P. harmala* par des différents tests donne des résultats positifs, grâce à la présence des composés phénoliques comme les flavonoïdes et les tanins (Asgarpanah *et Ramezanloo*, 2012). Grâce à la réactivité élevée du groupe hydroxyle, les flavonoïdes en réagissant avec le composé réactif du radical et oxydés par des radicaux, transformés en radical plus stable et moins réactif (Panche *et al.*, 2016).

1.5.2. L'effet antibactérien

La croissance de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* peut être inhibée par l'extrait éthanolique de *P. harmala*. De plus, peut réduire la croissance des Lactobacilles et des *Candida albicans* par l'extrait alcoolique et aqueux de *P. harmala*. Les bactéries les plus sensibles aux métabolites dérivés de cette plante sont *Bacillus subtilis* et *Proteus vulgaris* (Motamedifar *et al.*, 2016).

1.5.3. L'effet anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse immunitaire qui peut être induite par différents facteurs, active les cellules inflammatoires et des voies de signalisation inflammatoires, le plus souvent les voies NF- κ B, MAPK et JAK-STAT (Chen *et al.*, 2015). L'harmine est le principal alcaloïde de *P. harmala* qui est impliqué dans son effet anti-inflammatoire, peut inhiber l'activation de NF- κ B induite par les lipopolysaccharides (LPS) et (TNF α) et la translocation nucléaire p65, diminue le taux d'ARNm et de protéines des cytokines inflammatoires. IL-1 β , TNF- α et IL-6, et évitent les dommages inflammatoires dans les poumons de souris induits par le LPS (Liu *et al.*, 2017).

1.5.4. Effet cardiovasculaire

L'harmine et de l'harmalol ont des effets vaso-relaxants avec un ordre de la puissance de relaxation l'harmine > harmaline > harmalol, par effet croissant sur la libération de nitric oxyde (NO), par les cellules endothéliales qui dépendent de la présence de Ca⁺² externe. L'harmalol interagit faiblement avec le site de liaison des canaux Ca⁺² du type L, l'effet de Harman peut être impliqué dans son activité hypotensive et l'harmaline sur la voie prostacycline par diminution de la résistance vasculaire périphérique totale et inhibe l'absorption de Ca²⁺ et la sarcoléine cardiaque (Moloudizargari *et al.*, 2013a).

1.5.5. Effet antidiabétique

Le diabète se définit par une hyperglycémie survenant lorsque la quantité d'insuline plasmatique n'est plus suffisamment produite et/ou active pour les besoins de l'organisme (Tenenbaum *et al.*, 2018). L'harmine responsable d'effet antidiabétique de *P. harmala*. Régule l'expression du peroxydase récepteur gamma activé par les proliférateurs (PPAR γ), qui régule l'adipogenèse, par inhibition de la voie de signalisation Wnt et inhibe l'activité des ligands PPAR γ sur l'expression des gènes adipocytaires et la sensibilité à l'insuline (Moloudizargari *et al.*, 2013b).

1.6. Les formes de toxicité par le *Peganum harmala* L.

1.6.1. Toxicité chez l'animal

L'administration intraveineuse d'harmine et d'harmaline chez les bovins a des effets toxiques tels qu'une augmentation de la fréquence respiratoire et une vasoconstriction. Des syndromes digestifs et neurologiques ont été signalés chez des animaux consommant des quantités sublétales de la plante. L'animal s'est d'abord prosterné puis a perdu l'appétit, augmenté les sécrétions, les vomissements et la diarrhée. Les syndromes neurologiques sont prédominants : première irritation suivie de tremblements, de raideur de la marche et de la respiration instable incapable de se lever et l'animal est tombé en position couchée. L'animal apparaît dans un état d'étonnement interrompu par des périodes d'excitation. Après plusieurs heures, une dyspnée et une dilatation pupillaire ont été notées. La mort survient dans les 30 à 36 heures après l'apparition de signes d'intoxication du SNC (**Mahmoudian et al., 2002**).

1.6.2. Toxicité chez l'homme

Les signes de surdosage de *P. harmala* comprennent d'hallucinations et de syndromes neurosensoriels, bradycardie et troubles gastro-intestinaux, comme des nausées et des vomissements. L'harmaline et l'harmine sont des alcaloïdes toxiques présents dans *P. harmala*. L'harmaline est presque deux fois plus toxique que des doses modérées provoquent un choc veineux et des convulsions sans augmenter la stimulation du réflexe spinal. Une dose mortelle induit des convulsions, rapidement suivie d'une paralysie motrice due à un effet dépresseur marqué du SNC. Le cœur perfusé s'arrête pendant la diastole et les contractions des muscles lisses sont réduites, lors de la prise de doses multiples, hypertension artérielle due à l'affaiblissement du muscle cardiaque (**Jinous Asgarpanah, 2012**).

1.6.3. Manifestation toxique dans l'organisme

L'expression des effets toxiques ou la manifestation toxique peut être très différente dans l'organisme vivant. Ces réponses toxiques ont été classées en catégories comme suit :

- ✓ Action toxique directe : les lésions tissulaires,
- ✓ Effets physiologiques et biochimiques,
- ✓ Tératogénèse,
- ✓ Immunotoxicité,

2. Activité anti-inflammatoire

2.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (Fig. 3). L'inflammation est un processus habituellement bénéfique; son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire. Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : Rougeur, chaleur, douleur, et lésion fonctionnelle.

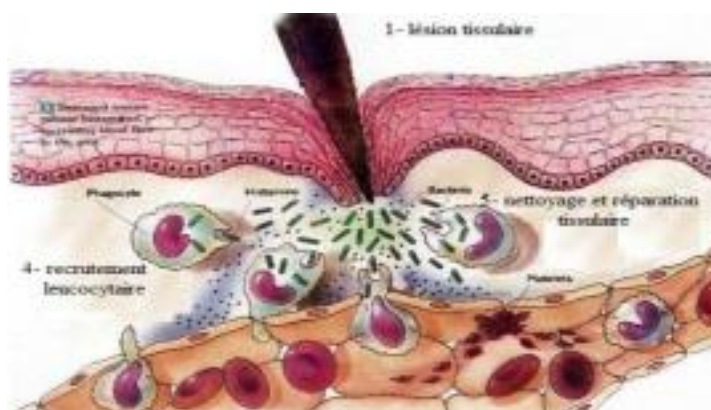


Figure 3 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire (<http://www.biologymad.com/Immunology/inflammation.jpg>).

2.2. Anti-inflammatoires

La thérapie anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèse du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (Das, 2010).

2.2.1. Anti-inflammatoires conventionnels

❖ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Sont des médicaments à la propriété antalgique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Plusieurs classifications sont proposées, fondées soit sur la structure des AINS, la puissance, les modalités d'action et/ou la sélectivité anti-COX (Cuvillon et Viel, 2002). En effet, les AINS agissent tous en inhibant les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2), diminuant ainsi la synthèse des prostaglandines E2 et du thromboxane A2 (Risser *et al.*, 2009).

❖ Les anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes)

Sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (Kessel *et al.*, 2014). L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables, le risque d'apparition de ces effets s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement. Conduisant à des troubles aigus tels que l'hypertension artérielle et l'ulcère gastro-duodénaux (Henzen, 2003).

2.2.2. Anti-inflammatoires traditionnels

Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercés au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peuvent également être affectées par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inducible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS). Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immunomodulateurs des composés polyphénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire (Neyestani, 2008 ; Madhuri *et al.*, 2008).

3. Activité antioxydante

3.1. Stress oxydatif

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif (Yepez *et al.*, 2002).

3.1.1. Stress oxydant

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes (Sorg, 2004).

3.1.2. Les radicaux libres

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire l'énergie en oxydant la matière organique. Mais les cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques: les radicaux libres (**Favier, 2003**). Un radical libre est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires (**Zweier and Hassan Talukder, 2006**). Ces radicaux peuvent être dérivés de l'oxygène (Reactive Oxygène Species : ROS) ou d'autres atomes comme l'azote qui se voient perturber la cellule vivante (**Koechilin-Ramonatxo, 2006**).

3.2. Les antioxydants

3.2.1. Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquant de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (**Tang et Halliwell, 2010**).

3.2.2. Classification des antioxydants

La nature des antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'ils se trouvent dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Parmi les antioxydants, il existe :

a. Les antioxydants enzymatiques

L'organisme possède des enzymes endogènes qui peuvent métaboliser les ERO (**Morena et al., 2002**). Les plus connues sont :

-**Le superoxyde dismutase (SOD)** : catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène.

-**Le glutathion peroxydase** : enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Valko et al., 2006**).

-**La catalase** : cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (**Valko et al., 2006**). Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 .

b. Les antioxydants non enzymatiques

D'autres composés, tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique) et les caroténoïdes, apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Halliwell, 1994**).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Ces antioxydants sont dits exogènes car ils sont apportés essentiellement par l'alimentation, de même pour les oligoéléments indispensables pour la synthèse et le bon fonctionnement du système antioxydant enzymatique (**Rayman, 2000 ; Benzie et Strain, 2005**).

c. Les antioxydants d'origine végétale

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, les plantes renferment de nombreuses substances bioactives qui présentent des propriétés antioxydantes. Ont été rapportées présentant une activité antioxydante y compris *Citrullus colocynthis*, *Limoniastrum feei*, *Pistacia lentiscus* et bien d'autres (**Atmani et al., 2009 ; El-Haci et al., 2012**). Une grande partie de ces molécules est présente dans l'alimentation. Les plus connus sont les polyphénols, les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les caroténoïdes flavonoïdes, et les tanins (**Pellegrini et al., 1999**).

Matériel et méthodes

Matériels

1.1. La plante *Peganum harmala* L.

Les graines de *Peganum harmala* L. ont été récoltées à partir de la région d'Ain Wellman, wilaya de Sétif. elles ont été nettoyées des impuretés, ensuite broyées à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir de laquelle des différents extraits ont été préparés (Fig. 4).



Figure 4 : Les grains de *Peganum harmala* L. (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

1.2. Produits

Dans notre étude nous avons utilisé les produits suivants : Méthanol, Trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$), quercétine, acide ascorbique, Chloroforme (CHCl_3), chlorure de sodium (NaCl) ; Dihydrogéo-phosphate de Sodium (NaH_2PO_4), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), Acide Chlorhydrique (HCl), BSA, Diclofénac.

Méthodes

1.3. Extraction des composées phénolique

1.3.1. L'extrait hydro-méthanolique (EHm)

L'obtention de l'extrait hydro-méthanolique a été effectuée selon le protocole d'extraction décrit par **Markham, (1982)** avec quelques modifications. La poudre des graines (50 g) est soumise à une extraction par macération dans le mélange méthanol /eau (85 /15 : v/v) sous agitation douce pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration sur coton hydrophile, puis à travers le papier Wattman N°3. Les filtrats sont recombinaés puis évaporés par un rota-vapeur (BÜCHI) presque à sec et les résidus finaux ont été mis à sécher dans une étuve à 45°C, jusqu'à l'obtention d'un extrait sous forme de poudre conservée à -4°C jusqu'à son utilisation.

1.3.2. L'extrait aqueux

L'extrait aqueux (EAq) est préparé en suivant la méthode décrite par **Mbiantcha *et al.* (2011)**. La macération est faite avec 100 g de la poudre des graines dans 1 L de l'eau distillée tiède pendant 3 jours. Une filtration sur coton hydrophile, puis sur papier Wattman N°3 a été effectuée. Pour l'évaporation de l'eau distillée, le filtrat est placé dans un rotavapor à 45°C, ensuite il est placé dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait, conservé par la suite, à 4°C jusqu'à son utilisation.

1.4. Dosage des composés phénoliques

1.4.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification de ces métabolites est effectuée selon plusieurs méthodes analytiques. La méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu (**Georgé *et al.*, 2005**).

a. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). L'oxydation en milieu alcalin du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu. L'intensité de la coloration produite, qui a une absorbance maximale à 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé.

b. Protocole

1000 µl de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajoutés à 200 µl d'échantillon ou standard avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-160 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extraits (µg EAG/mg d'extraits).

1.4.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

La technique repose sur la formation d'une liaison covalente entre l' AlCl_3 et les groupements OH des flavonoïdes produisant un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm (Huang *et al.*, 2004).

b. Protocol

À 1 ml d'échantillon, 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans du méthanol) est ajouté. Après 10 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. Dans les mêmes conditions, la gamme d'étalonnage de la quercitrine (5-40 $\mu\text{g/ml}$), est établie. La quantité des flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de régression de droite d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en μg d'équivalents de quercitrine par mg d'extraits ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extraits).

1.5. Activités biologiques de la plante

1.5.1. L'activité antioxydante

Afin d'évaluer l'effet antioxydant des extraits de la plante *Peganum harmala* L, deux techniques ont été réalisées : en utilisant le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le test antioxydant par l'électrochimie.

1.5.1.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

a. Principe

L'inhibition du radical libre 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.) est effectuée selon la méthode développée par Blois, (1958). Cette méthode permet de mesurer le pouvoir piègeur et de calculer la concentration inhibitrice médiane IC_{50} des substances antioxydantes. Le DPPH est un radical libre de couleur violette (forme oxydée), qui devient jaune (forme réduite) sous l'effet des substances anti oxydantes qui lui cède un proton. La couleur violet foncée, mesurable à 517nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire de l'extrait (Locatelli *et al.*, 2010).

b. Protocol

1.5 ml de la solution de l'extrait ou de standard à des concentrations bien définies est ajouté à 0.5 ml de solution au DPPH (0.004%). Après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité, à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance est faite par un spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé pour chaque concentration. Le

test est réalisé en triplicata. Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de piégeage} = [(A_1 - A_2) / A_1] * 100$$

A₁: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A₂: absorbance en présence d'extrait.

1.5.1.2. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC)

Le VC est la technique la plus utilisée en électrochimie. Il donne des résultats quantitatifs sur les catalyseurs et les réactions électrochimiques, par exemple la réponse électrochimique des catalyseurs, l'interaction des catalyseurs avec l'électrolyte et l'activité catalytique des catalyseurs (Li et Thomas, 2020). Il fournit aussi des informations sur les mécanismes des réactions redox, la réversibilité d'une réaction, et la cinétique de transfert d'électrons d'une espèce électroactive en solution (Fig. 5) (Nnamchi et Obayi, 2018).

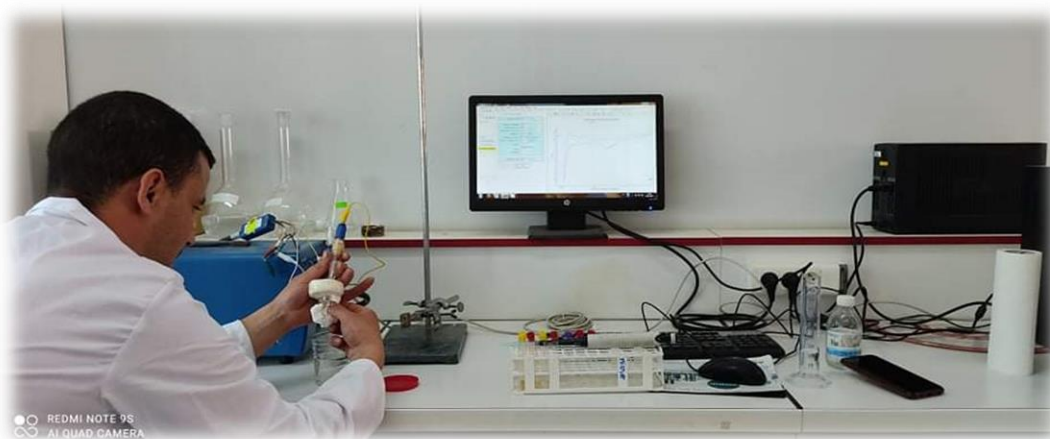


Figure 5 : présentation de l'appareil d'électrochimie ,faculté de science technique ST labo de génie de l'environnement (photo personnel).

a. Matériels utilisés pour la VC

Les unités de bases d'un analyseur volt ampérométrique sont : une cellule électrochimique et trois électrodes ; ET : électrode de travail, ER : électrode de référence et Eau : Électrode auxiliaire (contre électrode).

- **Un circuit électronique**, appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.
- **Electrode de travail** (électrode indicatrice) : est une microélectrode de petite surface et elle est considérée comme le cœur de tous systèmes volta métrique. Les électrodes

de travail les plus utilisées en voltampérométrie sont : Hg, Au, Pt, Ir et CV (carbone vitreux).

- **Electrode de référence** : cette électrode possède un potentiel spécifique et constant, ce qui permet d'imposer un potentiel bien défini à l'électrode de travail. Les électrodes de référence les plus utilisées sont l'électrode au calomel saturée ECS : Hg/Hg₂Cl₂/KCl, (EECS = 241 mV), l'électrode au chlorure d'argent saturé : Ag/AgCl/KCl, (EAg/AgCl/KCl = 199 mV).
- **Electrode auxiliaire** : elle assure le passage et la mesure du courant dans la solution. Elle est usuellement en platine ou en carbone (graphite) et possède une large surface par rapport à l'électrode de travail (**Abollinoetal., 2018**).

b. Principe de la voltampérométrie cyclique

Le voltamètre est basé sur la mesure d'une réponse en courant en fonction du potentiel appliqué à une cellule de voltamétrie. La voltampérométrie de stripping anodique (ASV) et la voltampérométrie de stripping cathodique (CSV) sont deux versions différentes de SV et diffèrent par la nature de leurs étapes de pré concentration et de stripping. Dans l'ASV, une étape de concentration cathodique préliminaire est effectuée, suivie d'un balayage de potentiel vers des potentiels plus positifs et les courants d'anode (oxydation) sont déterminés. En CSV, une étape de concentration anodique préliminaire est effectuée, suivie d'un balayage de potentiel vers des potentiels plus négatifs et les courants cathodiques (réducteurs) sont déterminés (**Achterberg et al., 2018**).

c. Mode opératoire et conditions de travail

L'étude de voltampérométrie cyclique (VC) est assurée par un Voltalab 40 modèles PGZ301 (RadiometerAnalytical) potentiostat / galvano stat) relié à une cellule électrochimique à trois électrodes :

- Une électrode en carbone vitreux de diamètre 2,0 mm.
- Une plaque de platine de surface 1,2 cm² comme contre-électrode.
- Une électrode au calomel saturée (ECS) comme électrode de référence.

Le tout est piloté par un micro-ordinateur doté d'un logiciel Ec-Lab, version 8.0

L'électrode de travail est polie avant chaque manipulation en utilisant le papier joseph, ensuite rincée avec l'eau distillée et l'acétonitrile et essuyée avec du papier absorbant. La réaction entre les diverses molécules et l'anion superoxyde (O₂^{•-}) est effectuée dans une cellule électrochimique remplie de 25 ml d'une solution contenant l'électrolyte support (TBuNPF₆, 0.1 mol.L⁻¹) dissous dans l'acétonurie ; cette solution est soumise au barbotage

par l'oxygène pendant 15 min. Le voltampérogramme de l'oxygène est enregistré à une vitesse de balayage de 50 mV/s, la gamme de potentiel était de -1 à 1V / ECS, et à température ambiante. L'activité de piégeage du radical superoxyde est vérifiée par l'addition successive de 0.1 ml de la solution de chaque composé, les voltampérogrammes sont ensuite enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales.

1.5.2. Évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro*

a. Principe

L'effet anti-inflammatoire *in vitro* des différents extraits de *P. harmala* L. est déterminé en utilisant le test d'inhibition de la dénaturation du BSA selon le protocole de **Williams et al., (2002)**. Brièvement 500 µl de BSA (0.2%) préparé préalablement dans un tampon tris-HCl ont été ajustées à pH 6,3 sont ajoutés à 500 µl des différentes concentrations de l'extrait (250 µg/ml), ce mélange est incubé à 37°C pendant 20 min puis 65°C pendant 10 min après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ teste}) / A \text{ contrôle}] * 100$$

1.6. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et SEM de mesures en triple. Le logiciel GraphPad Prism (version 8.00) a été utilisé pour l'analyse statistique. Les données ont été analysées à l'aide du test t de Student et de l'analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA), suivis du test de Dunnett pour une comparaison multiple. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,01$.

Résultat et discussion

1. Résultats

1.1. Rendement d'extraction

Les rendements ont été calculés en utilisant la formule suivante :

Rendement = (Masse de l'extrait obtenu/ Masse de la matière végétale sèche)*100.

Les résultats montrent que le rendement d'extrait hydro-méthanolique relativement élevé par rapport au rendement d'extrait aqueux (Tableau 1).

Tableau I : Rendement d'extraction de l'extraits aqueux et hydro-méthanolique.

Extrait	Hydro-méthanolique	Aqueux
Rendement %	21.53 %	20.11%

1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

1.2.1. Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols des différents extraits (EHm et EAq) des grains de *Peganum harmala* L. a été déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu. Elle est exprimée en µg EAG/mg d'extraits des graines sèches. Les concentrations des polyphénols ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique(Fig. 6).

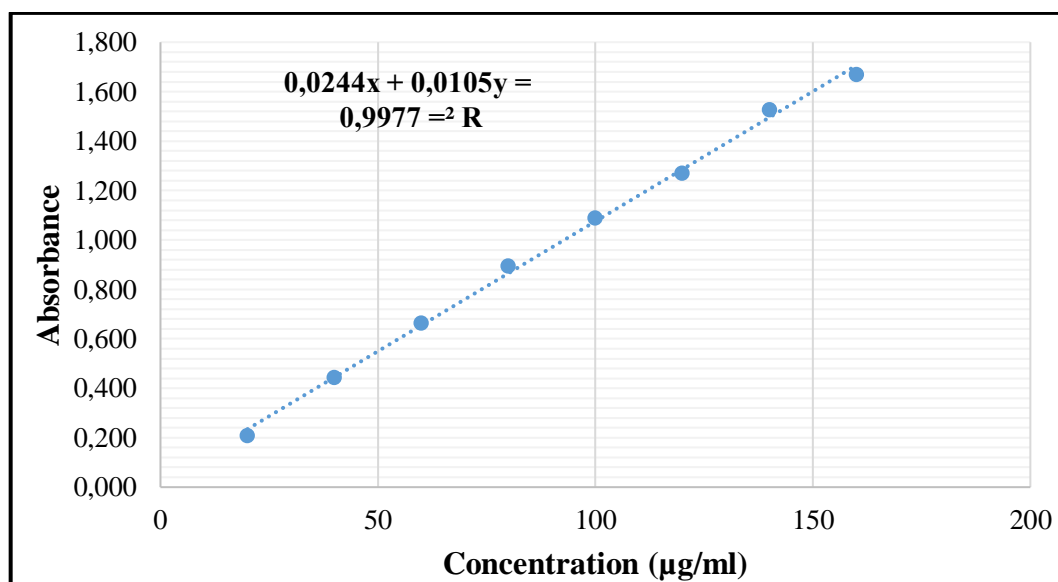


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique $f(c)=DO$.

La teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits des graines de *Peganum harmala* L est présentée dans la fig 7. À partir de ces résultats, on remarque que l'extrait hydro-méthanolique est la plus riche en polyphénols en comparaison avec l'extrait aqueux avec des teneurs de 29.30 ± 0.20 mg EAG /g et de 14.50 ± 0.20 mg EAG /g), respectivement.

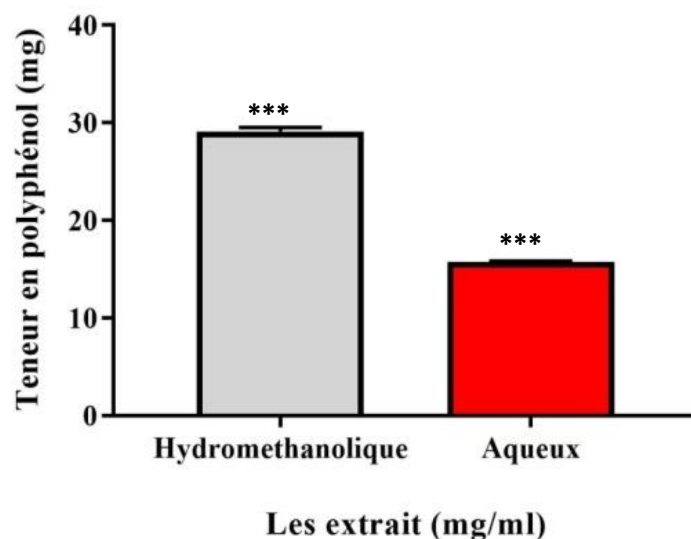


Figure 7 : Teneur de polyphénol des différents extraits de *Peganum harmala L.*

1.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les concentrations des flavonoïdes ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de la quercitrine (Fig. 8).

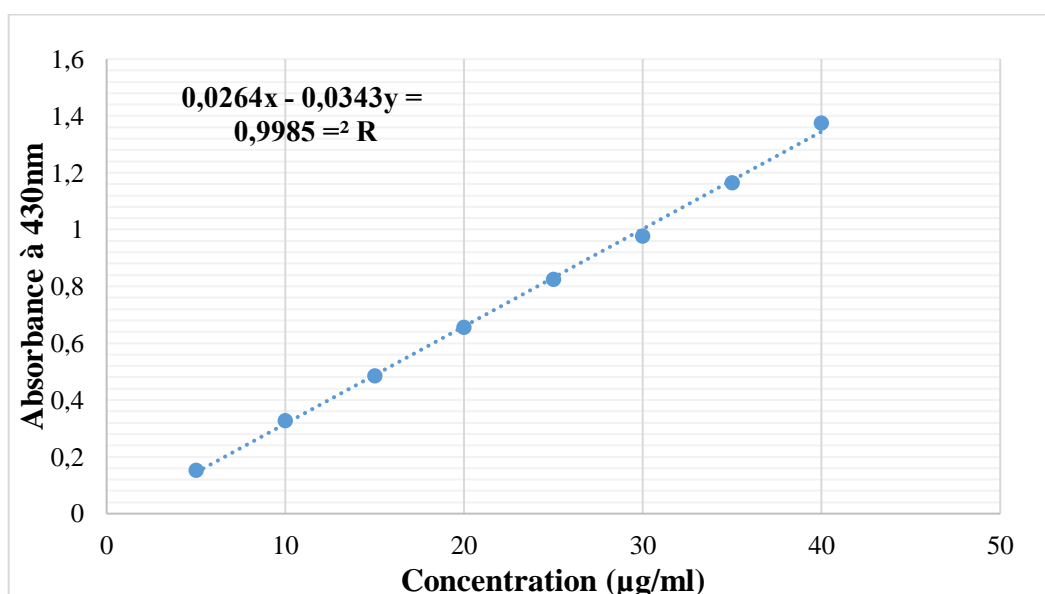


Figure 8 : La courbe d'étalonnage de Quercitrine $F(c)=DO$.

Selon les résultats obtenus, la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait hydro-méthanolique (28 ± 0.30 mg EQ /g) est la plus élevée en comparaison avec l'extrait aqueux (15.40 ± 0.01 mg EQ/g) (Fig. 9).

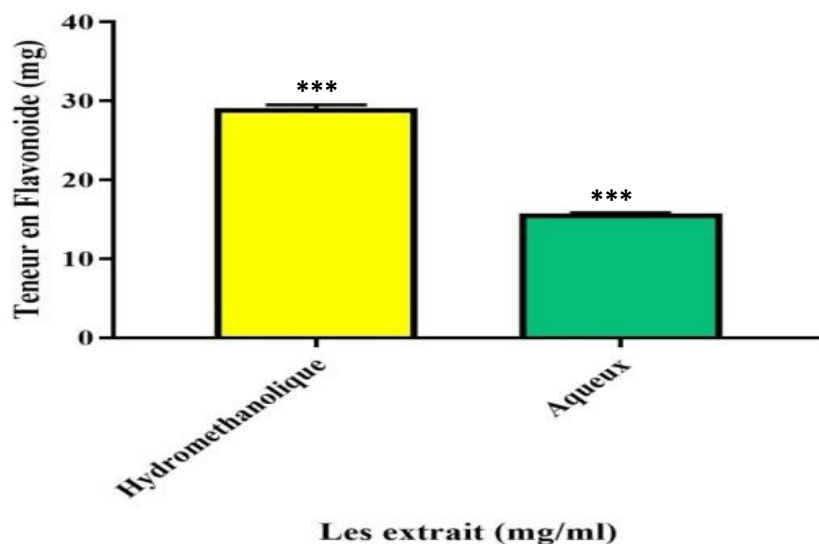


Figure 9 : La teneur en flavonoïdes des différents extraits de *P. harmala* L.

1.3. Activités biologiques de la plante

1.3.1. Activité antioxydante

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique et aqueux pour déterminer l'extrait le plus actif. Nous avons utilisé deux différents tests à savoir : l'effet scavenger d'un antioxydant sur le radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) et le test d'antioxydant par l'électrochimie.

a. Inhibition du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés polyphénoliques. L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir des graines de *Peganum harmala* L. a été faite en comparaison avec celle d'autres antioxydants standards tels que l'acide ascorbique et la quercitine, et a été exprimée en IC_{50} . Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel. Plus l' IC_{50} est faible et plus l'antioxydant est puissant. D'après les résultats on remarque que les différents extraits de *Peganum harmala* L. capable de pièges les radicaux DPPH avec des IC_{50} de $93.38 \pm 2.08 \mu\text{g/ml}$, $152.86 \pm 12.46 \mu\text{g/ml}$ pour l'EHm et l'EAq, respectivement. Une activité qui reste toujours inférieure à celles du standards ; l'acide ascorbique (Vit C) ($1.009 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) (Fig. 10). Le % d'inhibition des radicaux DPPH est présenté dans la figure 11.

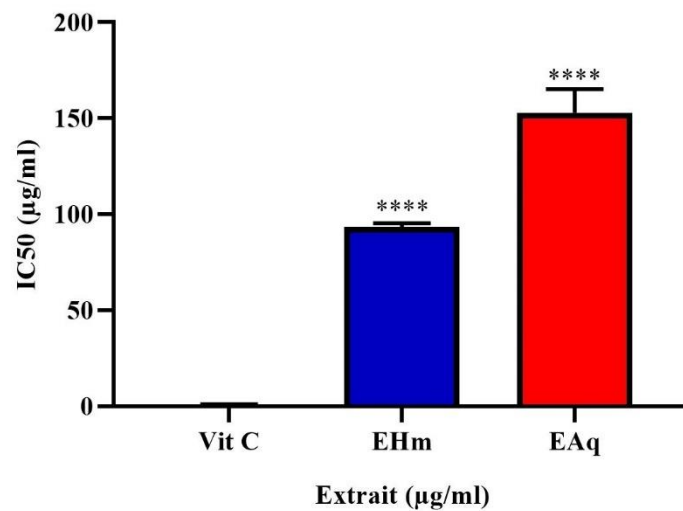


Figure 10 : Les IC₅₀ des différents extraits et de standard.

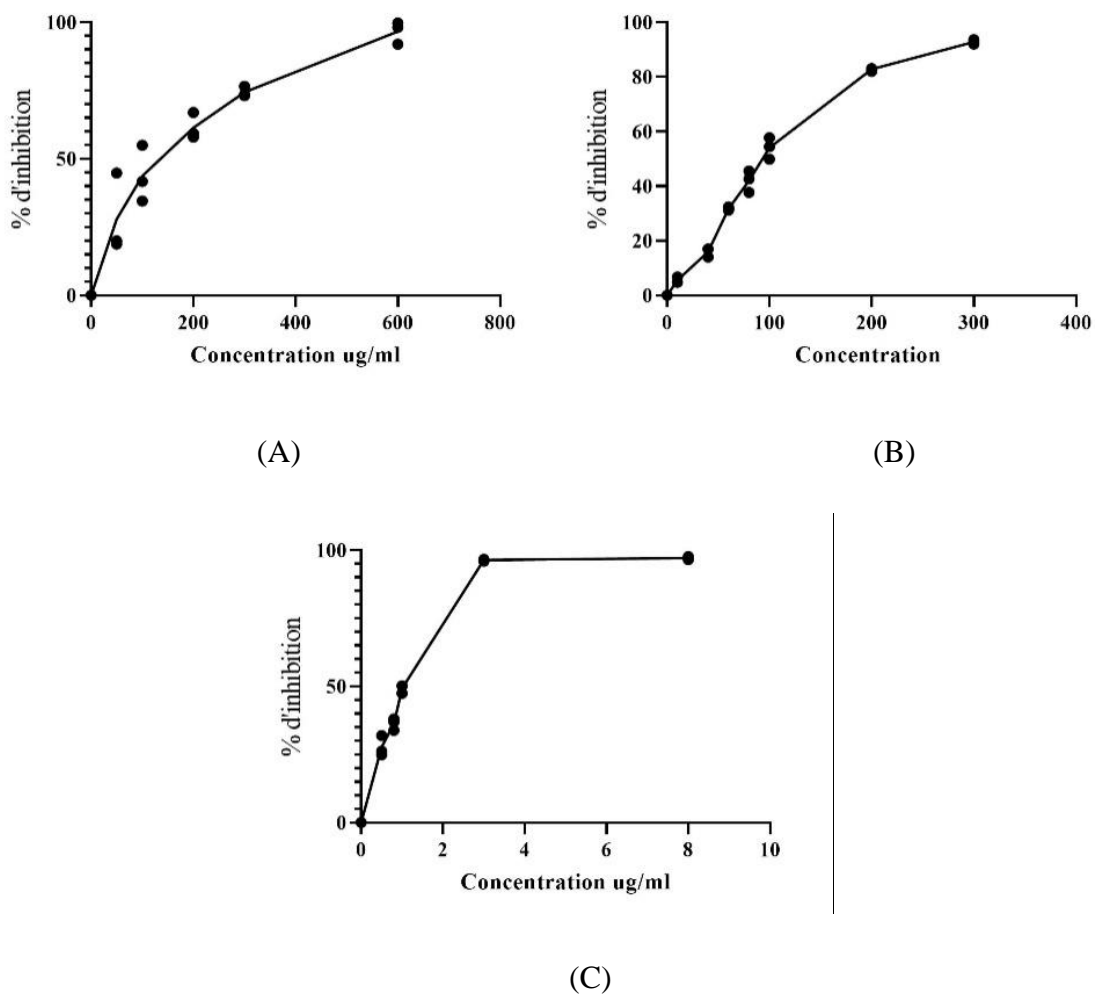
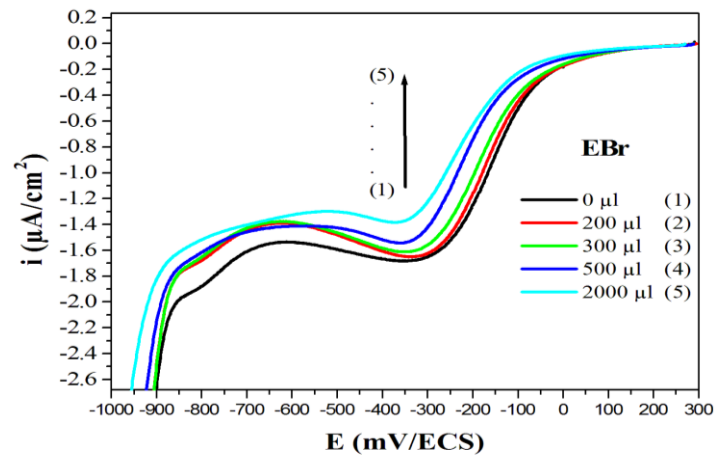


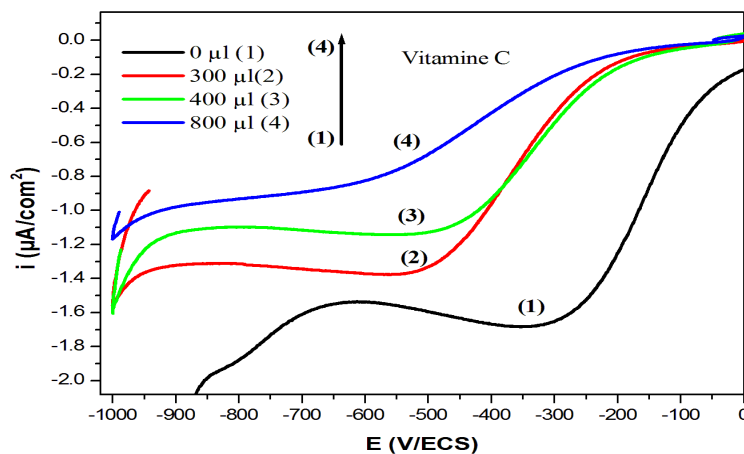
Figure 11 : L'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de *P. harmala* L. et les standards. (A) : % d'inhibition d'EAq, (B) : % d'inhibition d'EHm, (C) : % d'inhibition de Vit C.

b. Comportement électrochimique d'oxygène en présence du l'EHm et la vitamine C

Les voltampérogrammes cycliques de la réduction de l'oxygène sont enregistrés en présence des différentes concentrations des extraits (EHm et la vitamine C) (Fig. 12).



A



B

Figure 12 : Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence de différents volumes de l'EHm (A) et de la vitamine C (B) sur l'oxygène.

La voltampérométrie cyclique est utilisée pour déterminer l'activité antioxydante de l'extrait sur l'oxygène. La réduction de l'oxygène conduit vers la formation du radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ ($O_2 + 1e^- \rightleftharpoons O_2^{\bullet-}$). La formation du radical $O_2^{\bullet-}$ dépend du milieu électrolytique, puisque la présence d'un système enzymatique (extrait) dans la solution électrolytique influence sur la quantité du radical $O_2^{\bullet-}$ formé, ceci est dû à l'interaction entre les molécules de l'extrait et la molécule de l'oxygène, cette interaction augmente avec l'augmentation du pouvoir antioxydant de l'extrait.

Les résultats obtenus révèlent que l'EHm et la vitamine C exhibent une interaction importante entre la molécule de l'oxygène, ce qui est traduit par une diminution proportionnelle du courant cathodique. Le pourcentage d'interaction ou d'inhibition de la molécule d'oxygène avec l'EHm et la vitamine C (Fig. 13) est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$IC \% = \frac{ipc_0 - ipc}{ipc_0} \times 100 \%$$

IC%: le pourcentage d'interaction ou d'inhibition.

ipc_0 : intensité du courant cathodique de l'oxygène sans extrait

ipc : intensité du courant cathodique de l'oxygène avec un volume de l'extrait (μ l).

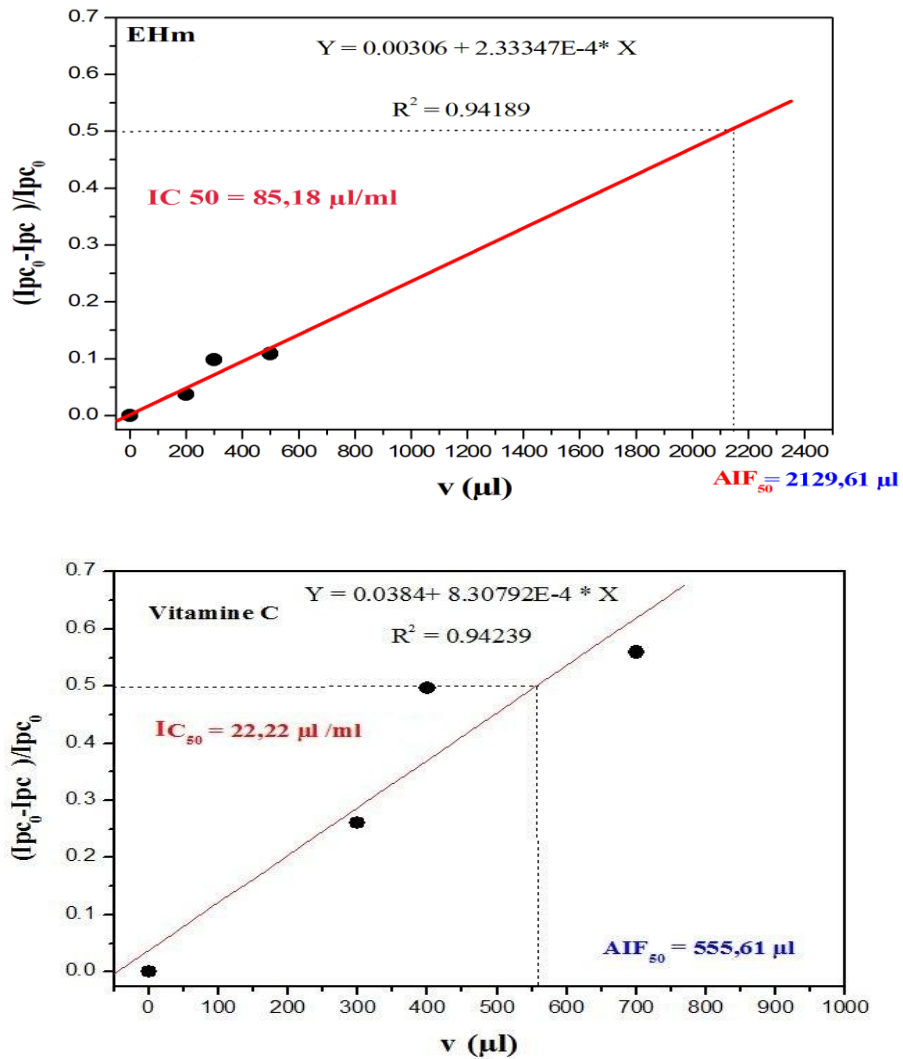


Figure 13 : Courbes représentant les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes des composés d'EHm et de vitamine C.

L'activité antioxydante est évaluée par la valeur IC₅₀ qui est calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes ajoutés (Tableau 2).

Tableau II : Les valeurs IC₅₀ calculées par la technique électrochimique de voltampérométrie cyclique.

Concentration Extraits	μl/25ml	μl/ml
EHm	2129,61	88,18
Vitamine C	555,61	22,22

L'absence du résultat électrochimique de l'extrait aqueux « EAQ » est dû à la réponse électrochimique de l'extrait aqueux dans la même plage potentielle de réduction de l'oxygène, ce qui ne nous a pas permis de déterminer l'activité antioxydant de cet extrait.

1.3.2 L'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de graines de *P. harmala* L, la capacité des extraits à inhiber la dénaturation induite par la BSA a été estimée. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits de graines de *P. harmala* L. inhibent la dénaturation de la BSA. Cette inhibition est statistiquement similaire à celle de l'activité anti-inflammatoire de référence (Diclofénac) à la même concentration, qui exprime un pourcentage d'inhibition de $74.42 \pm 0,46$ % à une concentration de 250 μg/ml. Cependant, les pourcentages d'inhibition obtenus avec les extraits de graines de *P. harmala* L. aux concentrations de 250μg/ml sont de $65.53 \pm 0,74\%$ et de $70.51 \pm 0,50$ % pour EHm et EAQ, respectivement (Fig. 14).

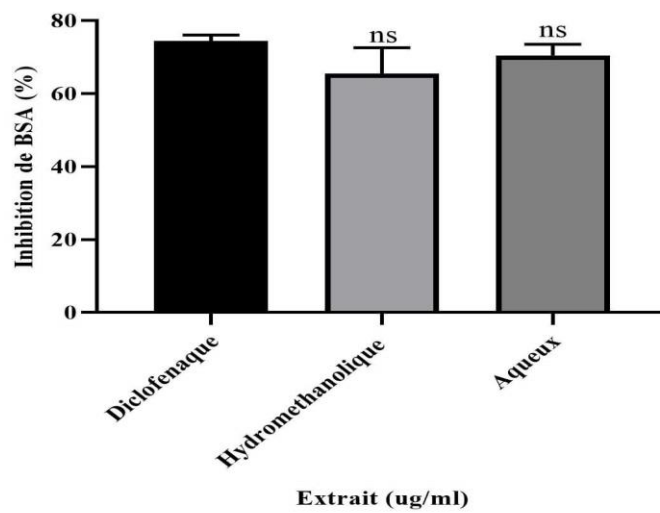


Figure 14 : Effet anti-inflammatoire des extraits de *P. harmala* et de standard (acide diclofénacique) *in vitro*. Chaque valeur représente la moyenne de trois tests \pm SEM.

2. Discussion

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) rapporte que 80% de la population dans le monde émergent dépend de la médecine traditionnelle pour le traitement (**Mahomoodally, 2013**). Les produits d'origine végétale ont des effets biologiques importants sur certaines complications organiques. Il est considéré comme la principale source de la médecine moderne. La population rurale vivant dans les pays en développement en raison de leurs fortes croyances et de leur faible accès aux médicaments allopathiques, ils vont baser du système médical traditionnel à base des plantes (**Josephine et Antoinette, 2019**).

Dans le cadre de ce travail, nous sommes intéressés par la plante de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae), qui est une flore Algérienne intéressante. L'Harmal est une importante plante médicinale multifonctionnelle possédée de nombreuses propriétés phytochimiques. Elle était utilisée en médecine traditionnelle en raison de leur composition importante en principes actifs responsables de son activité biologique (**Behidj-Benyoune et al., 2014 ; Shahrajabian et Cheng, 2021b**).

Les polyphénols ; le composé organique omniprésent, sont devenus un domaine d'intérêt en nutrition au cours des dernières décennies. Un groupe de recherche en croissance indique que la consommation de polyphénols peut jouer un rôle important dans la régulation de la santé métabolique du poids des maladies chroniques et de la prolifération cellulaire (**Cory et al., 2018**). Les résultats des dosages des polyphénols totaux montrent que l'extrait hydro-méthanolique est l'extrait le plus riche avec un teneur de 29.30 ± 0.20 mg EAG /mg extrait suivi de l'extrait aqueux (14.50 ± 0.20 mg EAG/mg extrait). Selon des études antérieures, **Talbiet al. (2012)** ont rapporté que les contenus phénoliques totaux de l'Ehm 122.82 ± 2.24 mg EAG/mg extrait et pour l'extrait aqueux 115.28 ± 19.75 mg EAG/mg extrait de *P. harmala* L. étaient supérieurs à ceux trouvés dans notre étude.

Les flavonoïdes sont un groupe de composés phénoliques naturels omniprésents, possède un noyau flavone et représentent la classe de composés la plus courante dans les plantes (**Babu et Liu, 2009**). Les résultats de dosages des flavonoïdes totaux montrent que l'extrait hydro-méthanolique est l'extrait le plus riche (28 ± 0.30 mg EAG /mg extrait) suivie par l'extrait aqueux (15.40 ± 0.01 mg EQ /mg extrait). Une étude qui a été réalisés par **Talbi et al. (2012)**, à montrer que la teneur en flavonoïdes dans les différents extraits sont supérieures que celle-ci trouvée dans notre étude (EHm : 33.17 ± 0.49 µg E. Quercétine /mg extrait, EAq : 15.56 ± 0.62 µg EQ /mg extrait).

On peut conclure que les composés phénoliques ou flavonoïdes contenus dans les extraits ont été influencés peut être par les conditions climatiques (humidité, chaleur...) et peut aussi être affecté par les conditions édaphiques (sol) parce que chaque région contient différents types de composition du sol. De même, des rapports antérieurs ont indiqué que le solvant le plus approprié pour l'extraction des composés phénoliques des plantes médicinales et aromatiques est le méthanol (**Djidel et al., 2013**).

Les antioxydants jouent un rôle important dans l'élimination des radicaux libres et des ROS dans le corps. L'activité antioxydante peut être définie comme la limitation ou l'inhibition de la réaction d'oxydation des composés susceptibles à l'oxydation (les lipides, les protéines et l'acide nucléique) (**Guclu et al., 2021**). L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des différents extraits de *P. harmala* L. a été réalisée par deux techniques : le piégeage du radical libre DPPH et la voltampérométrie cyclique (VC).

Les antioxydants ou d'autres espèces radicalaires sont capables de réagir avec ce radical stable (DPPH) en donnant un électron ou un atome d'hydrogène, le réduisant ainsi en 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPH-H) caractérisés par une couleur jaune pâle qui pourrait être facilement contrôlée avec un spectrophotomètre (**Mfotie, 2021**). Les résultats obtenus par la méthode DPPH révèlent clairement que tous les extraits testés sont des agents piègeurs des radicaux libres et qu'ils exercent un effet antioxydant puissant. À partir des valeurs d'IC₅₀ obtenues, on peut conclure que l'EHm s'est avéré présenter la plus grande activité de piégeage (IC₅₀ : 93.38 ± 2.08 µg/ml) par rapport à l'EAq (IC₅₀ : 152.86 ± 12.46 µg/ml). Les deux extraits EBr, EAq ont montré une activité de piégeage du DPPH inférieure à celle du Vit C (IC₅₀ : 1.009 ± 0.02 µg/l) utilisé comme antioxydant standard (p < 0.0001).

Khelifi et al. (2013) a réalisé une étude sur l'extrait méthanolique et mentionné que l'IC₅₀ de test DPPH pour la *P. harmala* L. est 70.16 ± 3.30 mg/l. donc ce résultat est inférieur à celui trouvé dans notre étude. **Khelifi et al. (2013)** a réalisé une étude et mentionné que l'IC₅₀ de vitamine C pour la *P. harmala* L. est 3.89 ± 0.046 mg/l, donc ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés dans notre étude qui représentent ses résultats 93.38 ± 2.08 µg/ml pour EBr, (1.009 ± 0.02 µg/ml) pour le standard vit C (acide ascorbique).

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *P. harmala* L. et les standards réduisent d'une manière dose-dépendante le radical DPPH, c'est-à-dire le pourcentage d'inhibition du DPPH augmente avec la concentration des extraits, jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration des extraits.

Où est la comparaison des résultats de l'activité antioxydante obtenus par les méthodes d'électrochimie avec méthode DPPH

La comparaison entre les résultats des activités antioxydantes obtenus par les deux techniques montre clairement qu'il existe une certaine approche. La différence des résultats est attribuée aux conditions de travail (milieu aqueux), il est souhaitable de refaire l'étude électrochimique en présence du radical $O_2^{\bullet-}$, qui sera détectée par son courant d'oxydation durant le balayage inverse en milieu organique (CH_3CN , DMF ,...). La voltampérométrie cyclique est par conséquent un moyen pratique de générer de l' $O_2^{\bullet-}$ sans système enzymatique et d'étudier son interaction avec une molécule ou un extrait, à condition que les substrats ne soient pas actifs dans le domaine de potentielle de réduction de l'oxygène.

L'inflammation est une réaction complexe contre l'infection ou la blessure. La recherche de composés naturels et de phyto-constituants capables d'interférer avec ces mécanismes en prévenant une inflammation chronique pourrait être utile pour la santé humaine. Pour tester l'activité anti-inflammatoire de *P. harmala*.

L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire de diclofénac et extraits méthanolique de *P. harmala L* dans autre étude montré que la capacité d'inhibition et de dénaturation de l'extrait méthanolique, à la concentration de 150 $\mu g/mL$ était de 89,34%, alors que le standard du Diclofénac à 150 $\mu g/mL$ a montré une inhibition de 99,29% de la dénaturation de la SAB. Donc ces résultats supérieurs que celle trouvée dans notre étude. et le Diclofénac aussi supérieur à l'extrait méthanoïque

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La connaissance et l'usage des plantes constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Les plantes médicinales forment une source riche d'une variété de composés biologiquement Actifs. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine) peut être employée dans le but de se soigner.

Peganum harmala L, connue également par Harmel, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles, grâce à son contenu en métabolites secondaires.

Le présent travail est axé sur la recherche des substances naturelles dont leurs activités antioxydantes, antiinflammatoires sont réalisées sur les graines de *Peganum harmala*.

Le rendement d'extraction par le méthanol (21.53%) est relativement supérieur à celui de l'extraction aqueuse (20.11%), Les résultats de l'analyse quantitative montrent que les deux extraits hydrométhanolique et aqueux de *Peganum* est très riche en polyphénols totaux ($29.30 \pm 0.20 / 14.50 \pm 0.20$ EAG/mg) et en flavonoïdes ($28 \pm 0.30 / 15.40 \pm 0.01$ mg EQ).

Par ailleurs, le potentiel antioxydant de *Peganum harmala* a été déterminé par deux méthodes de DPPH et électrochimie présente que le pourcentage d'inhibition des deux extraits hydrométhanoliques et aqueux est supérieur à celui du standard (la vitamine C) pour toutes les concentrations testées. Cette activité antioxydante des extraits est donc dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, donc ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le diabète et le cancer plus qu' elle a un pouvoir protectrice contre le vieillissement et les maladies d'origine génétiques.

L'activité anti-inflammatoire des extraits de *Peganum harmala* montre que cette plante possède un fort pouvoir pharmacologique, ce qui supporte sont usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Nous concluons que *Peganum harmala* a un potentiel intéressant qui pourrait être utilisé de manière raisonnée dans le traitement de l'inflammation, et comme nouvelle molécule anti-inflammatoire.

En fin, l'ensemble de ces résultats restent une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active dans la phase organique, il est souhaitable de refaire l'étude électrochimique en présence du radical $O_2^{\bullet-}$, qui sera détectée par son courant d'oxydation durant le balayage inverse en milieu organique. Il sera intéressant pour

Chapitre IV : Conclusion et perspectives

suivre cette étude, concernant l'identification des molécules bioactives dans la phase aqueuse et connaître les substances dans cette phase et leur mécanisme d'action et leur effet pharmacologique sur la santé publique et confirmer la capacité antioxydante dans la phase aqueuse.

Références bibliographiques

- Abollino, O., Giacomino, A., Malandrino, M.** (2018). Stripping Voltammetry. Reference Module in Chemistry. Molecular Sciences and Chemical Engineering, **2**.
- Achterberg, E. P., Gledhill, M., Hawkes, J.A., Avendano, L.C.** (2004). Voltammetry, Cathodic Stripping, in Encyclopedia of Analytical Science, edited by P. J. Worsfold, A. Townshend, C. F. Poole, 2nd Edition, , Elsevier. ISBN: 0-12-764100-9
- Asgarpanah, J., Ramezanloo, F.** (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganumharmala* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6(22)**,1577-1578.
- Astulla A., Zaima K., Matsuno Y., Hirasawa Y., Ekasari W., Widyawaruyanti A et al, 2008 :** Alkaloids
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., 2009 :** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* **112**, 303–9.
- Babu, P.V.A., Liu, D.** (2009). Flavonoids and Cardiovascular Health. *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*, 371–392.
- Bakiri N., Bezzi M., Khelifi L. et Khelifi-Slaoui M., 2016.** *Revue Agriculture*. Numéro spécial, **1**, 38 – 42.
- Bellakhdar J., 1997:** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Saint Etienne, 764 p.
- Benzie F. F. et Strain J. J., 2005 :** Antioxidants Diet and Antioxidant Defense Encyclopedia of Human Nutrition (Second Edition). Pages 117-131.
- Blois M. S., 1958 :** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958.1199–1200.
- Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A., 2002:** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes. Metab*, **10**,33–50 **8**,839–45.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J., Durand G., Jardillier J. C., 2003 :** Radicaux libres et antioxydants. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires : Médecine-sciences Flammarion Paris 9-81.
- both regulatory and effector CD4 T cells. *FASEB J.* **29**, 443–454.
- Brnhidj-bentoune, N., Dahmane, T., Aknouche, F., Dermmouche, K.** (2015). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganumharmala* L. récoltées dans la région de Msila. *Sciences & Technologie*, **42(3)**, 21-30.
- Bruneton J., 1993 :** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. 2ème Ed Lavoisier Paris.
- Chen, X., Willette-Brown, J., Wu, X., Hu, Y., Howard, O.M.Z., Hu, Y., and Oppenheim, J.J.
- Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., Mattei, J.** (2018). Le rôle des polyphénols dans la santé humaine et les systèmes alimentaires : une mini-revue. *Frontières en nutrition*, **5**, 87.
- Cuvillon, P., Viel, E., 2002:** Anti-inflammatoires non stéroïdiens anti-COX-2. Une nouvelle approche thérapeutique de la douleur aiguë ? *Le Courrier de l'algologie* (1), 19-23.

- Cuvillon, P., Viel, E., 2002:**Anti-inflammatoires non stéroïdiens anti-COX-2. Une nouvelle approche thérapeutique de la douleur aiguë ? *Le Courrier de l'algologie* (1), 19-23.
- Das K., Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K., 2010:** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4(2)**, 104-111.
- Das K., Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K., 2010:** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4(2)**, 104-111.
- Djidel S, Khennouf S, Ameni D, Baghiani A, Arrar L, Charef N.** Antioxidant proprieties of *Pistacialentiscus* L. Leaves extracts. *PhcogComm*. 3:28-34 (2013).
- El-Haci I. A., Atik-Bekkara F., Didi A., 2012 :** Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie***10**, 280–5.
- Fan Z.R., Yao X.S., 1992:** Studies on the constituents and pharmacological effects of *Peganum*. *J. Shenyang. Coll. Pharm* 9, 144-151.
- Favier A. 2003:**Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualitéchimique*, 108 -115.
- from the seeds of *Peganum harmala* showing antiplasmodial and vasorelaxant activities. *J. Nat. Med***62**,470–2.
- Georgé S, Brat P, Alter P, &Amiot JM., 2005:** Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plantderived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1370-1373.
- González D, Ancín-Azpilicueta C, Arán VJ, Guillén H., 2010:** Bêta-Carboline alkaloids in *Peganumharmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food. Chem. Toxicol*.
- Guergour, H., Allouni, R., Bouzidi, A. (2018).**Phytochemical Screening, Antioxidant Activity of the Various Extracts from *Peganumharmala* (Zygophyllaceae).*Der Pharma Chemica*, **10(3)**, 146.
- Halliwell B., 1994 :** Free radicals and antioxidants : à personal view. *NutrRev***52**, 253-265.
- Henzen, C. 2003:** Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. *In Schweiz Med Forum*, Vol. **19**, pp. 442-6).
- Herraiz T., González D., Ancín-Azpilicueta C., Arán V.J., Guillén H., 2010 :** β -Carbolinealkaloids in *Peganumharmala*and inhibition of humanmono-amineoxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicologie*. 48:839-845.
- Hua S., Xiaoli H., Yuanming Z., Chi Z., 2013 :**Main Alkaloids of *Peganumharmala* L. and Their Different Effects on Dicot and Monocot Crops. *Molecules* 18:2623-2634.
- Huang D. J., Lin C. D., Chen H. J., Lin Y. H., 2004 :** Antioxidant and anti proliferative activities of sweet potato (*Ipomoeabatatas*L. Lam 'Tainong 57') constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin* 45, 179–186
- JinousAsgarpanah.(2012).** Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganumharmala* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6(22)**,1578.
- Josephine Ozioma, E.O., Antoinette NwamakaChinwe, O. (2019).** Herbal Medicines in African Traditional Medicine.*Herbal Medicine*, 192.

- Kessel L., Tendal B., Jorgensen K.J., Erngaard D., Flesner P. andresen J.L. and Hjortdal J., 2014:** Postcataract prevention of inflammation and macular edema by *steroid and nonsteroidal antiinflammatory eye drops*. *Ophthalmology*, **121(10)**, 1915-1924.
- Khan NissarAhmad,RainaAamir, Wagay Nasir Aziz andTantrayYounas Rasheed., 2017:** Distribution, Status, Pharmacological, and Traditional importance of Peganumharmala L. *International journal of Advance Research in Science and Engineering*.**6**, (6), Issue No.08.
- Khlifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., &Bouajila, J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Rutachalpensis* L. and *Peganumharmala* L. *Food and Chemical Toxicology*, **55**, **205**.
- Koechlin-Ramonatxo C. 2006:** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. **20**, 165-177
- Lamchouri F. A., SettafY., Cherrah M. N. El Hamidi.,Tligui .B, M. Lyoussi and Hassar :**Annales pharmaceutiques françaises. 2002,123-129in Lebanese Science Journal, Vol. 14, No. 1, 2013.
- Lebham., 2005 :** Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM) - Université de Bretagne Occidentale (UBO).P65
- Leporatti M, Ghedira k., 2009:** Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *J. Ethnobioloethnomed* 5-31.
- Li, S., Thomas, A. (2020).**Emerged carbon nanomaterials from metal-organic precursors for electrochemical catalysis in energy conversion.*Advanced Nanomaterials for Electrochemical-Based Energy Conversion and Storage*, 400.
- Liu, X., Li, M., Tan, S., Wang, C., Fan, S., Huang, C. (2017).** Harmine is an inflammatory inhibitor through the suppression of NF- κ B signaling.*Biochemical and biophysical research communications*, **489(3)**, 332–338.
- Locatelli M., Travaglia F., Coisson J. D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., 2010 :** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*NocciolaPiemonte* PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry* **119**, 1647-1655.
- Locatelli M., Travaglia F., Coisson J. D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., 2010 :** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*NocciolaPiemonte* PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry* **119**, 1647-1655.
- Ma Z.Z., Hano Y., Qiu F., 2007:** Triterpenoids from *Peganumigellastrum*. *J. Asian. Nat. Prod. Res* **9**, 575-578.
- Madhuri V., Darshan S.K. and Kent L.E., 2008.** Health effects of foods rich in polyphenols. In: Wild-type food in health promotion and disease prevention. Humana Press Inc., Totowa, pp. 393-412.
- Mahmoudian M, Jalipour H, SalehianDardashti, P. (2002).** Toxicity of Peganumharmala: *Review and a Case Report*. **1(1)**, 1.
- Mahmoudian M., Jalipour H., Dardashti, PS. 2002:** Toxicity of *Peganumharmala*: review and a case report. *Iran. J. Pharmacol. Ther* **1**, 1-4.

- Mahomoodally, M.F.** (2013). Traditional Medicines in Africa: An Appraisal of Ten Potent African Medicinal Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1.
- Malecky M., 2005** : Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, 9- 13-19, 20, 27p.
- Markham KR 1982**: Chapter.1 and 2. Techniques of flavonoid identification. Academic press, (London), 1-113
- Marwat, S.K., Rehman, F.U.** (2011b). Medicinal and Pharmacological Potential of Harmala (*Peganumharmala* L.) Seeds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 597.
- Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB., 2011**: Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. var sativa. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. Var sativa. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9 (2011).
- Mbuni, Y.M., Wang, S., Mwangi, B.N., Mbari, N.J., Musili, P.M., Walter, N.O., Hu, G., Zhou, Y., Wang, Q.** (2020). Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Local Communities around Cherangani Hills, Western Kenya. *Plants (Basel, Switzerland)*, **9(3)**, 331.
- Mfotie Njoya, E.** (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. *Cancer*,
- Mokkadem, A.** (1999). Cause dégradations des plantes médicinales aromatique d'Algérie. *Revue vie et Nature* n°7, **24**, 26.
- Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M., Shayegh, J.** (2013a). Pharmacological and therapeutic effects of *Peganumharmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy Reviews*, **7(14)**, 204.
- Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M., Shayegh, J.** (2013b). Pharmacological and therapeutic effects of *Peganumharmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy Reviews*, **7(14)**, 208.
- Motamedifar, M., Khosropanah, H., Dabiri, Sh.** (2016). Antimicrobial Activity of *Peganumharmala* L. on *Streptococcus mutans* Compared to 0.2% Chlorhexidine. *J Dent Shiraz Univ Med Sci., September*; **17(3)**, 214.
- Nedjimi, B.** (2020). Germination characteristics of *Peganumharmala* L. (Nitrariaceae) subjected to heavy metals: implications for the use in polluted dryland restoration. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **17**, 2113–2122.
- Neyestani T.R. 2008**: Polyphenols and immunity. In: Wild-type food in health promotion
- Nnamchi, P.S., Obayi, C.S.** (2018). Electrochemical Characterization of Nanomaterials. *Characterization of Nanomaterials*, 117.
- Ozenda, P.** (1991). Flore et végétation du Sahara 3ème édition, augmentée. Ed CNRS, Paris, 662.

- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R.** (2016). Flavonoïdes : un aperçu. *Journal de la science nutritionnelle*, **5**, 47.
- Passos, I.D., Mironidou-Tzouveleki, M.** (2016). Hallucinogenic Plants in the Mediterranean Countries. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse*, **2**, 763.
- Pellegrini A., Proteggente A., Pannala M., Yang C., 1999** : Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med* **26**, 1231- 1237. Inthèse de doctorat l'universite Toulouse III- paul Sabatier. Publisher, Dordrecht. *The Nether- lands*. 2002; 74: 221-27.
- Pursell, J.J.** (2015). *The Herbal Apothecary: 100 Medicinal Herbs and How to Use Them* (1re éd.): Timber Press.
- Ramadhan, U.H.** (2013). Study the effect of *Peganumharmala* L. Alkaloids Extract *in-vivo* as Anti-inflammatory Agent. *University of Thi-Qar Journal of Science*, **3(4)**, 58-64.
- Rayman M. P., 2000** : The importance of sélénium to human Heath. *Lancet* **356**, 233-241.
- Risser A., Donovan D., Heintzman, J., 2009**: NSAID prescribing precautions. *American family physician*, **80(12)**, 1371-8.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q.** (2021b). Improving health benefits with considering traditional and modern health benefits of *Peganumharmala*. *ClinicalPhytoscience*, **7(1)**, 1-2.
- Sharaf M., El-ansari M.A., Stephen A. M.,Nabiel A.M.S., 1997** : Four flavonoid glycosides from *Peganumharmala*. *Phytochemisrry* 44 :(3), 533-536.
- Siddiqui S., Khan O.Y., Faizi S., Siddiqui B. S., 1988**: Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganumharmala*: Isolation and structure elucidation of two β -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles*, **27**, 1401-1410.
- Sofowora, A., Cepleanu, F., Hostettmann, K.** (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique (ECONOMIE ET DEV)* (KARTHALA éd.). France: KARTHALA
- Sorg O. 2004**: Oxidative stress: a theoretical model or à biological reality. *ComptesRendusBiologies*.**327**, 649- 662.
- TALBI, S., KACEM, R., DAHAMNA, S., LEKIREN, N., REZZAGUI, A., & MANSOURI, W.** (2012). *ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DES GRAINES DE PEGANUM HARMALA*. University Ferhat Abbas Setif1, 189. Consulté à l'adresse
- Tang S. Y., Halliwell B., 2010** : Medicinal plants and antioxydants : What do we learn from cell. Culture and Caenorhabditis elegans studies ? *Biochemical and Biophysical Research Communications* **394**, 1-5.
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006** : Free radicals metals and antioxydants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* **16** ,1-40.
- Williams L., Vasquez E., Milan P., Zebitz C., Kraus W.** In vitro anti-inflammatory and anti-microbial activities of phenylpropanoids from Piper betle (Piperaceae). In *Proceeding of the Phytochemical Society of Europe: Natural products in the new millennium: Prospects and industrial application*. AP Rauter, PB Palma, J. Justino, Araujo ME, Santos SP (Eds). Kluwer Academic
- Yepez B., Espinosa M., López S. and Bolaños G., 2002**: Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by *supercritical fluid extraction*, *Fluid Phase Equilibria* 194-197, 879-884.

Zharekeev B.,Khashimov K.,Telezhenetskaya M.,&Yunusov S., 1974: New alkaloids from *Peganumharmala*. Chem Nat Compd 10: 282-283.

Zweier J.L. and Hassan Talukder M.A., 2006: The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovas. Res.* **70(2)**, 181-190.