

UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARREIDJ

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
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 بوعرييرج

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

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARREIDJ

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

Effet de température sur l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante *Peganum harmala*

Présenté par : BENALIA Rima
BOUSSOUAR Hala

Devant le jury :

| | | | |
|--------------|--------------------------|-----|------------|
| Président: | M ^r BELIK. Y | MCA | (Univ BBA) |
| Encadrant: | M ^r DIAFAT. A | MCA | (Univ BBA) |
| Examineur 1: | M ^m FATMI .W | MCB | (Univ BBA) |

Année universitaire: 2017/2018

Remerciement

En premier lieu, nous remercions ALLAH «Tout puissant» d'avoir nous accordé la force, la patience et le courage de réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à présenter nos profondes gratitudee à notre encadreur Docteur DIAFAT Abdelouhab pour son aide, son encouragement, qui nous a fait bénéficier de son savoir, de son expérience et de ses précieux conseils afin de perfectionner ce travail et d'avoir accepté l'encadrement de ce mémoire.

Nous tenons à remercier ainsi le président de jury, Mr BELLIK.Y et l'examinatrice madame FATMI.W d'avoir accepté d'évaluer notre travail

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe des laboratoires de biochimie phyto, chimie, laboratoire T3 et laboratoire de recherche en particulier : Mounira, Wassima, Khalil, Fouad, Sabrina, faiza, Nadjat et Amina

Enfin nous devons remercier beaucoup tous les profs qui travaillent avec conscience et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Tout d'abord je remercie Allah le tout puissant pour m'avoir donné la force nécessaire et le courage pour mener à bien ce travail. Nous te prions de nous aider davantage à percer dans la recherche du savoir.

Je dédie ce modeste travail

À ma très chère mère Hania

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

À mon très cher père Mouloud

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Sans vous rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

À mes adorables sœurs

Nana Ouardia, Khira et son mari Saleh et Zina et son mari Ahmed et ses enfants Romayssa, Ali et Firas

Que Dieu les garde en bonne santé et leurs offres un bonheur éternel.

À mes très chers frères

Noureddine didou, Yazid et sa femme Fahima et ses enfants Assil et Raid, Khlifa et sa femme Nawel et son enfant Baraa Abd Eljalil,

Qui m'ont toujours soutenu, encouragés et poussés à donner le meilleur de moi-même.

À mon mari Flhadi

En témoignage de ma gratitude pour son écoute, sa patience, son soutien et son encouragements dans les moments difficiles, sans lui rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

À toutes sa familles surtout Asma et Nour.

À tous les membres de ma famille, petits et grands. À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

À tous mes amies surtout Djamilla et Hala et je n'oublie pas Achwak, Atmani, Wissam et Jina

Que dieu vous protège tous

Rima

Dédicace

C'est grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie :

A La femme qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A ma très chère mère

Qui est le symbole de la bonté et le sacrifice par excellence, la source de tendresse, Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites, en ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

Merci d'être ma mère.

A La personne qui m'a appris à compter sur moi-même et à me promouvoir

A mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes sœurs

*samira et son mari omar et ses enfants yousra , merieme, zaki, yahia et taouba .
siham et son mari M cherif, leila est son mari farid est ses enfants amina amine et
ilyas. fouzia est son mari fadi*

Ames frères

bouhou est sa femme souad et ses enfant ouafa , fouaz et hanine.

Said et sa femme hiziya est sa petite manar

Yacine et sa femme Roumila et sa petite lilia

Morad et taha et sa fiancée Asma

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite

A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation

Hala

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction 01

Chapitre I: synthèse bibliographique

| | |
|---|----|
| I.1. La médecine traditionnelle | 03 |
| I.1.1. Définition..... | 03 |
| I.2 .Les plantes médicinales | 03 |
| I.2.1. Définition..... | 03 |
| I.2.2. Action des plantes médicinales..... | 03 |
| I.2.3. Parties utilisées et mode d'utilisation..... | 03 |
| I.2.4. Avantages des Phytomédicaments | 04 |
| I.2.5. Exemples des plantes médicinales | 04 |
| I.3. <i>Peganum harmala</i> | 06 |
| I.3.1. Description..... | 06 |
| I.3.2. Classification botanique | 06 |
| I.3.3. Habitat | 07 |
| I.3.4. Compositions chimiques | 07 |
| I.3.5. Parties utilisées du Harmel | 07 |
| I.3.6. Usage médical traditionnel | 07 |
| I .4. Le stress oxydant..... | 08 |
| I.4.1. Définition | 08 |
| I.4.2. Les radicaux libres | 08 |
| I.4.3. Les espèces réactives de l'oxygène | 08 |
| I.4.4. Espèces azotées réactives..... | 09 |
| I.4.5. Conséquences moléculaires du stress oxydatif | 09 |
| I.4.5.1. Oxydation des lipides | 09 |
| I .4.5.2. Oxydation des protéines | 10 |
| I.4.5.3. Oxydation d'ADN | 10 |
| I.4.5.4. Oxydation des glucides | 11 |

| | |
|--|----|
| I.4.6. Antioxydants | 11 |
| I.4.6.1. Antioxydants enzymatiques..... | 11 |
| I.4.6.2. Antioxydants non enzymatiques | 12 |
| I.5. L'inflammation | 13 |
| I.5.1. Définition | 13 |
| I.5.2. Types de l'inflammation..... | 13 |
| I.5.2.a. Inflammation aigue..... | 13 |
| I.5.2.b. Inflammation chronique..... | 13 |
| I.5.3. Différentes étapes de l'inflammation..... | 13 |
| I.5.3.1. Phase vasculo- exsudative | 13 |
| I.5.3.2. Phase de réaction cellulaire | 13 |
| I.5.3.3. Déterision | 13 |
| I.5.3.4. Réparation et la cicatrisation | 14 |
| I.5.4. Maladies inflammatoires | 14 |

Chapitre II: Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| II. Matériel et Méthodes | 15 |
| II.1. Matériel biologique..... | 15 |
| II.1.1. La plante : <i>Peganum harmala</i> | 15 |
| II.1.2. Les animaux..... | 15 |
| II.2. Méthodes..... | 15 |
| II.2.1. Préparation des extraits de <i>Peganum harmala</i> | 15 |
| 1. Extraction des huiles fixe par Soxhlet..... | 15 |
| 2. l'étude de l'ffet de la température sur l'extraction | 16 |
| 2.1. Macération | 16 |
| 2.2. Décoction..... | 16 |
| II.2.2. Dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes | 16 |
| II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 16 |
| II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes | 17 |
| II.2.3. Activités biologiques de la plante..... | 17 |
| II.2.3.1. Évaluation de l'activité antioxydant des différents extraits | 17 |
| II.2.3.1.1. Effet piègeur de radical DPPH | 17 |
| II.2.3.1.2. Réduction des ions de fer (Pouvoir réducteur)..... | 18 |
| II.2.3.2. Activité anti inflammatoire | 18 |
| II.2.3.3. Analyse statistique..... | 19 |

Chapitre III: Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| III.1. Le rendement d'extraction..... | 20 |
| III. 2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes..... | 21 |
| III. 2.1. Teneur en poly phénols..... | 21 |
| III.2.2. Teneur en flavonoïdes | 22 |
| III.3. Activités biologiques | 23 |
| III.3.1. Activité Antioxydant..... | 23 |
| III.3.1.1. Inhibition du radical DPPH | 23 |
| III.3.1.2. Pouvoir réducteur de fer..... | 25 |
| III.3.2. Activité anti-inflammatoire (anti-œdémateux).... | 26 |
| Discussion..... | 28 |
| Conclusion..... | 33 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BHA: Butyl hydroxy anisole.

CI50 : concentration inhibitrice de 50%.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EQ : Equivalent de quercitine.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

DPPH: 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil.

NO: oxyde nitrique.

NOS: Nitric oxide synthase.

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PBS : Phosphate Buffered Saline

Liste des figures

| | |
|---|-----------|
| Fig. 01: <i>Marrubium vulgare</i> L..... | 04 |
| Fig. 02: <i>Artemisia herba alba</i> | 05 |
| Fig.03: Les feuilles fraîches d' <i>Eucalyptus globulus</i> | 05 |
| Fig. 04: Différentes partie de <i>Peganum harmala</i> | 06 |
| Fig. 05: Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental..... | 09 |
| Fig. 06: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés..... | 10 |
| Fig. 07: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules..... | 11 |
| Fig. 08: Principales voies d'oxydation présentes dans les organismes vivants et les principaux systèmes..... | 12 |
| Fig.09: Les étapes d'extraction des huiles | 15 |
| Fig. 11: Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> | 21 |
| Fig.13: Teneur des flavonoïdes des différents extraits de <i>P harmala</i> | 22 |
| Fig. 15: Le pourcentage d'inhibition des différents extraits des grains de <i>P.harmala</i> | 23 |
| Fig. 16: Le pourcentage d'inhibition d'extrait huileux des grains de <i>P.harmala</i> | 24 |
| Fig. 18: Courbes de reduction de fer par les standards | 25 |
| Fig. 19: La réduction de fer par les différents extraits macérés..... | 25 |
| Fig. 20: Courbes de reduction de fer par l'extrait de la décoction et l'huile..... | 26 |
| Fig. 21: Les résultats de l'activité anti-inflammatoire..... | 27 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau 1: Le rendement d'extraction de différents extraits et le rendement de l'huile..... | 21 |
| Tableau 2: IC50 des différents extraits aqueux de <i>peganum harmala</i> pour le teste de DPPH et le standard..... | 24 |

Résumé

Peganum harmala (L) connue sous le nom harmal est une plante médicinale de la famille des Zygophyllaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne.

Dans le présent travail trois méthodes d'extraction ont été utilisées pour la préparation des différents extraits à partir des grains de cette plante: la décoction, l'extraction des huiles par soxhlet et la macération aqueuse dans les différentes températures et l'évaluation de l'activité antioxydante et anti inflammatoire.

Les rendements d'extraction sont de l'ordre de 7,4% et 14,7% pour le macérât aqueux à différentes températures et de 12,8%; 14,35% pour la décoction et l'huile respectivement. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par les méthodes colorimétriques (folin-ciocalteu et la $AlCl_3$) a montré que l'extrait huileux et les extraits de 4°C et de 60°C sont les plus riches en ces composés avec des teneurs en polyphénols de $36,13 \pm 0,2772$, $11,46 \pm 1,721$ et $8,727 \pm 0,3575$ μg EAG/mg d'extrait des grains secs respectivement et des teneurs en flavonoïdes de $26,22 \pm 0,169$, $13,97 \pm 0,05774$ et $13,40 \pm 0,3032$ μg EQ/mg d'extrait des grains secs respectivement.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer a indiqué que l'extrait aqueux de 25°C représente une forte activité de piégeage de radicale DPPH tandis que l'extrait de 60°C représente la faible activité antioxydante. Par contre le pouvoir réducteur de l'extrait à 60°C représente une forte activité tandis que l'extrait de 25°C à une faible capacité réductrice. La décoction et l'extrait huileux ont des activités antioxydantes faibles.

L'extrait aqueux de décoction inhibe l'inflammation aigue de l'oreille induite par le xylène de la même manière que le diclofenac.

Mots clés: *Peganum harmala*, l'activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, pouvoir réducteur, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Peganum harmala (L) known as harmal is a medicinal plant of the family Zygophyllaceae, widely used in traditional Algerian medicine.

In the present work, three extraction methods have been used for the preparation of the various extracts from the grains of this plant: the decoction, the extraction of the oils by soxhlet and the aqueous maceration in the different temperatures and the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity.

The extraction yields are of the order of 7.4% and 14.7% for aqueous macerate at different temperatures and 12.8%; 14.35% for decoction and oil respectively. Quantitative estimation of total polyphenols and flavonoids by colorimetric methods (folin-ciocalteu and AlCl₃) has shown that the oily extract and extracts of 4 ° C and 60 ° C are the richest in these compounds with polyphenols contents of 36.13 ± 0.2772 , 11.46 ± 1.721 and 8.727 ± 0.357 µg EAG/ mg dry grains extract respectively and flavonoids contents of 26, 22 ± 0.1691 , 13.97 ± 0.05774 and 13.40 ± 0.3032 µg EQ/ mg dry grains extract respectively.

The evaluation of the antioxidant capacity that was carried out by the DPPH free radical scavenging method and the iron reduction method indicated that the aqueous extract of 25°C represents a strong DPPH radical scavenging activity while the 60°C extract represents the low antioxidant activity. On the other hand, the reducing power of the extract at 60°C represents a strong activity while the extract of 25°C has a low reducing capacity. Decoction and oily extract have low antioxidant activity.

The aqueous decoction extract inhibits acute inflammation of the ear induced by xylène in the same manner as diclofenac.

Key words: *Peganum harmala*, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, DPPH, reducing ability, anti-inflammatory activity.

المخلص

Peganum harmala L المعروف تحت اسم "harmal" هو نبات طبي من عائلة Zygophyllaceae ، وتستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري.

استعملنا ثلاثة طرق لإعداد مختلف مستخلصات بذور هذا النبات: مغلي، واستخراج الزيت باستخدام عملية Soxhlet والنقع المائي في درجات حرارة مختلفة. يكون مردود الاستخلاص محصورا بين 7.4 % و 14.7 % للمنقوع المائي في مختلف درجات حرارة و 12.8% و 14.35% لمغلي النبتة والزيت وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للالتهاب .

وقد أظهر التقدير الكمي للبوليفينول الكلي والفلافونويد بواسطة طرق التقدير اللوني (folin ciocalteu و AIC13) أن المستخلصات الزيتية ومستخلصات 4 درجة مئوية و 60 درجة مئوية هي الأكثر ثراءً في هذه المركبات بمحتويات البوليفينول (13,36 ± 2772,0)، (46,11 ± 721,1) و (3575,0 ± 727,8) mg EAG / µg من مستخلص الحبوب الجافة على التوالي ومحتويات الفلافونويد 0.1691 ± 26.22، 0.05774 ± 13.97 و 13.40 ± 0.303 µg EQ / mg d من مستخلص الحبوب الجافة على التوالي.

أشار تقييم القدرة المضادة للأكسدة التي أجريتها بطريقة ازاحة الجذور الحرة DPPH وطريقة ارجاع ذرات الحديد إلى أن المستخلص المائي لـ 25 درجة مئوية هو الأكثر نشاطا في ازاحة جذور الـ DPPH في حين ان مستخلص 60 درجة مئوية له قدرة اقل في ازاحة جذور DPPH. مستخلص 25 درجة مئوية له قدرة صغيرة في ارجاع ذرات الحديد في حين ان مستخلص 60 درجة له قدرة اكبر.

اما بالنسبة للنشاط المضاد للالتهاب وجدنا ان المستخلص المغلي يثبط الالتهاب المسبب بال xylène في الاذن للفار بصفة معتبرة مقارنة مع دواء diclofenac.

كلمات مفتاحيه : *Peganum harmala* ، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، قدرة الارجاع ، مادة البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للالتهاب .

Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples en s'efforçant quand ils le pouvaient de les consigner par écrit. Ainsi, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (**Benkhniue *et al.*, 2011**).

Depuis la fin du XIXe siècle, la thérapeute a énormément évolué pour arriver à sa forme actuelle en utilisant certaines plantes médicinales comme matière première. En particulier, pour extraire des principes actifs, d'après l'empirisme n'est plus de mise. Ils ont pu isoler, identifier et analyser certaines substances actives contenues dans les végétaux utilisés en thérapeutique (**Bhidj-Benyounes *et al.*, 2013**).

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la physiopathologie des maladies inflammatoires (**Favier, 2003**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, Mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (**Bourgaud *et al.*, 2001**) d'une part et anti-inflammatoires d'une autre part.

La thérapie des maladies inflammatoires repose principalement sur l'administration des médicaments anti-inflammatoires ou immunosuppresseurs. Bien que plusieurs études aient montré leurs efficacités dans la plupart des cas, ces médicaments sont souvent associés à des effets secondaires néfastes qui limitent leur utilisation. La réponse thérapeutique à un médicament est extrêmement variable selon les individus, tant au niveau de son efficacité qu'au niveau de sa toxicité. Ces différences de réponse représentent un problème médical et de santé publique important. Les plantes médicinales peuvent être considérées comme une thérapie naturelle (**Siegel, 2011**).

L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3 000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Dif *et al.*, 2015**).

Le *peganum harmala* est l'un des espèces de famille Zygophyllaceae qui est largement distribué surtout dans les régions arides et semi arides. Cette plante est connue pour leur usage traditionnel dans la population algérienne comme un antiseptique, anti-inflammatoire, analgésique et en dermatologie...

Partant de ces données, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des activités biologiques des extraits obtenus par trois méthodes d'extraction essentiellement la macération aqueuse à différentes températures des grains de cette plante a savoir:

- ✓ L'étude quantitative de teneur des substances naturelles (polyphénols /flavonoïdes) dans ces extraits.
- ✓ L'étude de leur capacité anti oxydante notamment: le piégeage du radical-libre DPPH et la réduction des molécules de fer.
- ✓ L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'un des extraits étudiés.

Ce document est divisé en deux parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique avec un accent sur la plante, le stress oxydant et l'inflammation et une deuxième partie expérimentale suivée des résultats et discussion et une conclusion.

I.1. Médecine traditionnelle

I.1.1. Définition

Selon l'OMS: « La médecine traditionnelle existe depuis toujours: elle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales».

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc...) ont eu recours aux plantes médicinales après les pratiques médicales et la thérapie spirituelle utilisé pendant cette période pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, agro-alimentaires et industrielles (**Lahsissene et al., 2009**).

I.2. Plantes médicinales

I.2.1. Définition

Les plantes médicinales sont utilisées en médecine traditionnel dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Sanogo, 2006**). Elles ont chacune plusieurs propriétés que les tradipraticiens exploitent pour soigner de nombreuses affections (**Konkon et al., 2006**).

I.2.2. Action des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, on les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie: elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Chevallier et al., 1997**).

I.2.3. Parties utilisées et mode d'utilisation

Diverses parties sont prélevées sur la plante pour préparer les médicaments. Les feuilles sont majoritairement utilisées (31 %); ensuite viennent l'écorce du tronc (25 %), les racines (23 %) et les fruits (10 %). Seules ou associées, ces parties de plantes interviennent dans l'élaboration de plusieurs recettes médicamenteuses. Les principaux modes de préparation des médicaments sont la décoction (58 %), la trituration (17 %) et la macération aqueuse (11 %). La boisson (65 %) demeure la principale voie d'administration des médicaments contre 35 % pour les applications externes (bains, purges, gargarismes, massages, fumigations, pansements) (**Zerbo et al., 2011**).

I.2.4. Avantages des Phytomédicaments

Contrairement aux produits pharmaceutiques synthétiques basés sur des produits chimiques simples, de nombreuses phytomédicaments exercent leurs effets bénéfiques par l'action additive ou synergique de plusieurs composés chimiques agissant sur des sites cibles uniques ou multiples associés à un processus physiologique. Cet effet pharmacologique synergique ou additif peut être bénéfique en éliminant les effets secondaires problématiques associés à la prédominance d'un seul composé xénobiotique dans le corps (**Briskin, 2000**).

I.2.5. Exemples des plantes médicinales

***Marrubium vulgare* L**

Le marrube blanc ou marrube commun, plante herbacée vivace assez commune dans la région méditerranéenne. Cette plante est traditionnellement utilisée pour le traitement de divers maux. En Algérie, le marrube blanc est utilisé en médecine folklorique contre la diarrhée, le diabète, le rhumatisme, le rhume et les douleurs respiratoires (Fig. 01) (**Bouterfas et al., 2014**).



Fig. 01: *Marrubium vulgare* L (**Rodríguez Villanueva, 2017**).

Artemisia herba-alba

Communément connu sous le nom de l'absinthe du désert (nom arabe: Sheeh), est un arbuste vivace, fortement aromatique (**Hudaib et Aburjai, 2006**). Pousse à l'état sauvage dans les zones semi-arides ou arides tout autour du bassin méditerranéen (**Zouari et al., 2010**). Cette plante est utilisée comme aromatisant pour le thé et dans la médecine traditionnelle pour le traitement du rhume, de la toux, des troubles intestinaux et comme agent antidiabétique pour la bronchite, la diarrhée, les névralgies et l'hypertension (Fig. 02) (**kadri et al., 2011**).



Fig. 02: *Artemisia herba alba* (Boudjellal, 2013).

Eucalyptus globulus

L'eucalyptus est un antiseptique puissant, utilisé dans le monde entier dans le traitement des toux, rhumes, maux de gorge et autres infections. Révulsif et stimulant, il a été longtemps appliqué sur la poitrine en cataplasme ou en friction, mélangé à d'autres huiles. L'eucalyptus entre fréquemment dans la composition de nombreux remèdes courants contre le rhume (Fig. 03) (Chevallier *et al.*, 1997).



Fig. 03: Feuilles fraîches d'*Eucalyptus globulus* (Chevallier *et al.*, 1997).

I.3. *Peganum harmala*

I.3.1. Description

Peganum harmala est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante, d'une hauteur de 30 à 100 cm, à rhizome épais, son odeur forte, désagréable rappelant celle de la Rue (Iserin, 2001).

Peganum harmala a des tiges dressées, très rameuses disparaissent pendant l'hiver. Elles portent des feuilles alternées, découpées en lanières étroites qui restent vertes pendant une partie de la saison sèche. Les fleurs solitaires sont grandes (25 à 30 mm), d'un blanc jaunâtre vert. Elles sont formées de petites fleurs blanches à l'aisselle des rameaux et d'un fruit globuleux contenant plusieurs graines aplaties.

Les graines d'une couleur marron foncée. Les téguments externes sont réticulés et ont une saveur amère, avec une odeur particulière. La récolte se fait en été (Fig. 04) (Iserin, 2001).



a-Herbe de *P.harmala* b- Fleur de *P.harmala* c- Grains de *P.harmala*

Fig. 04: Différentes partie de la plante *Peganum harmala* (Asgarpanah, 2012).

I.3.2. Classification botanique

Selon la classification de Iserin (2001), le *peganum harmala* est classé:

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Sapinodales

Famille: Zygophyllaceae

Genre: Peganum

Espèce: *Peganum harmala* L.

I.3.3. Habitat

Peganum harmala est une plante originaire de la région méditerranéenne, mais pousse maintenant en Afrique, au Moyen-Orient, en Inde, en Amérique du Sud, au Mexique et dans le sud des États-Unis, l'est au nord de l'Inde, d'Asie centrale (**Kartal, et al., 2003**) et en Chine (**Cheng et al., 2009**). Elle pousse dans des conditions semi-arides, des zones de steppe et des sols sableux (**Berdai et al., 2014**) aussi originaire des régions arides et semi-arides d'Afrique du Nord (**Abbott et al., 2008**).

I.3.4. Compositions chimiques

P.harmala est très réputée pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes, ce qui la classe parmi les plantes hallucinogènes à effets psychotropes.

Les graines de *P.harmala* contiennent en effet des alcaloïdes de type β - carbolinique tels que l'harmaline, l'harmalol... ainsi que des alcaloïdes de type quinazolinique tels que la péganine... (**Cheng et al., 2009**).

I.3.5. Parties utilisées du harmel

Le harmel est utilisé beaucoup plus sous forme fraîche, notamment la partie feuillage, et les racines. Les parties végétales utilisées sont classées par ordre d'importance décroissante: les graines (38,10%), les feuilles (22,86%), les racines (18,10%), les tiges (7,62%), l'inflorescence (4,76%), la plante entière (4,76 %), et les fruits (3,8%). L'utilisation des grains est expliquée par la facilité de leur obtention chez les herboristes et leur stockage (**Bakiri, 2016**).

I.3.6. Usage médical traditionnel

Harmel est très utilisé en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine pour traiter différents troubles: gynécologiques: emménagogue, abortif, stérilité féminine généraux, hypnotique, antipyrétique, anti-inflammatoire, antalgique, antitussif, coliques, troubles digestifs (**Goel et al, 2009**).

La poudre des graines de la plante est utilisée pour traiter l'asthme, les coliques et les anthelminthiques. De plus, les graines ont un effet antiseptique, gastro-intestinale, urinaire, antispasmodique et anti périodique. La plante est également utilisée pour soigner les plaies, les parties du corps enflammées, la diarrhée et l'indigestion (**Marwat et al., 2008 ;Wazir et al., 2004**).

En médecine traditionnelle nord-africaine, la posologie des graines de harmel par ingestion est estimée à une cuillerée à café, soit environ 2,5 g des graines avalées telles

quelles avec un verre d'eau ou mélangées avec du miel ou pilées avec de l'huile d'olive (Djafer *et al.*, 2017).

I.4. Stress oxydant

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker *et al.*, 1982).

I.4.1. Définition

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Barouki, 2006).

I.4.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui ont un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs structures atomiques et qui sont très réactifs (Giugliano *et al.*, 1996), ces radicaux libres peuvent supporter une certaine charge, soit positif, négatif ou nul. Ils jouent aussi un rôle important dans la combustion, la chimie atmosphérique, la polymérisation, chimie du plasma et de nombreux autres processus chimiques (Bano *et al.*, 2012).

I.4.3. Espèces réactives de l'oxygène

Le dioxygène est susceptible de récupérer quatre électrons, mais ses capacités oxydantes sont limitées par une barrière cinétique importante (Barouki, 2006). L'anion superoxyde est formé par la réduction univalente de l'oxygène moléculaire à l'état triplet ($3O_2$). Ce processus est médié par des enzymes telles que les NADPH oxydases et la xanthine oxydase ou non par des composés redox-réactifs tels que le composé semi-ubiquinone de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale. Les SOD convertissent le superoxyde enzymatiquement en H_2O_2 . Dans les tissus biologiques, le superoxyde peut également être converti de manière non-enzymatique en peroxyde d'hydrogène non radiologique et en oxygène singulet ($1O_2$). En présence de métaux de transition réduits (Fe^{+2} , Cu^{+2}), le peroxyde d'hydrogène peut être converti en radical hydroxyle hautement réactif ($^{\circ}OH$). En variante, le peroxyde d'hydrogène peut être converti en eau par les enzymes catalase ou glutathion

peroxydase (Fig. 05) (Droge, 2002).

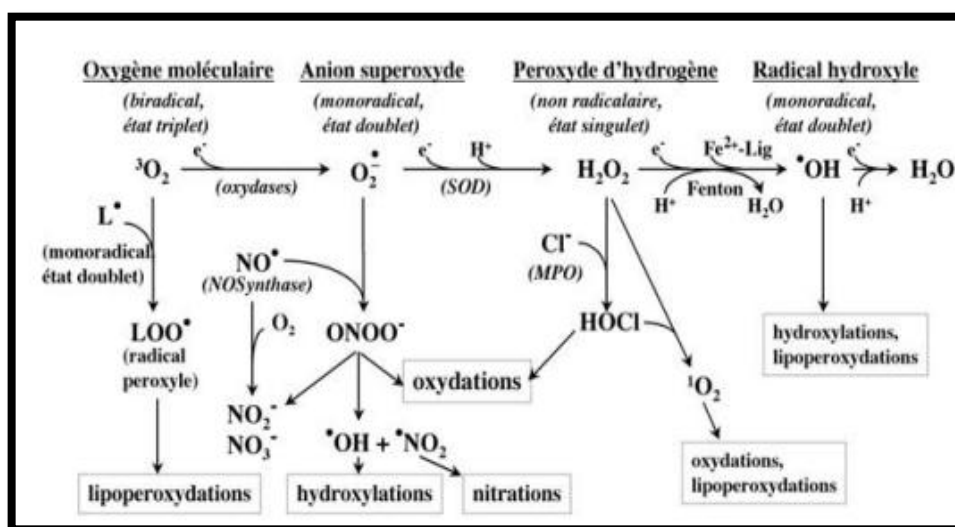


Fig. 05: Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental (Deby-Dupont *et al.*, 2002).

I.4.4. Espèces azotées réactives

Le radical NO (NO^\bullet) est produit dans les organismes supérieurs par l'oxydation de l'un des atomes terminaux de L-arginine. Ce processus est catalysé par l'enzyme NOS. Selon le microenvironnement; le NO peut être converti en diverses autres espèces azotées réactives (RNS): le cation nitrosonium (NO^+), l'anion nitroxyle (NO_2^-) ou le peroxydinitrite (ONOO^-). Certains des effets physiologiques peuvent être médiés par la formation intermédiaire de S-nitroso-cystéine ou de S-nitroso-glutathion (Droge, 2002).

I.4.5. Conséquences moléculaires du stress oxydatif

I.4.5.1. Oxydation des lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué (fig. 06), oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Favier, 2003).

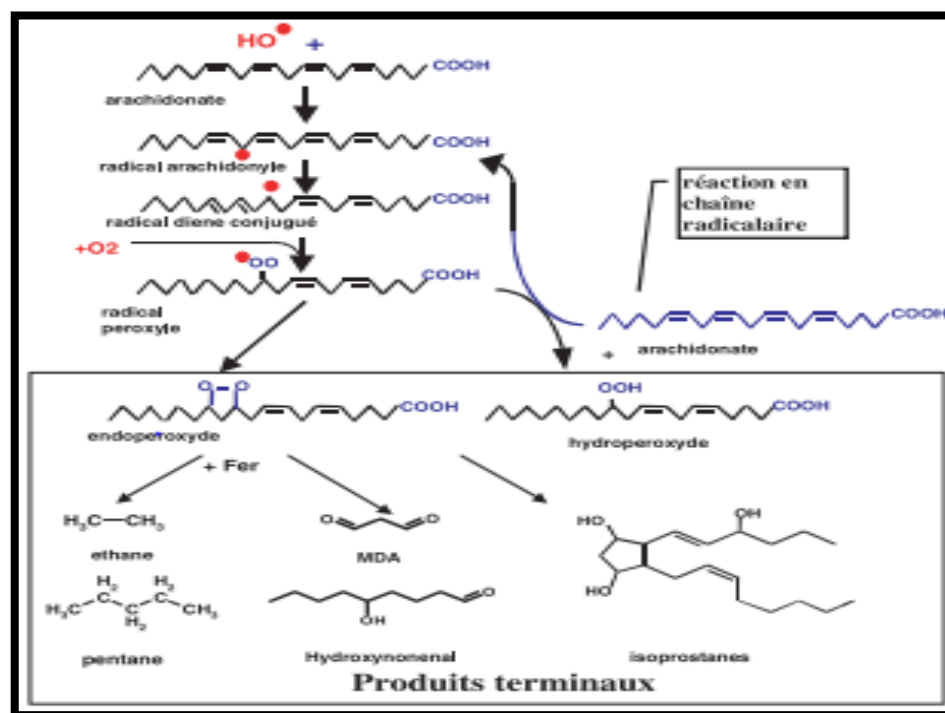


Fig. 06: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

I.4.5.2. Oxydation des protéines

Les dommages oxydatifs aux protéines impliquent l'oxydation des chaînes latérales des acides aminés et la fragmentation des polypeptides, car tous les acides aminés sont vulnérables à l'oxydation catalysée par les métaux. L'oxydation des protéines est le plus souvent représentée par la formation de dérivés carbonylés et peut conduire à une perte de la fonction catalytique ou structurale, rendant ces protéines sensibles à la dégradation protéolytique (Levine et Stadtman, 2001).

I.4.5.3. Oxydation d'ADN

Il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par $^\bullet\text{OH}$ peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées: 8 oxo guanine, 8 nitroguanine, formamidopyrimidine, 8 oxo adénine, formimido uracile, 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxy méthyl uracile, thymine diol, oxazolone (fig.07) (Favier, 2003)

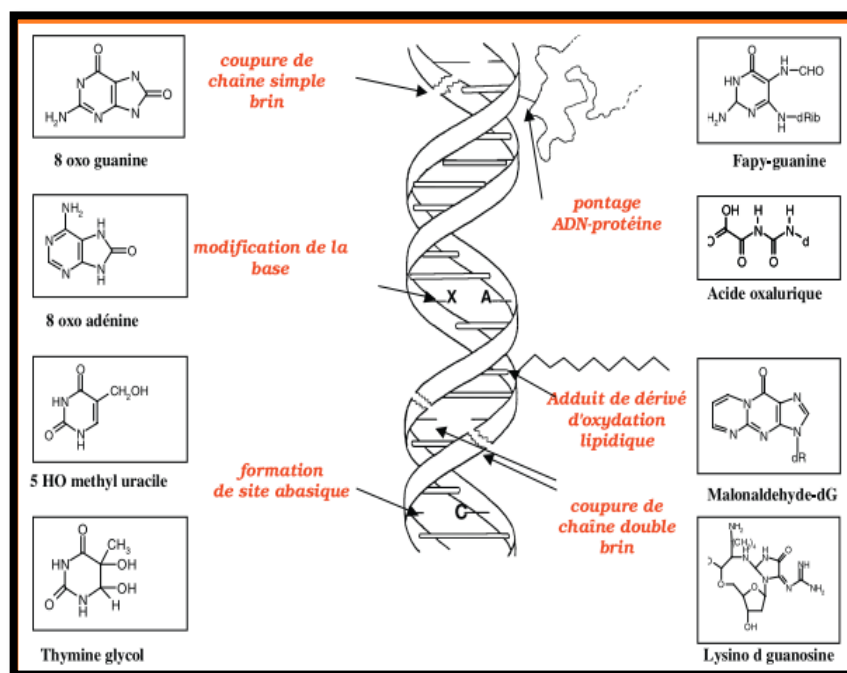


Fig. 07: Lésions de l'ADN formées par l'attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (**Favier, 2003**).

I.4.5.4. Oxydation des glucides

L'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH•, qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé AGE (**Favier, 2003**).

I.4.6. Antioxydants

Une large gamme des antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques existent dans l'environnement intracellulaire et extracellulaire interviennent pour détoxifier les radicaux (**Lobo et al., 2010**).

I.4.6.1. Antioxydants enzymatiques

La glutathion peroxydase, la catalase et le superoxyde dismutases sont des enzymes antioxydantes qui métabolisent les intermédiaires toxiques oxydatifs. Ils ont besoin de micronutriments comme cofacteurs tels que le sélénium, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse pour une activité catalytique optimale et des mécanismes de défense antioxydants efficaces (fig. 08) (**Singh et al., 2004**).

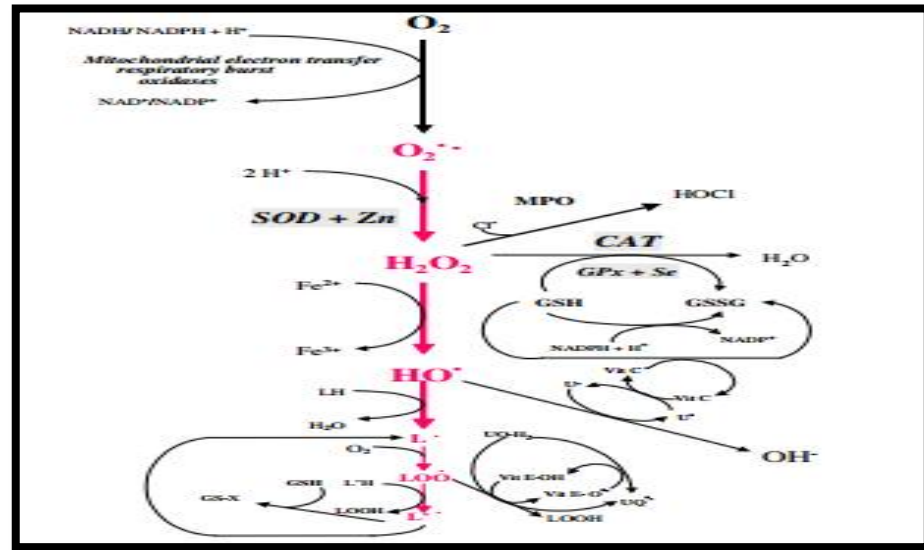


Fig. 08: Principales voies d'oxydation présentes dans les organismes vivants et les principaux systèmes (Kirschvink *et al.*, 2008).

I.4.6.2. Antioxydants non enzymatiques

Vitamine E

La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire. Elle agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de cette vitamine oxydée est assurée par la vitamine C (Delafosse, 1997).

Vitamine C (acide ascorbique)

Elle agit en régénérant la vitamine E *in vivo*, mais peu *in vitro*. *In vivo*, elle est maintenue sous forme réduite par l'action de la déshydroascorbate réductase qui utilise le glutathion comme cofacteur (Delafosse, 1997).

β-carotène

Le β-carotène est apporté par l'alimentation, il est doué de plusieurs capacités: il est précurseur de la vitamine A avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Delafosse, 1997).

Polyphénols

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate (Chira *et al.*, 2008). Ils sont des puissants antioxydants *in vitro*, récupérant une gamme d'espèces réactives et liant

également les métaux de transition dans des formes moins actives pour catalyser les dommages causés par les radicaux libres (**Jawad et al., 2013**).

I.5. Inflammation

I.5.1. Définition

C'est la réponse des tissus vivants et vascularisés (**Stéphane, 2010**) à une agression, est un phénomène banal, quotidien, intervenant dans de nombreuses circonstances, pathologiques ou non (**Barton, 2008**). Cette agression peut être physique, chimique, biologique (microorganismes), défaut de vascularisation (ischémie ou nécrose) et/ou dysimmunitaires (**Stéphane, 2010**).

I.5.2. Types de l'inflammation

I.5.2.a. Inflammation aigue

L'inflammation aigue est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle dure de quelques jours à quelques semaines et peut être divisée en trois grandes phases; une phase vasculaire immédiate; une phase cellulaire consécutive et une phase de résolution et de cicatrisation (**Charles et al., 2010**).

I.5.2.b. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une inflammation prolongée, définie par la présence de cellules immunitaires. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années (**Charles et al., 2010**). Elle se manifeste histologiquement par la présence de lymphocytes et de macrophages, entraînant une fibrose et une nécrose tissulaire (**Iwalewa et al., 2007**).

I.5.3. Différentes étapes de l'inflammation

I.5.3.1. Phase vasculo-exsudative

Cette phase comporte trois phénomènes: une congestion active par vasodilatation, un exsudat et une diapédèse leucocytaire. Cliniquement, cette phase correspond à la tétrade chaleur, douleur, rougeur et tuméfaction (**Steinhubl, 2007**).

I.5.3.2. Phase de réaction cellulaire

Elle se manifeste par l'apparition du granulome inflammatoire constitué de polynucléaires neutrophiles à la phase aigue de l'inflammation (**Börzsei et al., 2008**).

I.5.3.3. Détersion

Cette phase est contemporaine de la réaction cellulaire. La détersion consiste en l'élimination des tissus nécrosés, des agents pathogènes (par phagocytose, ou par liquéfaction à l'origine du pus et du caséum) et du liquide d'exsudat (**Eming, 2007**).

I.5.3.4. Réparation et la cicatrisation

La réparation peut mener à la cicatrisation ou à la restitution du tissu lésé. Le processus de réparation implique de nombreux facteurs de croissance ainsi que des interactions complexes entre les cellules et la matrice extracellulaire pour réguler les proliférations et biosynthèses cellulaires (**Stéphane, 2010**).

I.5.4. Maladies inflammatoires

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires. Ces affections récemment regroupées sous le terme d'IMID (immune mediated inflammatory diseases) comprennent trois grandes entités nosologiques (**Sibilia, 2007**):

- Les maladies auto-immunes systémiques (non spécifiques d'organe) et localisées (spécifiques d'organe);
- Les maladies auto-inflammatoires;
- Les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé comprenant, notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (**Sibilia, 2007**).

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Plante: *Peganum harmala*

La plante sélectionnée pour notre étude est *P.harmala*, qui est l'une des plantes médicinales utilisée en Algérie. La partie de la plante choisie pour cette étude est les graines qui ont été achetées au mois de janvier 2018, à partir d'un herboriste de qui les a ramenés de Wilaya de Sétif.

II.1.2. Animaux

Notre étude est réalisée sur des souris Swiss Albinos qui sont choisis pour faire l'activité anti-inflammatoire. Des mâles de 35-48 g ont été fournis par l'institut Pasteur. Ils sont maintenus à une température ambiante.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits de *Peganum harmala*

Les grains de *peganum harmala* ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine qui a servi pour la préparation des extraits.

1. Extraction des huiles fixes par Soxhlet

L'extraction des huiles est effectuée par la méthode de **Hassani (2013)** avec quelques modifications, 40 g des graines de *Peganum harmala* est placée dans une cartouche dans un extracteur de type Soxhlet, le ballon contenant 300ml d'hexane pendant 5 heures. L'hexane récupéré et éliminé par évaporation sous vide et l'huile récupérée dans des flacons et conservée à 4°C jusqu'à son utilisation (Fig. 09).

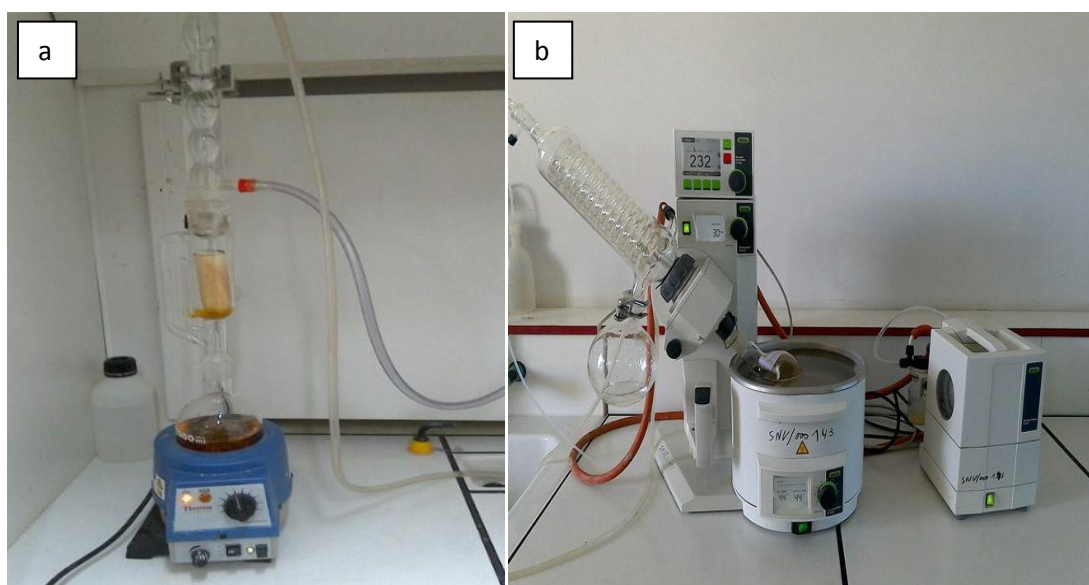


Fig. 09: Les étapes d'extraction des huiles

a: Extraction des huiles par soxhlet

b: Évaporation par l'évaporateur rotative

2. Etude de l'effet de la température sur le rendement d'extraction

2.1. Macération

L'extrait a été obtenu par la macération de 50g de poudre des graines dans 200 ml de l'eau distillée selon la méthode de **Tereshuck et al (1997)** avec quelques modifications. Le mélange a été agité pendant 4.5 heures sur un agitateur magnétique à différentes températures (4C°, 25C°, 40C°, 60C°, 80C°). Après une période de décantation, le surnageant a été filtré sur un papier filtre. Après, le filtrat obtenu est placé dans des boîtes de pétri dans une étuve pour l'obtention de l'extrait qui a été conservé à 4C° jusqu'à son utilisation.

2.2. Décoction

La décoction a été effectuée selon la méthode de **Belhattab et al (2014)** avec quelque modification; 50g de poudre des graines de la plante mélangée avec 200ml d'eau distillée à une température de (100C°) pendant 1H. Le mélange obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat obtenu est placé dans des boîtes de pétri dans une étuve pour l'obtention de l'extrait qui a été conservé à 4C° jusqu'à son utilisation.

II.2.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode la plus utilisée pour la quantification des polyphénols est celle de Folin-Ciocalteu.

a) Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite dont l'absorption maximum est 765nm est proportionnelle à la quantité des métabolites secondaires présentes dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

b) Protocole

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Deux cents microlitres d'échantillon dilué ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10. Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium saturé (75 mg /ml) ont été ajoutés. Après 2 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Tous les essais ont été répétés en triplicata.

L'acide gallique (0-500 µg/ ml) a été utilisé pour la courbe d'étalonnage standard et les résultats ont été exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique (GAE)/ mg de l'extrait des graines sèches et présentés en valeur moyenne ± écart-type (**Cheng et al., 2007**).

II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Basli et al., 2012**).

b) Protocole

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de *peganum harmala*. 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm (tous les essais ont été répétés en triplicata) (**Bahorun et al., 2003**).

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-50 μ g/ml), elle est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de l'extrait des graines sèches.

II.2.3. Activités biologiques de la plante

II.2.3.1. Évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

II.2.3.1.1. Effet piègeur de radical DPPH

a) Principe

Le potentiel anti-radicalaire d'une substance peut être évalué à l'aide d'une méthode colorimétrique en utilisant des radicaux de substitution tels que le radical 1,1diphényl-2-picrylhydrazyle appelé DPPH \bullet . En effet, à température ambiante et en solution, le radical DPPH \bullet présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire après saturation de ses couches électroniques s'accompagne de la disparition de la coloration violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle (**Ouis, 2015**).

b) Protocole

L'activité de réduction de radical DPPH a été réalisée selon la méthode de **Brand-Williams et al (1995)** avec quelques modifications. 50 μ l de la solution de DPPH (5mM) est ajoutée à 1,5 ml de la solution de 7 extraits de la plante à différentes concentrations (95 μ g/ml, 75 μ g/ml, 50 μ g/ml, 25 μ g/ml, 10 μ g/ml, 0.5 μ g/ml). L'absorbance a été mesurée à 517 nm après l'incubation de 30 min à température ambiante.

Pour chaque concentration d'extrait; le blanc est constitué de 1,5 ml de solution des extraits à tester additionné de 50 μ l de méthanol, tous les essais ont été répétés en triplicata.

Le contrôle est composé de 1,5 ml de méthanol et de 50 µl de DPPH. On utilise l'acide ascorbique comme standard grâce à leur effet anti-radicalaire puissant. L'activité antioxydante des extraits est évaluée par la détermination de pourcentage d'inhibition selon la relation suivante:

$$\frac{((\text{Abs control}-\text{Abs extrait})/\text{Abs control})\times 100}{}$$

II.2.3.1.2. Réduction des ions de fer (Pouvoir réducteur)

a) Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986).

b) Protocole

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par Oyaizu (1986) avec quelques modifications. En effet, 625 µl de différentes concentrations de chaque extrait (50, 200, 400, 600, 800, 1000 mg/ml) dilués dans le méthanol est mélangé avec 625 µl de la solution tampon phosphate (0,2 M; pH 6,6) et 625 µl de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min dans un bain marie. Après, 625 µl de l'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés aux mélanges, suivis d'une centrifugation à 3000 × g pendant 10 min. 625 µl de surnageant a été mélangé avec 625 µl d'eau distillée et 250 µl de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre avec un blanc préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le méthanol; tous les tests sont répétés trois fois.

L'acide ascorbique, le BHA et la quercétine sont utilisés comme contrôles positifs dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

II.2.3.2. Activité anti-inflammatoire

Protocole

Des souris swiss albinos sont utilisées pour évaluer l'activité anti-œdémateuse. Elles sont logées en trois groupes:

Lot contrôle positif (3 souris): on provoque l'inflammation à chaque souris par l'application de 30 µl de xylène sur la surface dorsale de l'oreille droite.

Lot référence (5 souris): l'administration orale (gavage) de 1ml de solution de diclofenac (médicament de référence) avec une dose de 1,4mg/kg, après deux heures on applique 30 µl de xylène sur la surface dorsale de l'oreille droite pour l'induction de l'inflammation.

Lot traité (4 souris): on administre par gavage à chaque souris 1ml de solution d'extrait avec une dose de 200mg /kg pour les traiter. Après deux heures, on applique 30 µl de xylène sur la surface dorsale de l'oreille droite pour provoquer l'inflammation.

Une heure plus tard; les souris sont sacrifiées par le chloroforme et les deux oreilles ont été coupées et immédiatement pesées par une balance analytique. La formation d'œdème calculé par la différence entre le poids du disque d'oreille droite (avec l'œdème) et le poids de disque d'oreille gauche (sans œdème) (**Ravelo *et al.*, 2010**).

II.2.3.3. Analyse statistique

Tous les résultats sont exprimés en moyennes \pm écart type (n=3). L'analyse statistique (l'analyse de la variance (ANOVA) univarié et test de student) a été effectuée, en utilisant le logiciel GraphPad Prism 7 et Origine 2017.

Résultats

III.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse d'extrait sec résulte de l'opération d'extraction et la masse de végétal utilisé selon l'équation suivante:

$$R (\%) = (M_1 / M_0) \times 100$$

Où:

M1: masse d'extrait récupéré exprimée en grammes.

M0: masse du végétal utilisée pour l'extraction exprimée en grammes.

Le rendement est exprimé en pourcentage massique (g/100g) par rapport à la matière sèche.

Le rendement d'extraction de différents extraits est mentionné dans le tableau suivant:

Tableau 1: Le rendement d'extraction de différents extraits.

| Type d'extrait | Températures | Rendement (%) |
|--------------------------------|--------------|---------------|
| Extraits macérés | 4° | 14,7 |
| | 25° | 8,38 |
| | 40° | 7,4 |
| | 60° | 13,22 |
| | 80° | 10,14 |
| Extrait par décoction | - | 12,8 |
| Extrait hexanique (huile fixe) | - | 14,35 |

Nous constatons que l'extrait brut des grains de *P. harmala* à 4°C montre un rendement d'extraction le plus important de l'ordre de 14,7% suivi par l'huile avec 14,35%. A 60°C nous avons obtenus 13,22% et 12,8% pour la décoction. Des valeurs faibles ont été obtenues pour les extraits de (80°C) 10,14%, (25°C) 8,38% et finalement un rendement de 7,4% pour l'extrait de (40°C).

III.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

III.2.1. Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols des différents extraits des grains de *Peganum harmala* a été déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et les nourritures exprimée en $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs.

Les concentrations des polyphénols ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 2).

D'après ces résultats, la teneur en polyphénols des différents extraits varie de $(3,567 \pm 0,9785) \mu\text{g EAG/mg}$ à $(36,13 \pm 0,2772) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs et les résultats sont mentionnés dans la fig. 11.

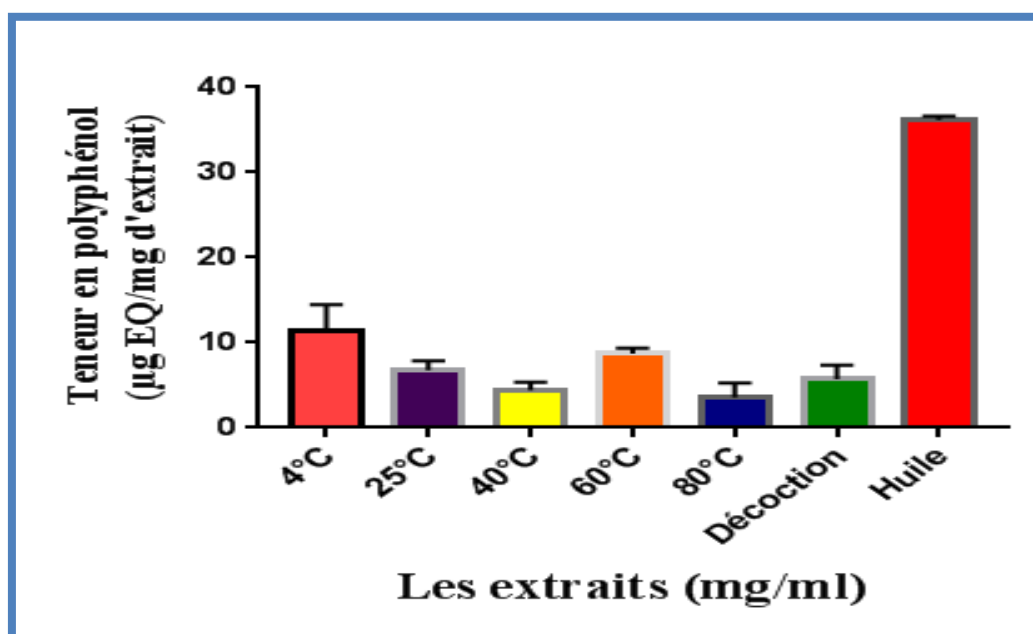


Fig. 11: Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits des graines de *Peganum harmala*.

Il est clair que l'huile est le plus riche en polyphénols $(36,13 \pm 0,2772) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs suivie par l'extrait à 4°C $(11,46 \pm 1,721) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait des grains secs, l'extrait à 60°C $(8,727 \pm 0,3575) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs, l'extrait à 25°C $(6,737 \pm 0,6437) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs, l'extrait à 100°C $(5,723 \pm 0,9675) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs, l'extrait à 40°C $(4,413 \pm 0,5373) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs et l'extrait à 80°C $(3,567 \pm 0,9785) \mu\text{g EAG/mg}$ d'extraits des grains secs (Fig. 11).

III.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 (Annexe 2).

L'estimation de la teneur en flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium et les résultats obtenus varient entre 13,97 µg EQ/mg d'extraits des grains secs et (9,127±0,1167) µg EQ/mg pour l'extrait aqueux et (26,22±0,1691) µg EQ/mg pour l'extrait huileux (Fig. 13).

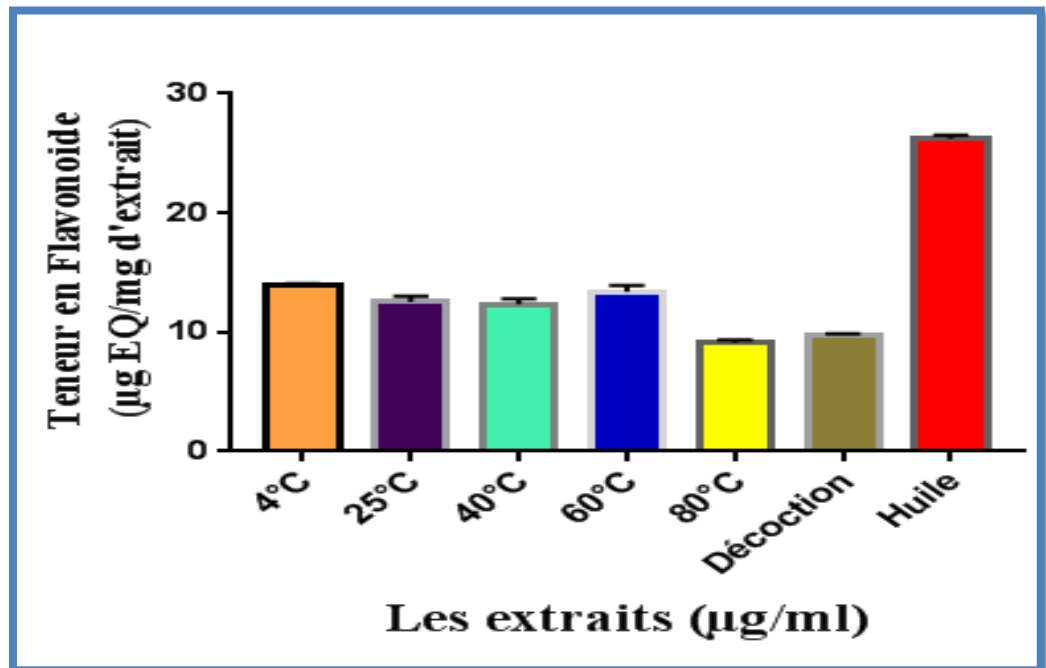


Fig. 13: Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *P harmala*.

La teneur en flavonoïdes est plus importante dans l'extrait huileux avec une valeur de (26,22±0,1691) puis dans l'extraits de 4°C et 60°C avec des valeurs de l'ordre de (13,97±0,05774) µg EQ/mg et (13,40±0,3032) µg EQ/mg d'extraits des grains secs respectivement puis dans l'extraits de 25°C avec (12,54±0,2682) µg EQ/mg et de (12,37±0,25) µg EQ/mg pour l'extrait de 40°C. La plus faible teneur a été remarquée dans l'extrait de décoction et de 80°C par (9,127±0,1167) µg EQ/mg et (9,777±0,06667) µg EQ/mg d'extraits respectivement.

III.3. Activités biologiques

III.3.1. Activité Antioxydante

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de l'extrait aqueux à différents températures avec l'huile afin de déterminer l'extrait le plus actif. Nous avons utilisé deux différents tests chimiques à savoir: l'effet (scavenger) d'un antioxydant sur le radical 2,2diphényl1-1-picryl-hydrazyl (DPPH) et le pouvoir de réduction des ions de fer.

III.3.1.1. 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. Dans ce test nous avons utilisé l'acide ascorbique comme standard et la courbe d'étalonnage est mentionnée dans (Annexe 2)

Le résultat obtenue par se test nous a permet aussi de tracer des courbes de révolution la variation de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de chaque extrait étudié.

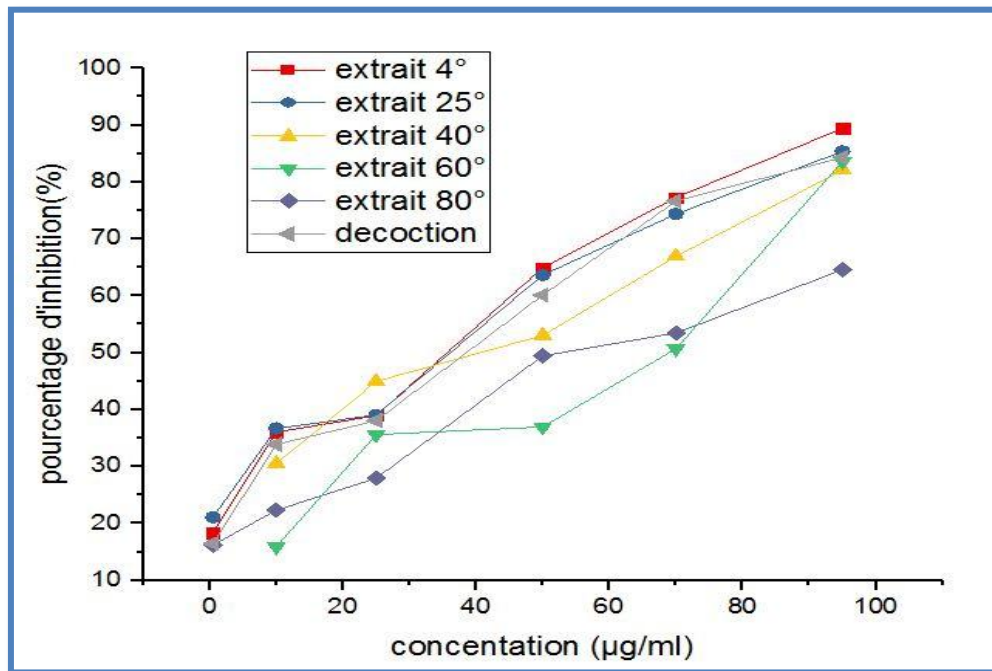


Fig. 15: Le pourcentage d'inhibition du radicale DPPH par les déférents extraits des grains de *P.harmala*.

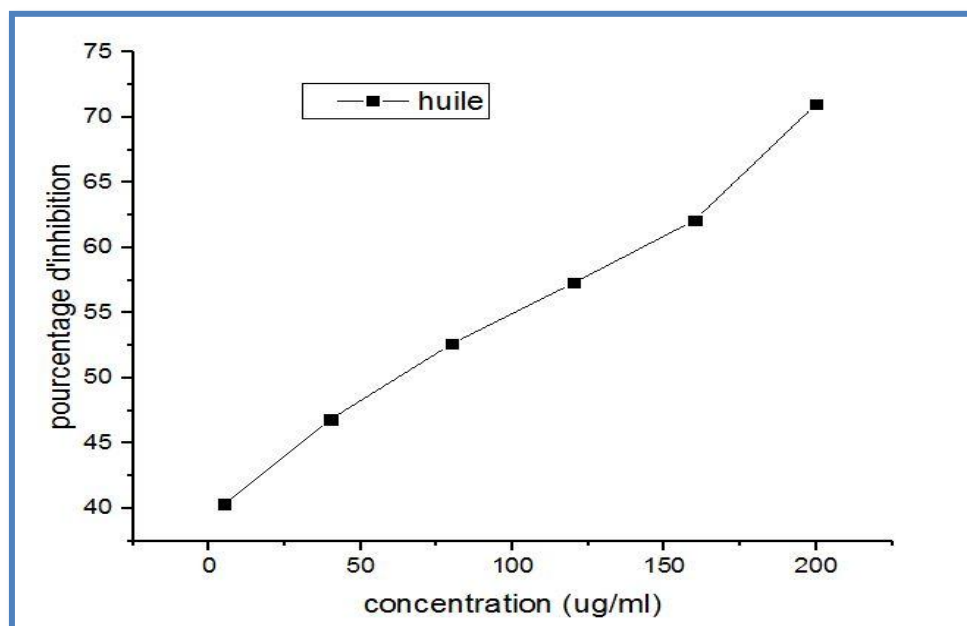


Fig. 16: Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH d'extrait huileux des grains de *P.harmala*.

L'inhibition de radical DPPH, est exprimée en IC50, Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à l'IC50 la plus faible.

Les valeurs d'IC50 calculées pour tous les extraits testés sont mentionnées dans le tableau suivant:

Tableau 2: IC50 des différents extraits aqueux de *Peganum harmala* pour le test de DPPH et le standard.

| L'extrait | IC50 |
|-----------|--------------|
| 4°C | 39,8±0,6976 |
| 25°C | 2,14±0,03 |
| 40°C | 40,43±1,877 |
| 60°C | 58,35±1,217 |
| 80°C | 63,66±1,198 |
| Décoction | 38,71±0,4956 |
| Huile | 65,02±8,868 |

Le standard utilisé est l'acide ascorbique qui montre une activité antioxydante puissante avec une IC50 de l'ordre de 1, 24 µg /ml.

L'extrait de 25°C révèle une forte activité de piégeage des radicaux DPPH• (IC50= 2,14 ± 0,03 µg/ml) par rapport aux autres extraits par contre l'extrait l'huileux représente une faible activité dont le IC50= 65,02 ± 8,868µg/ml.

III.3.1.2. Réduction des ions de fer (Pouvoir réducteur)

Les résultats de l'activité réductrice des extraits aqueux de plante étudiée et les standards utilisés (Quercitine, BHA, Acide ascorbique) sont représentés dans la figure 18. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration.

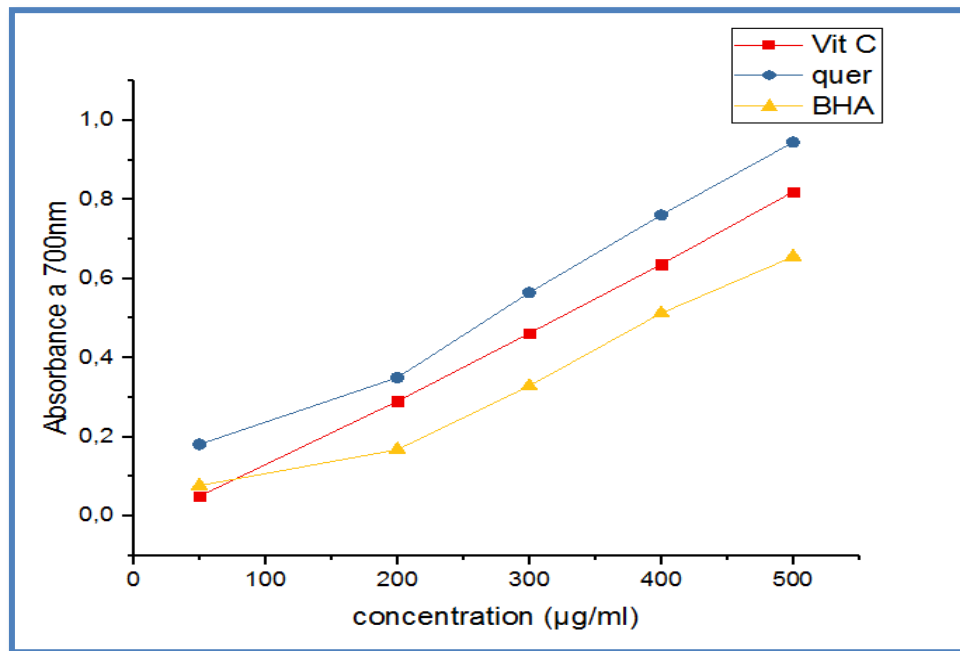


Fig. 18: Courbes de réduction de fer par les standards.

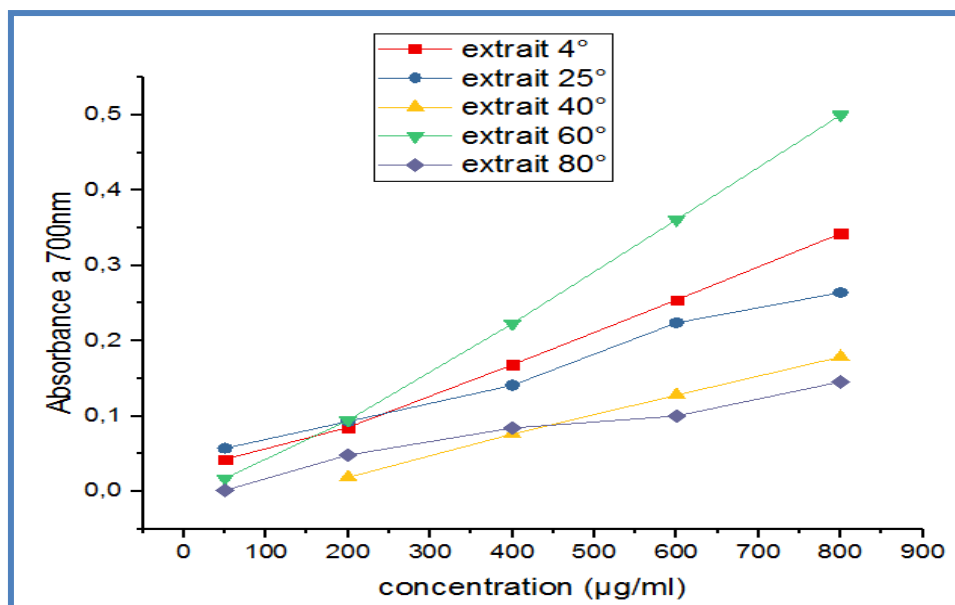


Fig. 19: La réduction de fer par des différents extraits macérés.

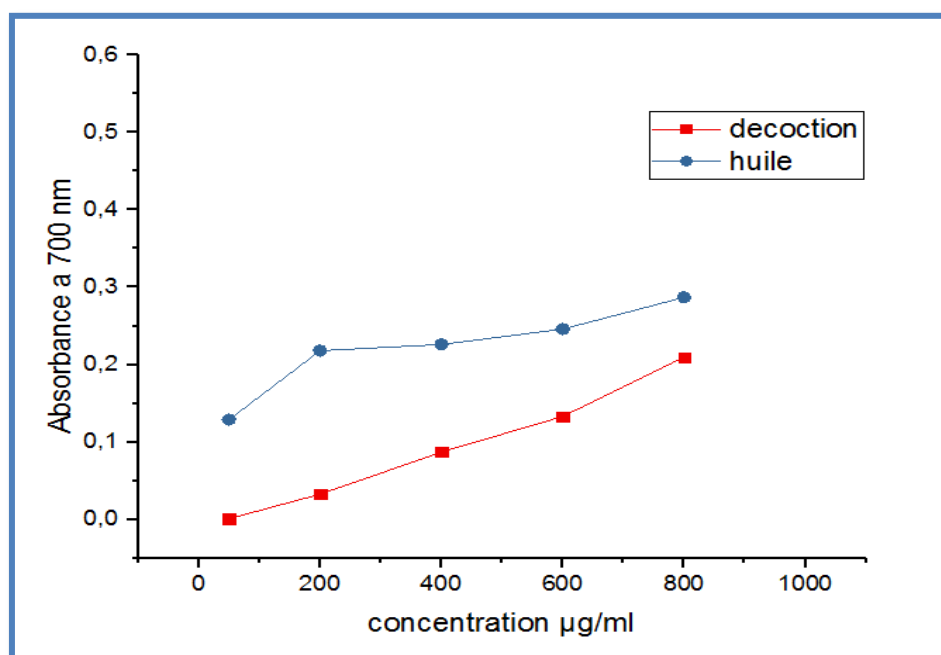


Fig. 20: Courbes de réduction de fer par l'extrait de la décoction et l'huile.

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance qui a la capacité à transférer un électron ou à donner un atome d'hydrogène. L'huile et les différents extraits représentent des capacités réductrices nettement inférieures à celle de l'antioxydant de référence mais l'extrait de 60°C à une meilleure activité que les autres extraits.

III.3.2. Activité anti-inflammatoire (anti-œdémateux)

L'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris qui est le modèle d'inflammation aigue, a été utilisé pour évaluer l'effet anti-œdémateux de l'extrait de décoction des grains de *P.harmala*.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait étudié est exprimée par la différence du poids de disque d'oreilles droite et le poids de disque d'oreille gauche des souris qui a été mentionné dans la fig. 21:

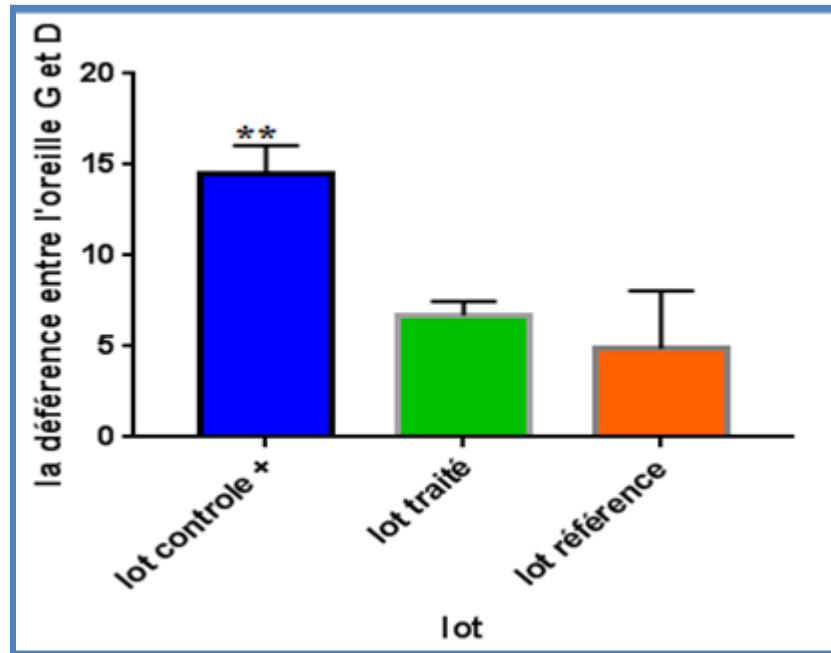


Fig. 21: Les résultats de l'activité anti inflammatoire.

Les résultats montrent que l'extrait de décoction des grains de *P.harmala* présente une activité anti-inflammatoire significative par rapport au control.

Pas de différence significative entre le groupe traité et le standard utilisé (diclofenac).

Discussion

Depuis longtemps, l'homme est soigné avec les plantes qu'il avait à sa disposition. A travers les siècles, les traditions humaines ont développé la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour améliorer la santé humaine (**Iserin ,2001**).

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) qui est une espèce intéressante de la flore algérienne et très étudiée pour ses activités pharmacologiques. Elle est très utilisée dans la médecine traditionnelle depuis les temps les plus reculés, probablement du fait de la présence de plusieurs principes actifs responsables de son activité biologique (**Behidj-Benyounes et al., 2013**).

Plusieurs travaux sont effectués dans le monde entier pour évaluer les différentes activités biologique de cette plante a savoir l'activité antioxydante (**Baghiani et al., 2012**), antibactérienne (**Akbary,2014**), insecticide (**Abbasipour,2010**), herbicide (**Deng et al., 2014**). Par l'utilisation de différents extraits de différentes parties de la plante. Nous sommes les premiers qui a évalué l'effet de la température sur l'extraction des molécules bioactifs (polyphenols /flavonoïdes) et leurs influences sur l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante de *P harmala*.

En effet, l'extraction des composés phytochimiques des grains de *P. harmala* se fait par la macération , la décoction aussi bien par Soxhlet; le rendement d'extraction varie en fonction de la température (4°C, 25°C, 40°C, 60°C, 80°C) et en fonction de la nature d'extrait dont le rendement maximal est enregistré pour l'extrait de 4°C et le plus faible rendement est observé pour l'extrait de 40°C.

Penchev et al (2010) ont trouvés que le taux d'extraction augmente avec l'augmentation de la température dans leur étude qui a été réalisé sur la plante *Melissa officinalis L* utilisant le méthanol et l'éthanol comme des solvants d'extraction dans les températures (25°C; 40°C ; 50°C et 60°C); Cette différence peut être due au type de méthode, le temps et les conditions d'extraction, la température et aussi la nature de solvant utilisé et la plante étudiée

Un rendement de 24,07% est obtenu par **Benyagoub et al (2015)** pour une masse de 10g de plante *Lavandula angustifolia* macérée par l'eau distillée pendant 24h.

En ce concerne l'huile, le rendement est supérieure au rendement signalé par **Hassani (2013)** qui est de l'ordre de 10% pour une masse de 50g des grains de *P harmala* dans les mêmes conditions et solvant d'extraction utilisé. Cette variation peut être due aux conditions climatiques et édaphiques et la période de récolte de la plante.

Les polyphénols et les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons (**Leopoldini et al.,2011**).

L'extraction des polyphénols des plantes médicinales est l'une des principales étapes de nombreuses études biologiques et thérapeutiques. Le rendement de cette extraction est également affecté significativement par plusieurs paramètres, tels que la température et le temps d'extraction.

En effet, le profil des composés polyphénoliques des extraits des différentes méthodes utilisées de poudre des grains a changé de manière significative où on observe que la teneur des polyphénols dans l'extrait huileux est hautement significative ($p < 0,05$) par rapport aux extraits de macération dans les différentes températures (4°C ,25°C ,40°C ,60°C ,80°C) et l'extrait de décoction tandis que une différence significative est observée entre la décoction et les extraits de macération à 4°C et 60°C.

Une différence significative est observée entre l'extrait de macération pour certain température uniquement; 4°C et 40°C, 4°C et 80°C, les mêmes résultats sont observés entre 60°C et 40°C et entre 60°C et 80°C. Ces résultats peuvent être dus à la destruction des molécules bioactives grâce à l'augmentation de température.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux trouvé par **Bammou (2015)** dépasse 93 mg EAG/mg pour le macérât du plante *Anvillea radiata*, ces résultats sont fortement supérieurs de nos résultats trouvées. En effet **Ouedraogo et ses collaborateurs (2015)** ont évalué la teneur en polyphénols de *Allium cepa* L par la décoction des grains; ils ont obtenus un teneur de (0,195mg/g), ces résultats sont très faible par rapport à nos résultats. Cette différence est due peut être aux conditions climatiques et édaphiques et l'espèce utilisé.

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante: les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (**Lee et al., 1994**).

La détermination quantitative des flavonoïdes révèle qu'il ya une différence significative entre les trois méthodes étudiées; nous remarquons que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait huileux est significativement différent par rapport aux extraits des différents températures (4°C ,25°C ,40°C ,60°C ,80°C) et la décoction.

Pour la macération; la différence est non significative concernant l'extrait de 60°C avec les extraits de 4°C, 25°C et 40°C, les mêmes résultats sont observées pour 25°C et 40°C. En ce concerne la macération et la décoction on observe qu'il ya une différence

significative entre elles. Cette variation des résultats est influencée par la méthode et le temps d'extraction, les conditions expérimentales, la température et le nature de solvant utilisé (**Mahmoudi, 2013**). Par ailleurs, l'extrait ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (**Kebièche et al., 2011 ; Bekro et al., 2007**)

La température est l'une des paramètres influençant le profil phytochimique des plantes et leurs activités biologiques diverses. Pour la première fois, nous avons évalué les propriétés antioxydantes des extraits aqueux des grains de *Peganum harmala* en fonction de température.

L'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical. Le radical DPPH est souvent utilisé comme un indicateur pour tester la capacité de l'extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc l'activité antioxydante (**Dorman et al., 2003; Yokozawa et al., 1998**) ont suggéré que l'acide ascorbique, l' α -tocophérol, les tannins et les flavonoïdes provoquent la réduction du radical libre diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) en lui donnant un hydrogène pour former le diphénylpicrylhydrazine.

Pour la macération, L'extrait de 25°C possède l'effet scavenger le plus puissant parmi tout les extraits avec une valeur de par rapport aux extraits de 4°C, 40°C, 60°C, 80°C, décoction et huile

Nos résultats est totalement supérieurs aux résultats trouvé par **Bammou (2015)** pour l'extrait aqueux de *nvillea radiata* dont leur $IC_{50}=265.52\pm 18.02$ $\mu\text{g/ml}$, cette différence confirme que notre plante a une capacité antioxydante plus puissants que *nvillea radiata*. Donc on peut dire que la température d'extraction peut jouer un rôle dans la détermination de profil antioxydant des plantes.

Falleh et al (2008) ont montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement à la concentration des polyphénols, mais également à la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante.

La présence des composés réducteurs dans nos extraits des grains de *P harmala* induit la réduction du complexe ferricyanure « fe^{3+} » en ions ferreux « fe^{2+} » qui réagissent comme donneurs d'électrons, cela ce traduit par un couleur verte et l'absorbance reflète la quantité des composés antioxydants présents dans nos extraits.

Tous nos extraits (décoction, huile et les extraits de macération à déférentes températures) présentent des capacités réductrices nettement inférieures que celle de la

référence choisi (acide ascorbique); pour ce dernier la réduction est presque totale dont la $DO=0,8nm$ pour une concentration de $500\mu g/ml$.

Il n'ya pas une grande différence entre la capacité réductrice des différents extraits étudiés. Cette différence de la capacité réductrice est probablement due à la différence du teneur en polyphénols qui se diffère d'un extrait à l'autre ainsi qu'aux propriétés physico-chimiques des composés qui entrent dans la composition des extraits (**Bouziid et al., 2010**). En effet la quantité des composés phénoliques présentés dans les extraits végétales ne pourrait pas réduire les ions de fer si ses polyphénols ne disposent pas des groupements fonctionnels nécessaires (**Wong et al., 2006**), comme dans le cas de nos extraits qui peuvent contenir des groupements phénoliques non fonctionnels grâce à leur destruction par l'augmentation de température.

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait de décoction des grains de *Peganum harmala* est testé avec une seule dose ($200mg/kg$) par l'administration orale (gavage) de $1ml$ de la solution de l'extrait. L'inflammation est apparue sous forme d'une rougeur de l'oreille droite. Le poids moyen des disques des oreilles enflammées est de l'ordre de ($14,5 \pm 0,9$ mg).

Les études statistiques utilisées montrent que l'extrait de décoction a un effet inhibiteur de l'œdème similaire à celle de diclofenac où il n'y a pas de différence significative entre le poids des disques des oreilles des souris traitées par l'extrait ($6,7 \pm 0,4583$ mg) et le poids des disques des oreilles des souris traitées par le diclofenac ($4,867 \pm 1,841$ mg). L'application du xylène sur l'oreille induit une accumulation de liquide conduisant à la formation d'un œdème qui caractérise l'inflammation aiguë (**Okoli et al., 2007**).

Le mécanisme moléculaire et cellulaire par lequel le xylène induit l'inflammation met en jeu l'organisme libère des médiateurs qui peuvent initier la réaction inflammatoire. Ils induisent une vasodilatation et une exsudation plasmatique en agissant sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins et les cellules endothéliales (**Rotelli et al., 2003**) comme ils peuvent activer directement les mastocytes et les autres cellules immunitaires. Il est également admis que les neurones sensoriels contiennent des cyclooxygénases capables de synthétiser les prostaglandines pro-inflammatoires (**Richardson et Vasko, 2002**).

La réponse inflammatoire est une série hautement synchronisée de processus d'activation cellulaire, dont la plupart sont liés à la biosynthèse des prostanoïdes via le métabolisme de l'acide arachidonique (**Rathee et al., 2009**).

Les flavonoïdes montrent une activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*. Plusieurs mécanismes d'action cellulaire sont proposés pour expliquer leur activité anti-inflammatoire.

En plus de l'activité antioxydante, ils inhibent les enzymes générant des eicosanoïdes et l'effet sur l'expression des molécules pro-inflammatoires. Certains flavonoïdes, principalement des dérivés de flavone, modulent l'expression de molécules pro-inflammatoires, au moins en partie, via l'inhibition de l'activation du facteur de transcription (**Kim *et al.*, 2004**). Les flavonoïdes inhibent de manière dose-dépendante de la 5-lipoxygénase et de la cyclo-oxygénase dans le système mixte des leucocytes (**Moroney *et al.*, 1988**).

Conclusion

Dans la présente étude, l'objectif principal était d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits obtenus par la macération à différentes températures, décoction et Soxhlet des grains d'une plante connue dans la médecine traditionnelle, le *peganum harmala*. Cette espèce a été explorée d'avantages, soit en termes de productivité en huile obtenu par Soxhlet et en extrait obtenu par décoction et macération, soit en termes d'études de leurs activités biologiques. L'extraction par les trois méthodes précédentes de la plante étudiée: *peganum harmala* a fourni de bons rendements en particulier à 4°C. L'étude phytochimique permet de déceler que les extraits testés contiennent aussi bien des polyphénols et des flavonoïdes dont l'huile est le plus riche.

L'extrait de 25°C de la plante étudiée à un effet scavenger du radical DPPH plus important par rapport aux autres extraits aussi bien l'huile, qui ont un effet faible comparant à l'antioxydant de référence. Les résultats du test du pouvoir réducteur ont clairement montré que tous les extraits analysés possèdent la capacité de réduire les ions Fe^{3+} , l'extrait de 60°C à une meilleure activité que les autres. De plus l'activité réductrice est proportionnelle à la concentration. Les substances bioactives contenues dans cette plante ont montré une inhibition de l'inflammation comparable à celle d'un anti-inflammatoire non stéroïdien. La présente étude permet de conclure que le *peganum harmala* constitue une importante source, douée de grandes activités antioxydante et anti-inflammatoire. De ce fait, les résultats de ce travail méritent d'être affinés et pour cela il serait intéressant:

- ✓ D'identifier les principes actifs responsables de ces activités par des techniques analytiques performantes.
- ✓ Il serait également important de suivre cette étude par des applications in-vivo en étudiant la toxicité de ces substances bioactives de *P.harmala*
- ✓ Compléter ces activités par d'autres tests afin de mettre en évidence les possibles mécanismes moléculaires impliqués.
- ✓ Envisager l'étude d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobiennes et anticancéreuses.

Annexes

Annexe I

I. Produits

Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont:

Méthanol, Hexane, AlCl_3 , Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 , $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ (Acide gallique), Quercétine, acide ascorbique, NaCl (chlorure de sodium), NaH_2PO_4 (Dihydrogénophosphate de sodium), Na_2HPO_4 (Hydrogénophosphate de sodium), KH_2HPO_4 , KH_2PO_4 , PBS, BHA, H_2O_2 , diclofenac, DPPH, chloroforme, Na_2HPO_4 , ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, FeCl_3 , acide trichloracétique.

Appareillages

Centrifugeuse (Sigma Laborzentrifugen, Germany); Spectrophotomètre (UV mini-1240 UV_VIS SPECTROPHOTOMETERS SHIMADZU); Evapourateur rotative (Buchi Labortechnik AG); Bain marie (type WNB14, Germany); Etuve.

Annexe 2

II. Protocoles

1-Dosage des polyphénols totaux

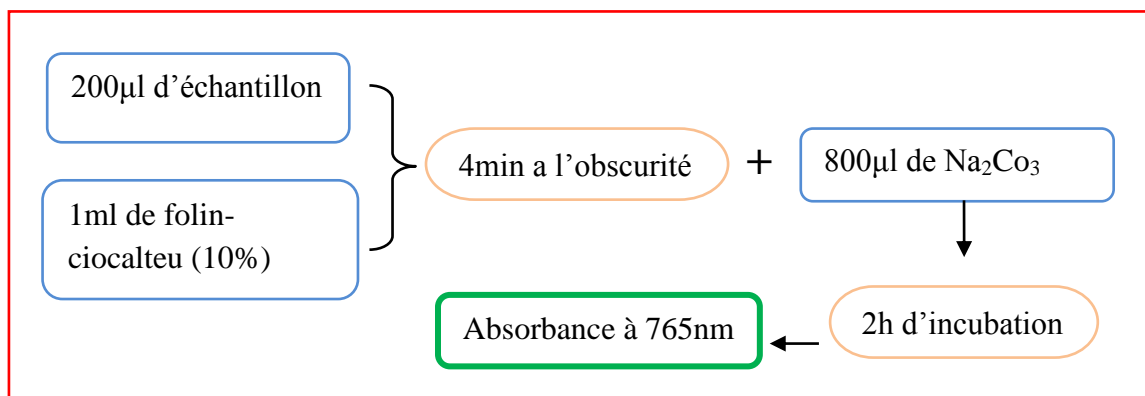


Fig: Protocole de dosage des polyphénols totaux.

2-Dosage des flavonoïdes

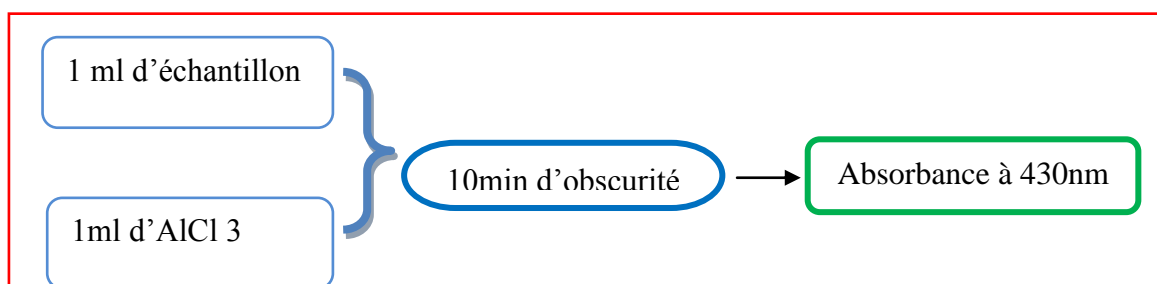


Fig: Protocole de dosage des flavonoïdes.

3-L'activité antioxydant par le DPPH:

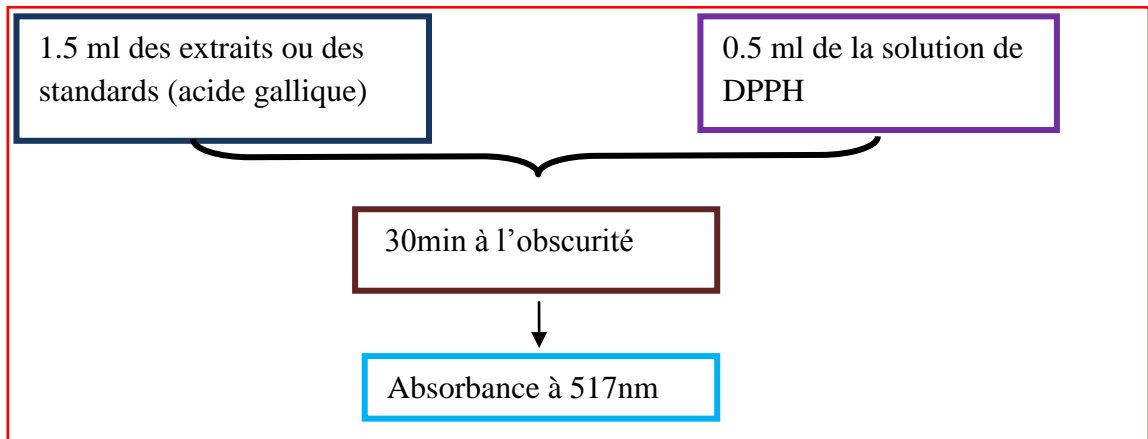


Fig: Protocole d'activité antioxydant.

4- Protocole de Réduction des ions de fer (Pouvoir réducteur):

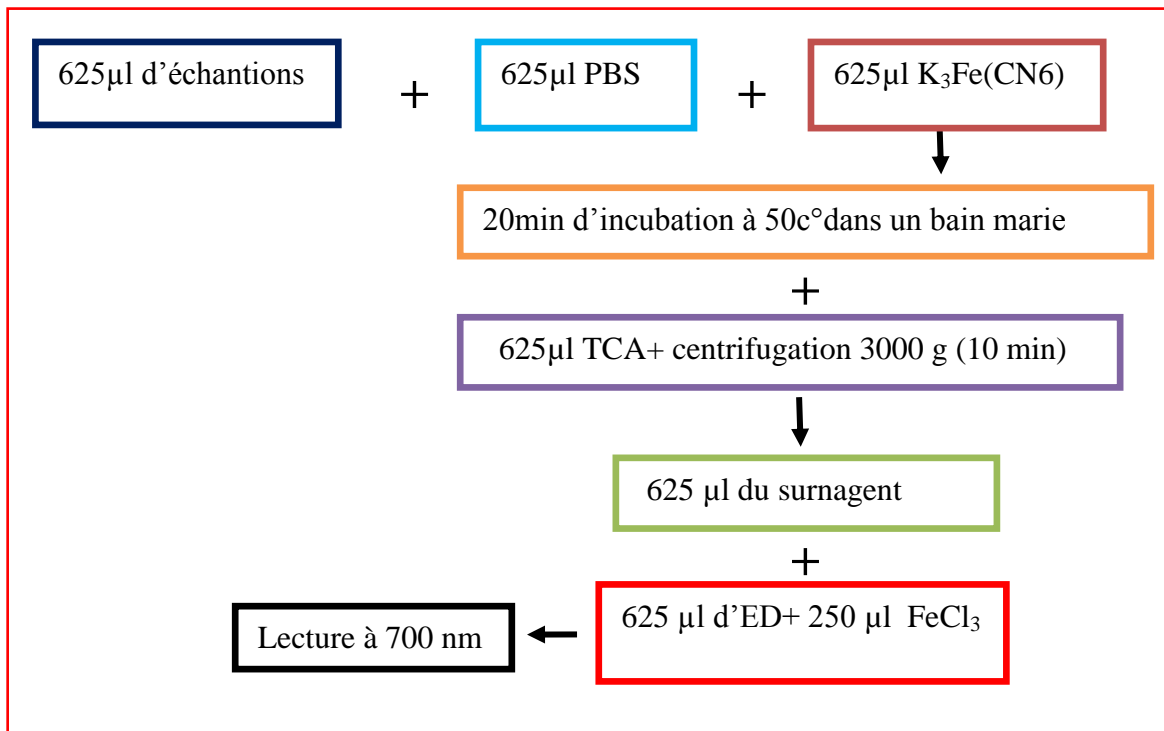


Fig: Protocole de Réduction de fer.

5-Activité anti-inflammatoire:

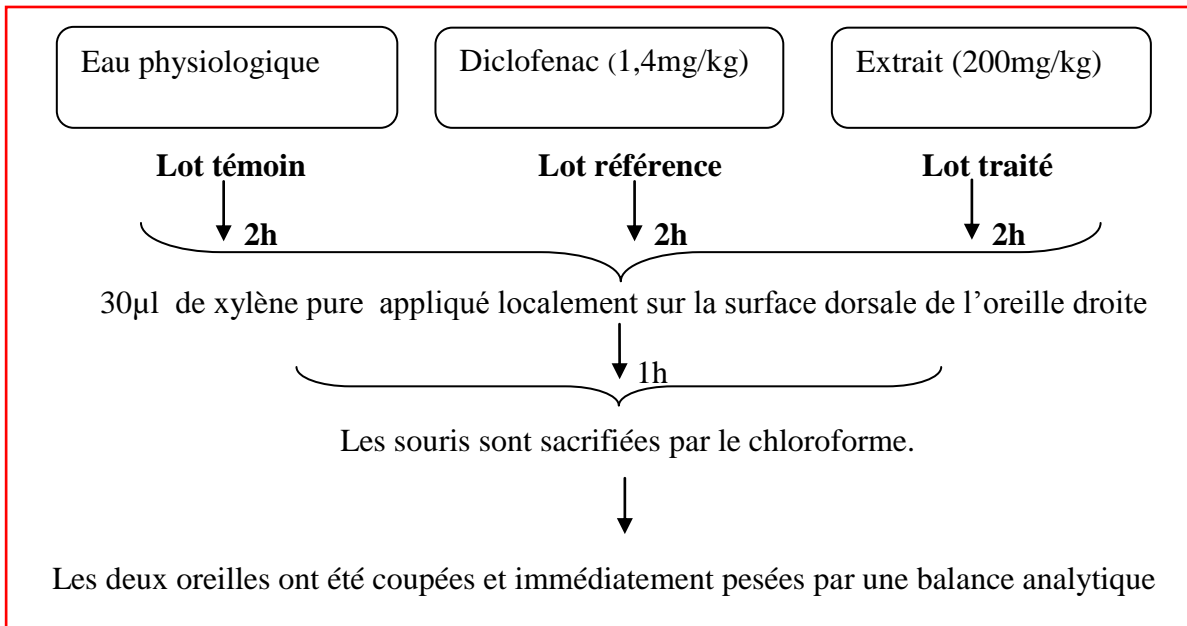


Fig: Protocole d'activité anti inflammatoire.

Annexe 3

Les courbes d'étalonnages

Pour le dosage de polyphénols

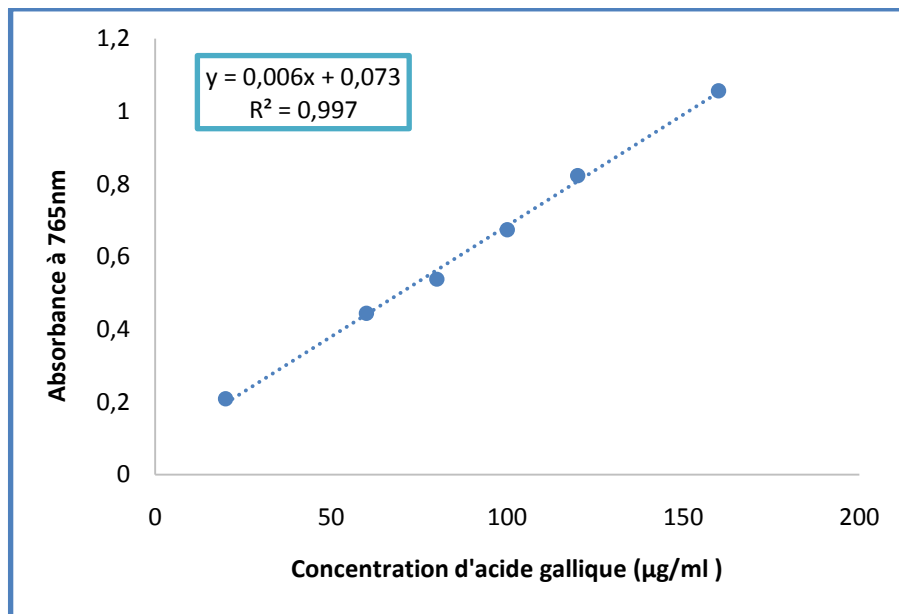


Fig: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Pour le dosage de flavonoïdes

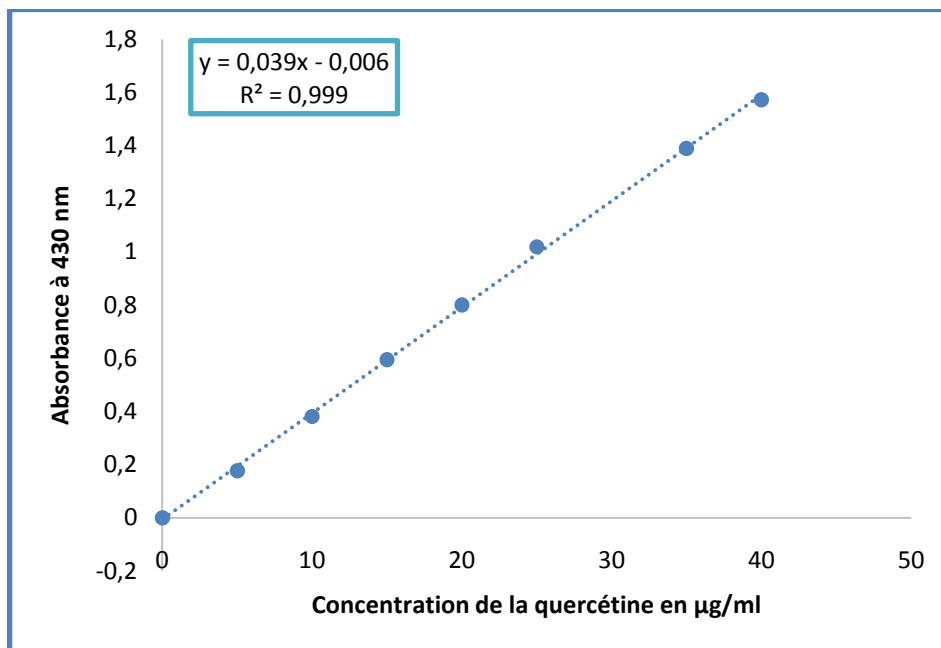


Fig: La courbe d'étalonnage de Quercitine.

Pour le test de DPPH

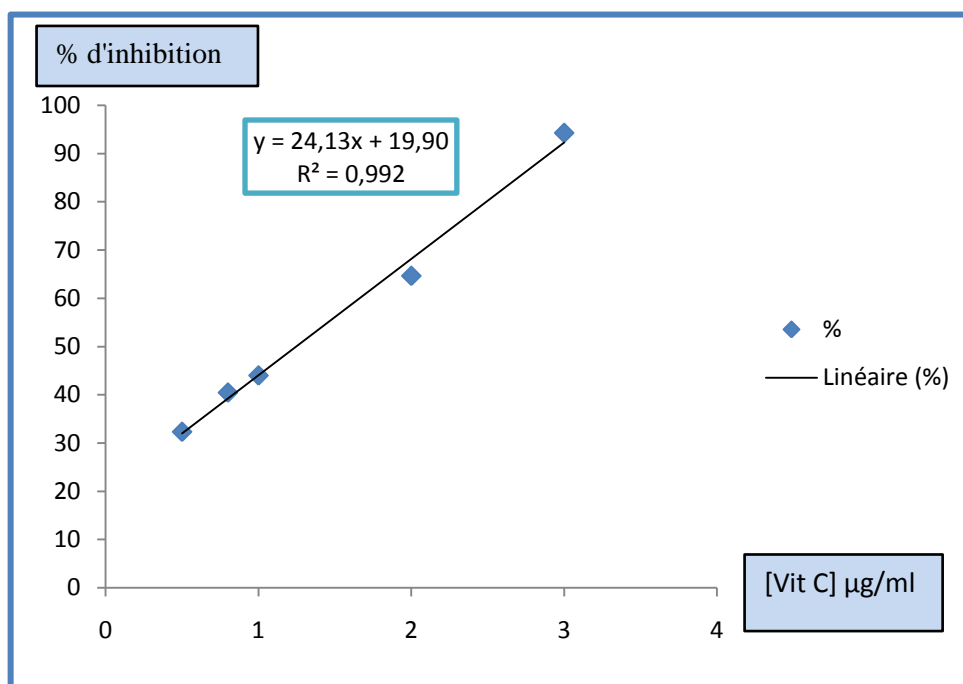


Fig: Courbe d'étalonnage d'inhibition de radical DPPH par l'acide ascorbique.

- Abbasipour H., Mahmoudvand M., Rastegar F. et Basij M., 2010** 'Insecticidal activity of Peganum harmala seed extract against the diamondback moth, *Plutella xylostella*', 63(2), pp. 259–263.
- Abbott L. B., Gregory T. B et Tracy M. S., 2008** 'Physiology and Recovery of African Rue (*Peganum harmala*) Seedlings Under Water-Deficit Stress Physiology and Recovery of African Rue (*Peganum harmala*) Seedlings Under Water-Deficit Stress', 56(1), pp. 52–57. doi: 10.1614/WS-07-094.1.
- Akbary P., Fereidouni M. S. et Akhlaghi M., 2014** 'In vitro antibacterial activity of Peganum harmala (L) extract to some fish pathogenic bacteria', *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 1(1), pp. 7–16.
- Asgarpanah J. et Ramezanloo F., 2012** 'Chemistry, pharmacology and medicinal properties of Peganum harmala L.', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(22), pp. 1573–1580. doi: 10.5897/AJPP11.876.
- Baghiani A., Boumerfeg S., Messaoudi D., Seddik K. et Arrar L., 2009** Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effect of *Tamus communis* L. root extracts. *Phytotherapy Research*. **23**, 283–288.
- Bahorun T., Aumjaud E., Ramphul H., Rycha M., Amitabye L. R., Francis T. et Okezie I., 2003** 'Phenolic constituents and antioxidant capacities of *Crataegus monogyna* (Hawthorn) callus extracts', *Nahrung - Food*, 47(3), pp. 191–198. doi:10.1002/food.200390045.
- Bakiri N., Bezzi M., Khelifi L. et Khelifi S. M., 2016** 'Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale Peganum harmala l. dans la région de setif.dz/ M'sila'. Available at: <http://www.phcogrev.com/text.asp?2013/7/14/199/120524>.
- Bammou M., Khalid S. et El Rhaffari L., 2015** 'Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss & Dur. Collected from the southeast of Morocco', 11(21), pp. 233–244.
- Bano T., Kumar N. et Dudhe R., 2012** 'Free radical scavenging properties of pyrimidine derivatives', *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2(1), p. 34. doi: 10.1186/2191-2858-2-34.
- Barouki R., 2006** 'Ageing free radicals and cellular stress', *Medecine Sciences*, 22(3), pp. 266–272. doi: 10.1051/medsci/2006223266.
- Barton G. M., 2008** 'A calculated response: control of inflammation by the innate immune system', *Journal of Clinical Investigation*, 118(2), pp. 413–420. doi: 10.1172/JCI34431.contribute.
- Basli A., Chibane K., Madani N. O., 2012** 'Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf.', *Phytotherapie*, 10(1), pp. 2–9. doi: 10.1007/s10298-012-0683-9.
- Bekro Y., Janat A., Bekro M., Boua B., Fézan H. T. et Ehouan E. E., 2007** 'Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae)', *Sciences & Nature*, 4(2), pp. 217–225. doi: 10.4314/scinat.v4i2.42146.
- Behidj-Benyounes N., Dahmane A., Aknouche F. et Demmouche K., 2013** 'screening phytochimique et evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de Peganum harmala L. récoltées dans la région de M'sila', pp. 27–37.
- Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. et Exarchou V., 2014** 'Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf', 2(January 2004), p. 6.
- Benkhignie O., Lahcen Z., Fadli M., Elyacoubi M., Rochdi R. et Douira A., 2012** 'Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc)', *Acta Botanica Barcinonensia*, 53, pp. 191–216. Available at: <http://raco.test.cesca.cat/index.php/ActaBotanica/article/view/252920>.
- Benyagoub E., Nabbou N., Sirat M. et Belkacem A., 2015** 'Etude phytochimique et évaluation du

Références bibliographiques

- pouvoir antibactérien de quelques extraits de *Lavandula angustifolia* Mill., in vitro sur des espèces bactériennes isolées responsables d'infection urogénitale chez la femme.', *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products (TJMPNP)*, (January).
- Berdai M., Labib S. et Harandou M., 2014** 'Case Report Peganum harmala L. Intoxication in a Pregnant Woman', 2014. doi.org/10.1155/2014/783236
- Boizot N. et Charpentier J. P., 2006** 'Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier', *Le Cahier technique de l'Inra*, pp. 79–82.
- Börzsei R., Pozsgai G., Bagoly T., Elekes K., Pinter E., Szolcsanyi J. et Helyes Z., 2008** 'Inhibitory action of endomorphin-1 on sensory neuropeptide release and neurogenic inflammation in rats and mice', *Neuroscience*, 152(1), pp. 82–88. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.12.005.
- Bouaid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M. C. et Ayachi A., 2010** 'Evaluation De L'activite Antioxydante et Antimicrobienne des Extraits de l'Aubepine Monogyne', *Lebanese Science*, 12(1), pp. 59–69.
- Boudjellal A., 2013** 'Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Option Biochimie Appliquée Thème Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga reptans*, *Artemisia herba alba*)', *Order A Journal On The Theory Of Ordered Sets And Its Applications*.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E., 2001** 'Production of plant secondary metabolites: A historical perspective', *Plant Science*, 161(October), pp. 839–851. doi: 10.1016/S0168-9452(01)00490-3.
- Bouterfas K., Mehdadil Z., Latrechel A., Aoua L., 2014** 'Pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale)', *Phytotherapie*, 12(1), pp. 6–14. doi: 10.1007/s10298-014-0830-6.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E. et Berset C., 1995** 'Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity', *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), pp. 25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Briskin D. P., 2000** 'Update on Phytomedicines Medicinal Plants and Phytomedicines . Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health FROM SECONDARY PRODUCTS INVOLVED IN', *Plant Physiology*, 124(2), pp. 507–514.
- Charles N. S., Peter A. W. et Derek W. G., 2010.** *Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press*, 2-3.
- Cheng X., Ting Z., Ting Z., Tao Y., Chang-hong W. S., Bligh A, et Zheng-tao W., 2009** 'HPLC Fingerprints Combined with Principal Component Analysis , Hierarchical Cluster Analysis and Linear Discriminant Analysis for the Classification and Differentiation of *Peganum harmala* sp . Indigenous to China ', (November 2009), pp. 279–289. doi: 10.1002/pca.1198.
- Chevallier A., Firme S., du digest C. R., 1997** *Encyclopédie des plantes médicinales*. Available at: <https://books.google.com/books?id=nYsrAAAACAAJ&pgis=1>.
- Chira K., Suh J. H., Saucier C., Teissèdre. P. L., 2008** 'Les polyphénols du raisin', *Phytotherapie*, 6(2), pp. 75–82. doi: 10.1007/s10298-008-0293-3.
- Deby-Dupont G., Deby C., Lamy M., 2002** 'Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène', *Reanimation*, 11(1), pp. 28–39. doi: 10.1016/S1624-0693(01)00208-0.

- Delafosse J., Favier A., 1997** 'Radicaux libres oxygénés et antioxydants: aspects cliniques', *Nutr Clin Mdtabol*, 11, pp. 121–124.
- Deng C., Shao H., Pan X., Wang S., Zhang D., 2014** 'Herbicidal effects of harmaline from *Peganum harmala* on photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*: Probed by chlorophyll fluorescence and thermoluminescence', *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Elsevier Inc., 115, pp. 23–31. doi: 10.1016/j.pestbp.2014.08.002.
- Dif M., Benali-Toumi F., Benyahia M., Becheikhi F. A., 2015** 'Enquête sur l'utilisation phytothérapeutique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala', *Phytotherapie*, 13(5), pp. 295–297. doi: 10.1007/s10298-015-0962-y.
- Djafer L., Akil Dahdouh S., Boukachabia R. et Megueddem M., 2017** 'À propos d'un cas d'intoxication mortelle par le harmel (*Peganum harmala* L.)'. DOI 10.1007/s10298-017-1148-6
- Dorman H.J.D., Peltoketoa A., Hiltunen R. et Tikkanen M.J. (2003)** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*. **83**, 255–262.
- Droge W. (2002)** 'Free radicals in the physiological control of cell function', *Physiological Reviews*, 82(1), pp. 47–95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001.
- Eming S. A., Krieg T., Davidson J. M., 2007** 'Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms', *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), pp. 514–525. doi: 10.1038/sj.jid.5700701.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C., 2008** 'Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities', *Comptes Rendus - Biologies*, 331(5), pp. 372–379. doi: 10.1016/j.crv.2008.02.008.
- Favier A., 2003** 'Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension', *Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension*, pp. 108–115.
- Giugliano D., Ceriello A. et Paolisso G., 1996** 'Oxidative Stress and Diabetic Vascular Complications', *Diabetes Care*, 19(3), pp. 257–267. doi: 10.2337/diacare.19.3.257.
- Goel N., Singh N. et Saini R., 2009** 'Efficient in vitro multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) using 6-benzylaminopurine preconditioned seedling explants', *In Vitro*, 7(129), pp. 129–134.
- Hassani E. H. et El Hadek M., 2013** 'Acta Botanica Gallica Analyse de la composition de huile de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae)', 146(4), pp. 37–41.
- Hudaib M. M. et Aburjai T. A., 2006** 'Composition of the essential oil from artemisia herba-alba grown in Jordan', *Journal of Essential Oil Research*, 18(3), pp. 301–304. doi: 10.1080/10412905.2006.9699096.
- Iserin P., 2001** Encyclopedia of Medicinal Plants. *La Rousse*. (2nd Edition). pp: 244–245.
- Iwalewa E., McGaw L. J., Naidoo V. et Eloff J. N., 2007** 'Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions.' *African Journal of Biotechnology*, 6(25), pp. 2868–2885. doi: 10.5897/AJB2007.000-2457.
- Jawad M., Schoop R., Suter A., Klein P. et Eccles R., 2013** 'Perfil de eficacia y seguridad de *Echinacea purpurea* en la prevención de episodios de resfriado común: Estudio clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo', *Revista de Fitoterapia*, 13(2), pp. 125–135. doi: 10.1002/jsfa.
- Kadri A., Ben Chobba I., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak M et Gdoura R., 2011** 'Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba*

- grown in Tunisian semi-arid region', *African Journal of Biotechnology*, 10(15), pp. 2923–2929. doi: 10.5897/AJB10.2491.
- Kartal M., Altun M. L. et Kurucu S., 2003** 'HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L.', 31, pp. 263–269.
- Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z. et Soulimani R., 2011** 'Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique', *Phytotherapie*, 9(5), pp. 274–282. doi: 10.1007/s10298-011-0651-4.
- Kim H. P., Son K.H, Chang H. W. et Kang S.S, 2004** 'Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms', *Journal of Pharmacological Sciences*, 96(3), pp. 229–245. doi: 10.1254/jphs.CRJ04003X.
- Kirschvink N., Moffarts B. et Lekeux P., 2008** 'The oxidant/antioxidant equilibrium in horses', *Veterinary Journal*, 177(2), pp. 178–191. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.07.033.
- Konkon N.G., Simaga D., Adjoungova A. L., Nguessan K.E., Zirihi C.N. et Kone B. D., 2006** 'étude phytochimique de *Mirtagyna inermis*(willd.) o.ktze(Rubiaceae), plante a feuille antidiabetique', XIV, pp. 73–80.
- Lahsissene H., Kahouadji A., Tiljane M. et Hseini S., 2009** 'Catalogue Des Plantes Medicinales Utilisees Dans La Region De Zaër (Maroc Occidental)', *Lejeunia; Revue De Botanique*, 186, p. 8.
- Lee J.Y., Erdos G., Hou Z., Kim S.H., Kim J.H., Cho J.M. et Corry P.M., 1994** 'Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 137, pp. 141–154.
- Leopoldini M., Russo N. et Toscano M., 2011** 'The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 125(2), pp. 288–306. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
- Levine R. L. et Stadtman E. R., 2001** 'Oxidative modification of proteins during aging', *Experimental Gerontology*, 36(9), pp. 1495–1502. doi: 10.1016/S0531-5565(01)00135-8.
- Li H., Cheng K. et Wong C., 2007** 'Food Chemistry Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae', 102, pp. 771–776. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.022.
- Lobo V., Patil A., Phatak N. et Chandra N., 2010** 'Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health', *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), p. 118. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Mahmoudi S., Khalid M. et Mahmoudi N., 2013** 'Etude de l' extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d' artichaut (*Cynara scolymus* L.)', *Nature & Technologie*, pp. 35–40.
- Marwat S. K., Khan M. A. et Ahmad M., 2008** 'Ethnophytomedicines for Treatment of Various Diseases in D. I. Khan District', 24(2).
- Moroney M. A., Alcaraz M. J., Fordert R. A., Careyt F. et Hoult J. R. S, 1988** 'Selectivity of Neutrophil 5-Lipoxygenase and Cyclo-oxygenase Inhibition by an Anti-inflammatory Flavonoid Glycoside and Related Aglycone Flavonoids', *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 40(11), pp. 787–792. doi: 10.1111/j.2042-7158.1988.tb05173.x.

Références bibliographiques

- Okoli C. O., Akah P. A., Nwafor S. V., Anisiobi A. I., Ibegbunam I. N. et Erojikwe O., 2007** 'Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams', *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), pp. 219–225. doi: 10.1016/j.jep.2006.07.037.
- Ouedraogo R. A., Koala M., Dabire C., Hema A., Bazie V.B.E.J.T., Outtara L. P., Gnoula C., Pale E. et Nebie R.H.C., 2015** 'Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre Nord du Burkina Faso', *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), p. 281. doi: 10.4314/ijbcs.v9i1.25.
- Ouis N., 2015** 'Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Option chimie organique Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Feuille et de Persil. Université d'Oran 1.Pp 239.
- Oyaizu M., 1986** 'Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine.' *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), pp. 307–315. doi: 10.5264/eiyogakuzashi.44.307.
- Penchev P., Angelov G. et Condoret J., 2010** 'Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) Revue de Génie Industriel Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)', (January 2016).
- Rathee P., Chaudhary H., Rathee S., Rathee D., Kumar K. et Kohli K., 2009** 'Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review', *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 8(3), pp. 229–235. doi: 10.2174/187152809788681029.
- Ravelo-calzado Y., Molina-Cuevas V., Jiménez-Despaine S., Pérez-Guerra Y., Oyarzábal-Yera A., Carbajal-Quintana D. et Mas-Ferreiro Y. R., 2011** 'Effects of D-002 on xylene-induced oedema in ear of mice', *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(1), pp. 13–16.
- Richardson J. D. et Vasko M. R., 2002** 'Cellular mechanisms of neurogenic inflammation.', *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 302(3), pp. 839–845. doi: 10.1124/jpet.102.032797.characterized.
- Rodríguez Villanueva J., Martín Esteban j. et Rodríguez Villanueva L., 2017** 'A Reassessment of the *Marrubium Vulgare* L. Herb's Potential Role in Diabetes Mellitus Type 2: First Results Guide the Investigation toward New Horizons', pp. 2–7. doi: 10.3390/medicines4030057.
- Rotelli A. E., Guardia T., Américo Osvaldo J., De La Rocha N. et Ernesto Pelzer Eugenia L., 2003** 'Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation', *Pharmacological Research*, 48(6), pp. 601–606. doi: 10.1016/S1043-6618(03)00225-1.
- Sanogo R., 2006** 'Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle', p. 53.
- Sawadogo W., Lompo M., Guissou I. et Nacoulma O.G., 2008** 'Dosage des triterpènes et stéroïdes de *Dicliptera verticillata* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire topique Article', *Médecine d'Afrique noire*, 4(June).
- Sibilia J., 2007** 'Comment définir et classer les maladies inflammatoires?', *Revue du Rhumatisme (Edition Française)*, 74(8), pp. 714–725. doi: 10.1016/j.rhum.2007.07.003.
- Siegel C. A., 2011 'Review article: Explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients', *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 33(1), pp. 23–32. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04489.x.
- Singh R. P., Sharad S. et Kapur S., 2004** 'Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative

Références bibliographiques

- diseases: relevance of dietary antioxidants', *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 5(3), pp. 218–25. doi: 10.1016/j.canlet.2012.05.012.
- Steinhubl S. R., 2007** 'Platelets as Mediators of Inflammation', *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 21(1), pp. 115–121. doi: 10.1016/j.hoc.2006.11.015.
- Stéphane R. D., 2010** *La Rhumatologie au Quotidien*. 1ère Editi. Service de Rhumatologie, CHU JRB Antananarivo, Madagascar.
- Tereshuck M. L., Riera M. V.Q., Guillermo R. C. et Lidia R. A., 1997** 'Antimicrobial Activity of flavonoid from leaves of *Tagetes minuta*', *J Ethnopharmacol*, 56, pp. 227–232. doi: 10.1016/S0378-8741(97)00038-X.
- Walker E. J., Saraste M., Runswick M. J. et Gay N. J., 1982** 'Distantly related sequences in the a and f subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold John', *The EMBO journal*, 1(8), pp. 945–951. doi: 10.1002/j.1460-2075.1982.tb01276.x.
- Wang H., Zhao M., Yang B., Jiang Y. et Rao G., 2008** 'Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities', *Food Chemistry*, 107(4), pp. 1399–1406. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.068.
- Wazir S. M., Dasti A. A. et Shah J., 2004** 'Common Medicinal Plants of Chapursan Valley, Gojal Ii, Gilgit-Pakistan', *Journal of Research Science) Ph J. res. Sci*, 15(151), pp. 41–43.
- Wong S. P., Leong L.P. et William Koh J. H., 2006** 'Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants', *Food Chemistry*, 99(4), pp. 775–783. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.058.
- Yokozawa T., Chen C.P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G. I. et Nishioka I., 1998** ' Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical.' *Biochemical Pharmacology*. 56, 213-222.
- Zerbo P., Millogo Rasolodimby J., Nacoulma Ouedraogo O., Van Damme P., 2011** 'Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso : cas des Sanan', *Bois et Forêts des Tropiques*, 65(307), pp. 41–53.
- Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef F., Ayadi M. A. et Neffati M., 2010** 'Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso', *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), pp. 871–880. doi: 10.5897/JMPR09.506