



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 Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biochimie

Intitulé :

Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de *Peganum harmala*

Présenté par :

Daoud Hadjer & Hemani Yasmine

Soutenu le 12/ 06/ 2024, Devant le Jury :

Présidente:	M ^{me} . NASRI Meriem	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant:	M ^{me} . DEHIRI Mounira	MAB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur:	M. BELLIK Yuva	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Tout d'abord, je remercie le bon dieu pour nos avoir donné la force, la patience et le courage pour mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements :

- ❖ *A **Dr. NASRI Meriem** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Nous souhaitons lui exprimer notre sincère gratitude.*
- ❖ *A notre encadrante **Dr. DEHIRI Mounira** pour son soutien inestimable tout au long de ce projet. Ses conseils éclairés, sa disponibilité sans faille et ses orientations précieuses ont grandement contribué à notre réussite. Nous sommes reconnaissants pour sa compréhension et son engagement envers notre développement professionnel.*
- ❖ *A **Pr. BELLIK Yuva** qui a accepté d'évaluer ce travail. Nous souhaitons également lui exprimer notre sincère reconnaissance et notre gratitude.*

Nous avant remercier également :

- ❖ *Les collaborateurs de laboratoire du département de SNV.*
- ❖ *Celles et ceux que nous avant oublié de mentionner, excusent cette inattention de hâte.*

Dédicace

"الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات "

الحمد لله شكرا وحبا وامتنانا على البدء والختام ، الحمد لله الذي بفضلله ها أنا اليوم أنظر الى حلم طال انتظاره وقد أصبح واقعا أفخر به.

إلى نفسي العظيمة القوية لم تكن الرحلة قصيرة ، ولا ينبغي لها ان تكون ، لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوفا بالتسهيلات لكني فعلتها ونلتها.

الى من كلله الله بالهبة والوقار ، إلى من كلل العرق جبينه ، ومن علمني أن النجاح لا يأتي الا بالصبر والاصرار من بذل الغالي والنفيس واستمديت منه قوتي واعتزازي بذاتي الى من أحمل اسمه بكل افتخار إلى عمودي الفقري وحيب قلبي والذي العزيز

إلى من جعل الجنة تحت أقدامها وسهلت لي الشدائد بدعائها ، إلى أسمى آيات العطاء البشري ، الى ملاكي في الحياة إلى بلسم جراحي ، ممتنة لان الله اصطفاك لي من البشر أما يا خير سند و عوض الى أعلى الحباب أمي الحبيبة

الى المؤمنسات الغاليات الى من شددت عضدي بهم ، الى قرة عيني أخواتي الغاليات

"ايمان ، انفال ، مريم"

الى رفيقات السنين ، لا صحاب الشدائد والازمات

"هاجر ، اسماء ، توبة ، شيماء ، يسرى"

اليكم عائلتي أهدىكم هذا الانجاز وثمره نجاحي الذي لا طالما تمنيتنه ، ها انا اليوم اكملت واتممت اول ثمراته بفضلله سبحانه وتعالى ، فالحمد لله على ما وهبني واسأل الله ان يجعلني مباركا وان يعينني اينما كنت ، فمن قال انا لها نالها وان ابنت اتيت بها رغما عنها.

"إني جزيتهم اليوم بما صبروا"

ياسمين

Dédicace

"الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات"

*Je commence cette dédicace en exprimant ma gratitude à **Allah**, qui m'a accordé la force, la patience et la guidance nécessaires pour achever ce mémoire.*

À ma mère, pour ton amour sans limites, ta force et ta persévérance. Merci de croire en moi et de m'encourager à chaque étape de ma vie.

À mon père, pour ta sagesse, tes encouragements et ta foi inébranlable en mes capacités.

À mes frères, pour votre soutien inconditionnel, Vous êtes ma force et ma motivation.

*À ma sœur **Fatima Zohra**, ta présence et ton soutien constant. Merci d'avoir été mon roc dans les moments difficiles et d'avoir partagé avec moi les moments de triomphe.*

*À ma binôme **Yasmine**, pour toute ta patience et ta douceur. Merci pour tous les jours que nous avons passés ensemble, en toute fraternité, pour réaliser ce travail. Merci, Yasmine.*

*À mes chers amis **Taouba, Yousra, Asma et Chaima**, pour votre soutien sans faille et vos encouragements précieux. Votre amitié a été une source inépuisable de force et d'inspiration. Merci à chacune de vous.*

"إني جزيتهم اليوم بما صبروا"

Hadjer

ملخص

Peganum harmala L، المعروف باسم "الحرمل"، ينتمي إلى عائلة (Zygophyllaceae)، هو من أكثر النباتات استخدامًا في الطب التقليدي لأغراض علاجية. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لنبته الحرمل، خاصة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب لمستخلصات أوراقها باستخدام طريقتين: المستخلص الهيدروميثانولي (EHm) ومغلي الأوراق (EDc). أظهر التحليل الكمي للمركبات النباتية أن أوراق الحرمل غنية بالبوليفينولات (EHm: $107.16 \pm 2.88 \mu\text{g}$ EAG/mg ; EDc: $40.93 \pm 0.21 \mu\text{g}$ EAG/mg والفلافونويدات. $4.12 \pm 0.28 \mu\text{g}$ EQ/mg). في المقابل، أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام طريقتين؛ اختبار تثبيط جذر DPPH واختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC)، أن المستخلصات تمتلك أنشطة مضادة للأكسدة ملحوظة. وقد تم تسجيل أعلى قدرة تثبيط في مستخلص (EHm) مع (IC_{50}) يبلغ $70.37 \pm 0.87 \mu\text{g/ml}$ ، ومع ذلك، فإن هذه الأنشطة كانت أقل مقارنةً بمضاد الأكسدة الصناعي بيوتيلهيدروكسي تولوين (BHT) الذي أظهر IC_{50} يبلغ $28.23 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$ أما بالنسبة للتأثير المضاد للالتهاب في المختبر باستخدام طريقة تثبيط تحلل ألبومين مصّل البقر (BSA)، أظهرت النتائج أن كلا المستخلصين يثبطان تحلل BSA. باختصار، يمكن أن تكون نبتة الحرمل مصدرًا هامًا للمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب. من المستحسن إجراء دراسات إضافية في المختبر وفي الجسم الحي من أجل دمجها في تصنيع الأدوية المضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية

Peganum harmala L، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، البوليفينولات، الفلافونويدات.

Abstract

Peganum harmala L., commonly known as "harmel," belongs to the Zygophyllaceae family and is one of the most utilized plants in traditional medicine and therapeutic purposes. This study aimed to evaluate certain biological activities of *P. harmala*, specifically the antioxidant and anti-inflammatory activities of its hydro-methanolic extract (HmE) and decoction extract (DcE) from the leaves. Phytochemical analysis revealed that the leaves of *P. harmala* are rich in polyphenols (HmE: 107.16 ± 2.88 $\mu\text{g GAE/mg}$; DcE: 40.93 ± 0.21 $\mu\text{g GAE/mg}$) and flavonoids (HmE: 14.65 ± 1.48 $\mu\text{g QE/mg}$; DcE: 4.12 ± 0.28 $\mu\text{g QE/mg}$). *In vitro* antioxidant effect was estimated using two methods: DPPH radical scavenging and total antioxidant capacity (TAC), which revealed significant antioxidant activities of the extracts. The highest scavenging power was observed in the HmE extract with an IC_{50} of 70.37 ± 0.87 $\mu\text{g/ml}$, although these activities are lower than butylated hydroxytoluene (BHT), which shows an IC_{50} of 28.23 ± 0.17 $\mu\text{g/ml}$. Based on the results obtained from the evaluation of the anti-inflammatory effect *in vitro* using the bovine serum albumin (BSA) denaturation method, both extracts inhibit BSA denaturation. In summary, *P. harmala* L. could be an important source of bioactive compound with antioxidant and anti-inflammatory properties. Further studies of this plant *in vitro* and *in vivo* are desirable in order to integrate it into the manufacture of anti-inflammatory drugs.

Keywords

Peganum harmala L, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, polyphenols, flavonoids.

Résumé

Peganum harmala L., connu sous le nom de « harmel » appartient à la famille de Zygophyllaceae, est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques. La présente étude visait à évaluer certaines activités biologiques de *P. harmala*, particulièrement l'activité antioxydante et l'anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique (EHm) et l'extrait de décoction (EDc) des feuilles de cette plante. L'analyse phytochimique a montré que les feuilles de *P. harmala* riche en polyphénols (EHm : 107.16 ± 2.88 µg EAG/mg ; EDc : 40.93 ± 0.21 µg EAG/mg) et en flavonoïdes (EHm : 14.65 ± 1.48 µg EQ/mg ; EDc : 4.12 ± 0.28 µg EQ/mg). En revanche, l'estimation de l'effet antioxydant *in vitro* par deux méthodes : le teste de piégeage du radical DPPH et la capacité antioxydante totale (TAC) à révèlent des activités antioxydantes significatives des extraits. Le plus fort pouvoir de piégeage a été constaté dans l'EHm avec IC_{50} de 70.37 ± 0.87 µg/ml. Cependant ces activités sont faibles en comparaison avec butylhydroxytoluène (BHT) qui montre un IC_{50} de 28.23 ± 0.17 µg/ml. L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA), montrent que les deux extraits inhibent la dénaturation de la BSA. En résumé *P. harmala* L. pourrait constituer une source importante de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Des études complémentaires de cette plante *in vitro* et *in vivo* sont souhaitables afin de l'intégrer dans la fabrication de médicaments anti-inflammatoires.

Mots clés

Peganum harmala L., activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, polyphénols, flavonoïdes.

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

BHT : Butylhydroxytoluène

BSA : Albumine sérique bovine.

°C : Degré Celsius.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent acide gallique.

EQ : Equivalent quercétine.

FeCl₃ : chlorure ferrique.

g : Gramme.

h : Heure.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCL : Chlorure d'hydrogène.

MeOH : Méthanol.

M_{EX} : Masse d'extrait obtenu (g).

mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

mM : Millimole.

M_{MV} : Masse de la matière végétale séchée (g).

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

Na₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de sodium.

Na₃PO₄ : Phosphate de sodium.

NaH₂PO₄ : Dihydrogénophosphate de sodium.

nm : Nanomètre.

ROS : Radicaux libres oxygénés.

TAC : Capacité antioxydante totale.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

UV/VIS : Ultraviolet-visible.

Liste des figures

Figure 1: Les feuilles de la plante <i>Peganum harmala</i> L.	3
Figure 2: Les différentes parties de la plante <i>Peganum harmala</i> L. (A : fleurs, B : fruits, C : graines).	4
Figure 3: Schéma de protocole de préparation de l'extrait de décoction.	5
Figure 4: Schéma de protocole de préparation de l'extrait hydro-méthanolique.	6
Figure 5: Schéma de la réaction entre les radicaux libres et les antioxydants	7
Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	10
Figure 7: La teneur en polyphénols des extraits de <i>Peganum harmala</i> L.	11
Figure 8: Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	11
Figure 9: La teneur en flavonoïdes des extraits de <i>Peganum harmala</i> L.	12
Figure 10: L'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHT.	13
Figure 11: Pourcentage inhibition du radical libre DPPH en fonction de la différente concentration des extraits de <i>P. harmala</i> L.	13
Figure 12: IC ₅₀ des extraits de <i>Peganum harmala</i> L.	14
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour déterminer l'activité antioxydante totale.	15
Figure 14: Capacité antioxydante totale des extraits de <i>Peganum harmala</i> L.	16
Figure 15: Effet anti-inflammatoire <i>in vitro</i> des extraits de <i>P.harmala</i> et de Diclofénac.	17

Liste des tableaux

Tableau 1 : Rendement des extraits hydrométhanoliques et de décoctions des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L.....	9
---	---

Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Chapitre 1: Matériels et méthodes	
1. Matériel	3
1.1. Description botanique	3
1.2. Classification botanique	4
1.3. Etudes phytochimiques	4
2. Méthode	4
2.1. Préparation des extraits	5
2.1.1. Préparation d'extrait de décoction (EDc)	5
2.1.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHm)	6
2.2. Dosage des métabolites secondaires	6
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux	6
2.2.2. Dosage des flavonoïdes	7
2.3. Evaluation de l'activité antioxydante	7
2.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	7
2.3.2. Capacité antioxydante totale (TAC)	8
2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	9
2.4.1. Test de dénaturation d'albumine sérique bovine (BSA).....	9
2.5. Analyses statistiques.....	9
Chapitre 2 : Résultat et discussion	
1. Rendement d'extraction.....	10
2. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	11
2.1. Teneurs en polyphénols.....	11
2.2. Teneur en flavonoïdes.....	12
3. Activité antioxydante.....	13
3.1. Activité scavenger du radical libre (DPPH)	13
3.2. Capacité antioxydante totale (TAC).....	16
4. Effet anti-inflammatoire des extraits de <i>P. harmala</i>	17
Conclusion et perspectives	19

Références bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

Depuis son émergence sur la terre, l'homme a toujours eu une relation étroite avec le règne végétal. Les plantes ont toujours constitué une part intégrante de son alimentation. En parallèle à cette nécessité nutritionnelle, l'être humain a exploré ces plantes sous diverses formes pour traiter les maladies (**Debuigne et Couplan, 2009**).

Les plantes sont riches en métabolites secondaires (**Yanqun Li et al., 2020**). Ces métabolites sont de petites molécules présentant diverses structures chimiques (**Ummahan, 2024**), y compris : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les triterpénoïdes et les polyphénols (**Zhu et al., 2022 ; Senhaji et al., 2022**). Ils servent de matières premières importantes pour l'industrie pharmaceutique en raison de leur vaste activité biologique (**Hongwei et al., 2024**).

Les radicaux libres sont des espèces hautement réactives qui peuvent causer des dommages à l'ADN en raison de leur nature instable et sont une cause documentée de différentes maladies, notamment l'inflammation, le cancer, le vieillissement, les maladies osseuses et même les troubles neurodégénératifs (**Abbas et al., 2021**). Les concentrations des espèces réactives oxygénées (ROS) sont contrôlées et préservées dans un système homéostatique vivant grâce à divers mécanismes, notamment des enzymes telles que la superoxyde-dismutase, la catalase, et la glutathion peroxydase, ainsi que des antioxydants non-enzymatiques comme la vitamine C, la vitamine E et les β -carotènes (**De Almeida et al., 2022**).

L'inflammation est la réponse du système immunitaire à une blessure, une infection ou une destruction caractérisée par la chaleur, la douleur, le gonflement, la rougeur et des fonctions physiologiques perturbées. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les corticostéroïdes sont les plus couramment utilisés pour réduire l'inflammation et soulager la douleur induite par les conditions inflammatoires. (**Abbas et al., 2021**)

L'Algérie constitue un précieux réservoir phylogénétique, hébergeant près de 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Cependant, la reconnaissance de la flore médicinale de ce pays reste partielle, puisque sur les nombreuses espèces végétales répertoriées, (**Hamel et al., 2018**).

Peganum harmala, également connu sous le nom de Harmel, est une plante vivace de la famille des Zygophyllaceae, présente en abondance au Moyen-Orient et en Afrique du Nord. Depuis des siècles, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour soulager la douleur et agir comme antiseptique. En outre, Cette plante est reconnue pour ses nombreuses propriétés bénéfiques, telles que ses effets antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériens, antifongiques, antiviraux, antidiabétiques et antitumoraux. (**Ouzid et al., 2018**).

Dans le cadre de notre travail, l'objectif central est de contribuer à :

- ✓ L'extraction des métabolites secondaires de *Peganum harmala* par différents solvants (Méthanol et eau) ;
- ✓ Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes d'extraits hydro-méthanolique et de décoction ;
- ✓ L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits étudiés par la méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH) et la capacité antioxydante totale (TAC) ;
- ✓ L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits par la méthode d'inhibition de BSA (albumine sérique bovine).

***MATERIELS ET
METHODES***

1. Matériel

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est la partie aérienne (feuilles) de la plante *Peganum harmala* L. Cette plante est récoltée dans la région d'El Hammadia wilaya de Bordj Bou Arreridj (Nord-Est de l'Algérie) qui se caractérise par un climat semi-aride sec (**Fig. 1**).



Figure 1: Les feuilles de la plante *Peganum harmala* L. (Photo personnelle)

1.1 Description botanique

P. harmala est une petite plante herbacée à l'apparence arbustive (**Fig. 2**). La plante est pérenne et peut atteindre une hauteur de 80 cm (**Dube et al., 2011**).

- **La racine** : elle peut atteindre une profondeur allant jusqu'à 6 m (**Shahrajabian et al., 2021**).
- **La tige** : rigide, élevée, hautement ramifiée, anguleuse au-dessus et glabre (**Dube et al., 2011**).
- **Les feuilles** : sont alternées, chaudes, vertes brillantes, longues de 2 à 5 cm, et divisées irrégulièrement trois fois ou plus en segments linéaires (**Dube et al., 2011**).
- **Les fleurs** : sont bisexuelles, de couleur blanche ou jaune pâles, de 2.5 cm de diamètre, et solitaires sur des tiges de 2 à 5 cm de long ou plus dans les aisselles des feuilles (**Dube et al., 2011**).
- **Les fruits** : sont sphériques, capsules en cuir, 7 à 15 mm de diamètre, vert quand immature et orange-brun à maturité. Les capsules ont trois chambres, qui s'ouvrent par trois vannes au sommet pour libérer de nombreuses graines (**Dube et al., 2011**), et contenant 35 à 45 graines (**Shahrajabian et al., 2021**).
- **Les graines** : couleur brun foncé à noir, angulaires, longues de 3 à 4 mm, sont économiquement importantes et ont plusieurs usages (**Dube et al., 2011**).



Figure 2: Les différentes parties de la plante *Peganum harmala* L. (A : fleurs, B : fruits, C : graines) (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

1.2 Classification botanique

Selon Ozenda (1991), la position systématique de *P. harmala* L. est la suivante :

- **Embranchement** : Spermaphyta.
- **Sous embranchement** : Angiospermae.
- **Classe** : Eudicots.
- **Sous classe** : Rosidae.
- **Ordre** : Sapindales.
- **Famille** : Zygophyllaceae.
- **Genre** : *Peganum*.
- **Espèce** : *Peganum harmala* L.

1.3 Etudes phytochimiques

Il existe de nombreux composés différents dans *P. harmala*, qui ont été rapportés en détail en 2017. Plus de 308 composés ont été isolés de *P. harmala*, dont 97 alcaloïdes, 24 flavonoïdes, 10 triterpénoïdes, 3 anthraquinones, 2 phénylpropanoïdes, 18 glucides, 17 acides aminés, 99 huiles volatiles, 26 acides gras, 3 stérols, 1 vitamine, 1 protéine, 1 carotène et 6 autres oligo-éléments. Parmi ces composés, la teneur la plus élevée est celle des alcaloïdes β -carbolines (Zhu *et al.*, 2022).

2. Méthode

Après la récolte, Les feuilles de la plante ont été nettoyées, suivi d'un séchage pendant une période de 10 jours à l'abri de la lumière. Les échantillons ainsi obtenus ont été broyés l'aide d'un broyeur électrique en poudre très fine, puis stockés dans des flacons en verre fermés hermétiquement afin de les préserver de toute exposition ultérieure à la lumière et à l'humidité jusqu'à leur utilisation.

2.1 Préparation des extraits

L'extraction est réalisée selon deux méthodes : macération en utilisant du méthanol à 85 % et décoction avec de l'eau distillée. Une quantité précise (20 g) de la poudre de la plante est mélangée avec 300 ml de chaque solvant. Le mélange obtenu est agité pendant 48 heures à température ambiante pour la macération et pendant 20 minutes à 100°C pour la décoction, puis filtré à travers du papier filtre. Les extraits obtenus sont séchés à l'étuve à une température de 40 °C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec.

2.1.1 Préparation d'extrait de décoction (EDc)

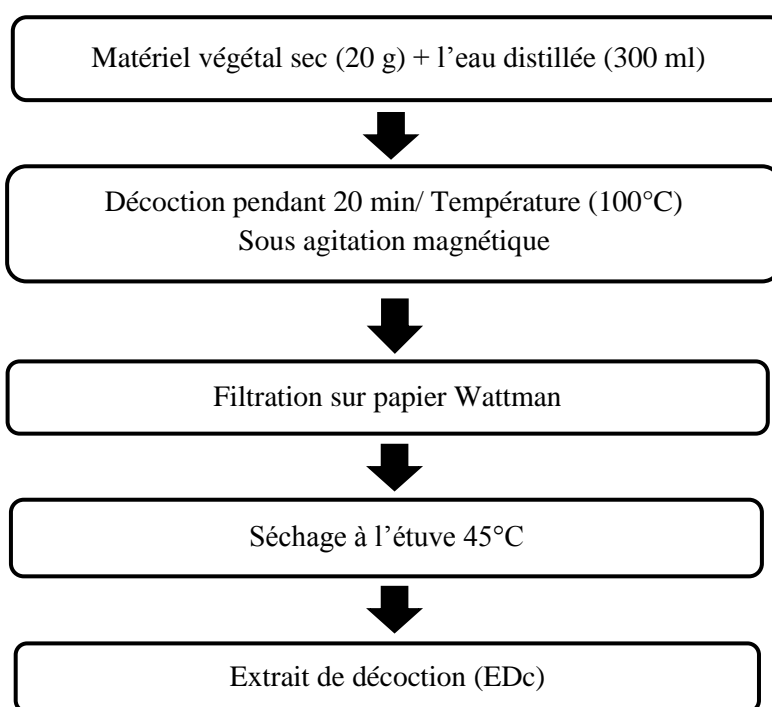


Figure 3 : Schéma de protocole de préparation de l'extrait de décoction (Arrar, 2013).

2.1.2 Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHm)

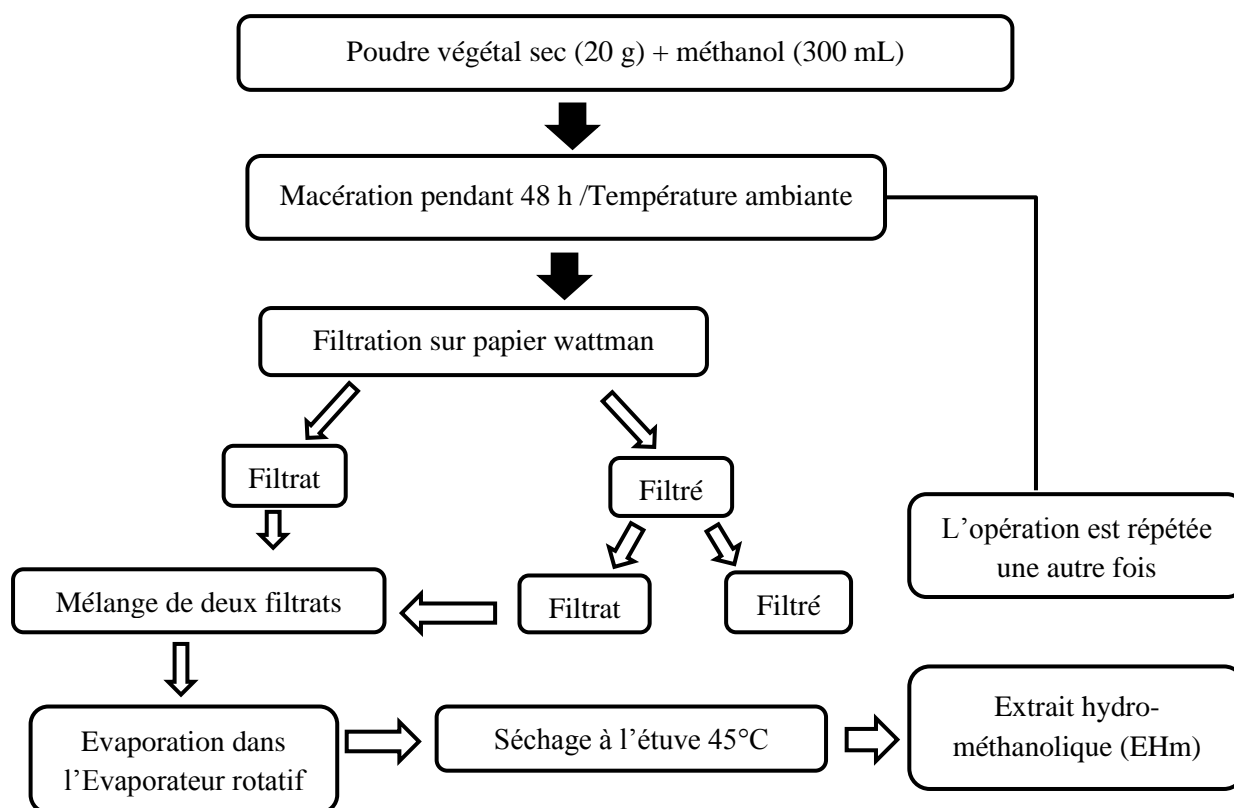


Figure 4 : Schéma de protocole de préparation de l'extrait hydro-méthanolique (Markham, 1982).

2.2 Dosage des métabolites secondaires

2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

A. Principe

La mesure de la teneur phénolique totale est généralement effectuée colorimétriquement à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode repose principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique en phosphomolybdique (connu sous le nom de réactif de Folin). En d'autres termes, ce test exploite la capacité des phénols présents dans l'extrait à réagir avec le réactif de Folin sous conditions alcalines, formant des complexes colorés qui peuvent être quantifiés par spectrophotométrie UV-Vis (Athamena, 2009).

B. Protocole

Pour l'analyse, 500 µl de réactif de Folin (dilué au 1/10 dans de l'eau distillée) est mélangé avec 200 µl d'extrait de *P. harmala* ou de standard avec des dilutions appropriées. Après une incubation de 4 min, 400 µl d'une solution de carbonate de sodium (NaCO₃) à 7.5 % sont ajoutés au mélange réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée en utilisant l'équation de régression établie à partir de la gamme d'étalonnage préparée avec de l'acide Gallique comme standard, et elle est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide Gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (**Li et al., 2007**).

2.2.2 Dosage des flavonoïdes

A. Principe

La quantité de flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) qui repose sur la réaction entre les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium, formant un complexe de couleur jaune (**Bahorun et al., 1996**).

B. Protocole

Pour déterminer la quantité des flavonoïdes dans les extraits, 500 µl d'extrait ou de standard est ajouté 500 µl de la solution d'AlCl₃ (2 % dans le méthanol). Après une incubation de 10 minutes, on mesure l'absorbance à 430 nm.

La concentration en flavonoïdes est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la Quercétine et est exprimée en microgrammes d'équivalent de Quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (**Bahorun et al., 1996**).

2.3 Evaluation de l'activité antioxydante

2.3.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

A. Principe

La méthode du pouvoir antiradicalaire ou de l'effet scavenger sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une technique indirecte utilisée pour évaluer les capacités antioxydants des composés naturels. Dans ce test, l'antioxydant réagit avec le radical DPPH violet, le transformant en un composé jaune (le diphényl picrylhydrazine), dont l'intensité de la couleur diminue à mesure que la concentration d'antioxydants dans l'échantillon augmente (**Sanchez Moreno, 2002**) (**Fig. 5**).

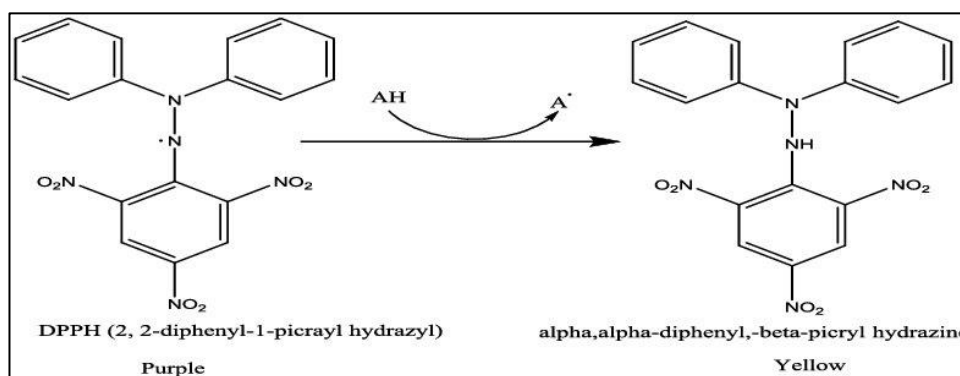


Figure 5 : Schéma de la réaction entre les radicaux libres et les antioxydants (Gajić *et al.*, 2020).

B. Protocole

Prendre 750 µl des solutions d'extraits ou du standard butylhydroxytoluène (BHT) et ajoutés à 50 µl de DPPH. Les mélanges ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis la décoloration a été mesurée à 517 nm par rapport à un contrôle positive contenant que la solution de DPPH et de méthanol, utilisant un spectrophotomètre UV/visible (Burits et Bucar, 2000).

L'activité antiradicalaire du DPPH a été calculée selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right] \times 100.$$

2.3.2 Capacité antioxydante totale (TAC)

A. Principe

La méthode consiste à convertir le molybdène Mo (VI), présent sous forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} , en molybdène Mo(V) sous forme de MoO^{2+} . Cette réduction se manifeste par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo(V)) à pH acide en présence de l'extrait (Prieto *et al.*, 1999).

B. Protocole

Pour chaque échantillon, 0.1 ml d'extrait ou d'acide ascorbique ont été combinés avec 1 ml d'une solution réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Ce mélange a été incubée à 95°C pendant 90 minutes dans un bain-marie. Ensuite, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm après refroidissement (Prieto *et al.*, 1999). L'activité de l'extrait est comparée à celle d'un contrôle positif (BHT).

2.4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

2.4.1 Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

L'activité anti-inflammatoire des extraits a été évaluée par la méthode de dénaturation de la sérum albumine bovine (BSA) (**Abbas et al., 2021**).

L'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de *P. harmala* est déterminé à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine du sérum bovin (BSA) (**Williams et al., 2008**). Brièvement, 500 µl de la solution aqueuse de BSA à 0.2 % préalablement préparée dans un tampon Tris-HCl (20 mM, pH 6.8) sont ajoutés à 500 µl des différentes concentrations de chaque extrait ou de Diclofénac (l'anti-inflammatoire de référence) (250 µg/ml). Le contrôle est composé de 500 µl de la solution aqueuse de BSA et 500 µl d'eau distillée. Ce mélange est incubé à 37°C pendant 20 min, puis à 65°C pendant 10 min (**Dehiri, 2023**). Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ test}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

2.5 Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type (SD), L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 8.00). Les données ont été soumises à un test t de Student et à une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivis du test de Dunnett ou du test de Tukey pour les comparaisons multiples. Les différences ont été considérées comme significatives pour $p < 0.01$.

***RESULTATS ET
DISCUSSION***

1. Rendement d'extraction

Dans la présent étude l'extraction a été effectuée à partir d'une poudre végétale des feuilles de *P. harmala* par la méthode de macération en utilisant le méthanol à 85 % et par la méthode de décoction en utilisant l'eau distillé afin d'obtenir l'EHm et l'EDc, respectivement.

Le rendement d'extraction se définit comme le pourcentage de la masse d'extrait obtenu par rapport au poids sec de la poudre végétale de *P. harmala*.

$$R\% = ([M_{EX} / M_{MV}] \times 100)$$

Où

M_{EX} : masse d'extrait obtenu (g).

M_{MV} : masse de la matière végétale séchée (g).

Les résultats des rendements obtenus sont présentés dans le **Tableau1**.

Tableau 1 : Rendement en (%) des extraits des feuilles de *P. harmala* L.

Extraits	Extrait hydro-méthanolique (EHm)	Extrait de décoction (EDc)
Rendement (%)	16.79	16.13

Nous observons que l'extraction hydro-méthanolique donne un rendement d'extraction 16.79 % presque similaire à celui de l'extraction par décoction 16.13 %.

Les études d'**Atrooz et al. (2018)** donnent un rendement d'EHm 19.9 % proche à celui trouvé dans notre étude 16.79 %. Cependant des études antérieures réalisées par **Guergour (2018)**, montrent un rendement de 10.52 % en utilisant une extraction par macération dans le méthanol. En revanche, le rendement de l'EDc 16.13 % est inférieur à celui rapporté par **Behidj-Benyounes et al. (2013)**, qui ont obtenu un rendement de 34.10 % en utilisant trois solvants, y compris l'eau.

Cette différence entre les résultats de notre étude et ceux des autres recherches peuvent être attribuée à l'efficacité des méthodes d'extraction employées (macération, décoction...). Le rendement d'extraction est aussi influencé par plusieurs paramètres, incluant l'origine et la période de récolte de l'espèce, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction ainsi que la température utilisée (**Zhang et al., 2018**). D'autre part, la polarité du solvant est l'un des facteurs qui affecte directement le rendement d'extraction (**Medjeldi et al., 2018**).

De même, des rapports antérieurs ont indiqué que le solvant le plus approprié pour l'extraction des composés phénoliques des plantes médicinales et aromatiques est le méthanol (Djidel *et al.*, 2013). L'utilisation de mélange alcool/eau a pour but d'extraire les composés polaires ainsi que les composés de moyenne et de faible polarité.

2. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes

2.1 Teneur en polyphénols

Les concentrations de polyphénols ont été mesurées en se basant sur l'équation de régression obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Fig. 6). Les résultats sont rapportés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

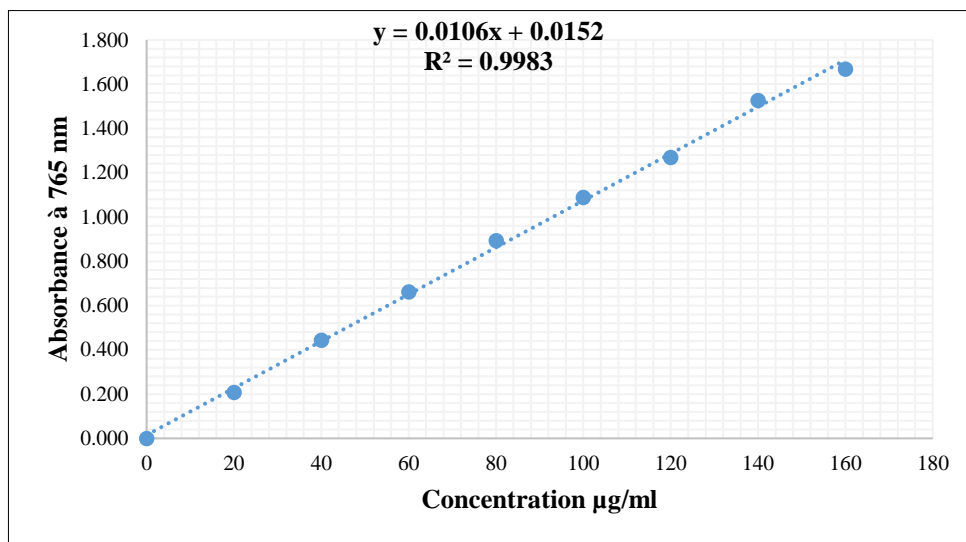


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

La teneur en polyphénols d'EHm et l'EDc sont représentés dans la figure 7. Selon ces résultats, on remarque que l'extrait hydro-méthanolique est le plus riche en polyphénols $107.16 \pm 2.88 \mu\text{g}$ EAG/mg Ext en comparaison avec l'extrait de décoction $40.93 \pm 0.21 \mu\text{g}$ EAG/mg Ext.

Selon des études antérieures, nos résultats sont supérieurs à ceux de Hadadi *et al.* (2020) qui a rapporté que la teneur en polyphénol dans l'EHm de *P. harmala* avec une valeur de 39.3 mg EAG/g. En plus, Abbas *et al.* (2021), montrent que l'extrait de méthanol a une forte teneur en polyphénols 371.4 mg EAG/g.

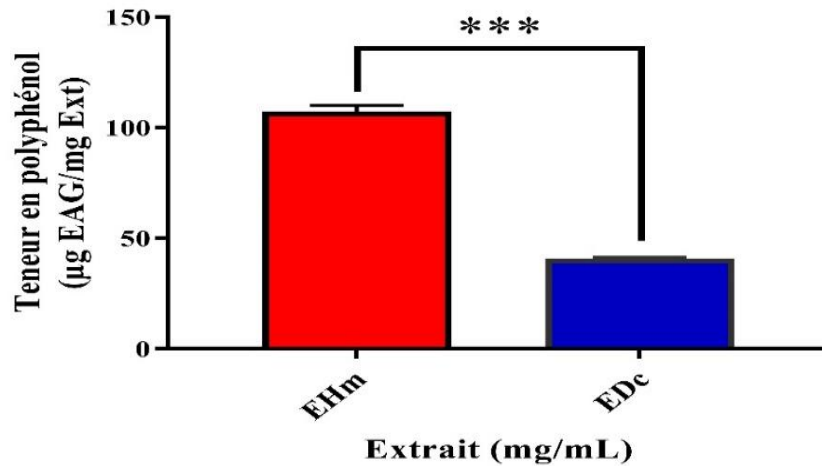


Figure 7 : La teneur en polyphénols des extraits de *P. harmala* L. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). **EHm** : extrait hydro-méthanolique, **EDc** : extrait de décoction, *** ($p < 0.001$) Différence significative entre les deux extraits.

2.2 Teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes se fait en utilisant la méthode de trichlorure d'aluminium avec la Quercétine comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de Quercétine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

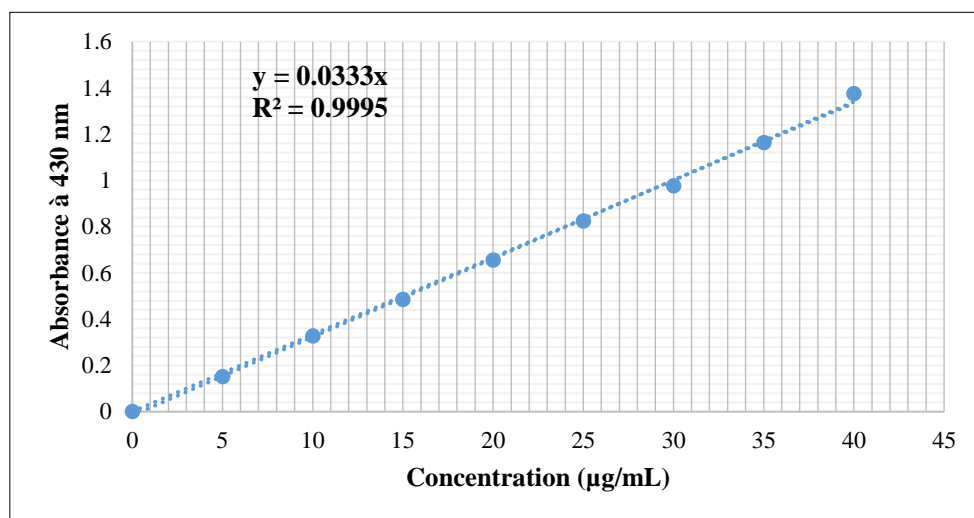


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes d'extraits hydro-méthanolique et de décoction sont représenté dans la **figure 9**. Les résultats révèlent que l'EHm est le plus riches en flavonoïdes avec de teneur de $14.65 \pm 1.48 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait qui est supérieur à celui de l'extrait de décoction $4.12 \pm 0.28 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

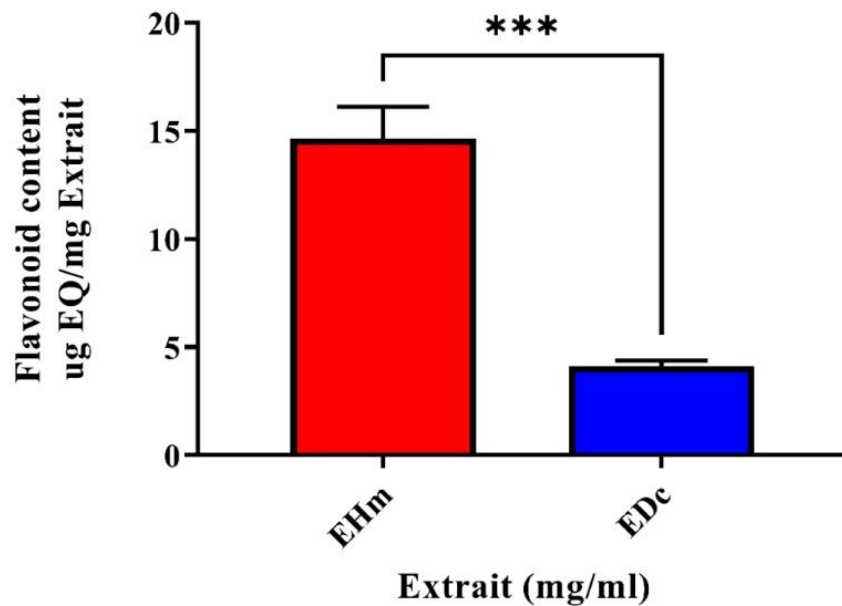


Figure 9 : La teneur en flavonoïdes des extraits de *Peganum harmala* L. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). **EHm** : extrait hydro-méthanolique, **EDc** : extrait de décoction, *** ($p < 0.001$) Différence significative entre les deux extraits.

Selon **Abbas et al. (2021)**, l'extrait de méthanol ayant une forte teneur en flavonoïdes 1.3 mg EQ/g. D'après **Fatma et al. (2016)** L'analyse phytochimique préliminaire des extraits des feuilles de *P. harmala* a démontré la présence de flavonoïdes avec une valeur de 5 mg/g.

3. Activité antioxydante

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits a été réalisée à l'aide de deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la capacité antioxydante totale (TAC).

3.1 Activité scavenger du radical libre DPPH

La méthode utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est fréquemment utilisée en raison de sa simplicité. L'activité antioxydante des différents extraits de *P. harmala* contre le radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical.

Le BHT, un antioxydant couramment utilisé comme référence, a présenté un pourcentage d'inhibition significatif du radical libre DPPH, même à des concentrations relativement faibles 32.09 ± 0.5 % et 95.87 ± 0.5 % de petite à grande concentration, respectivement.

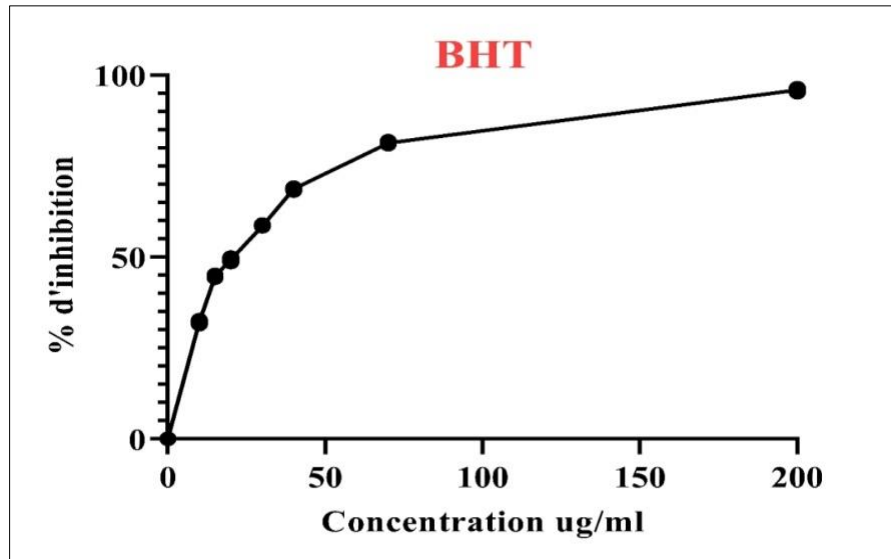


Figure 10 : L'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHT.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits de *P. harmala* étaient capables de décolorer le radical DPPH violet en DPPH-H jaune et semble dépendre de la concentration (l'augmentation de % avec l'augmentation de la concentration des extraits). Ces extraits montrent une activité importante de piégeage du radical DPPH : 14.09 à 91.24 % pour l'EHm et de 33.78 à 93.62 % pour l'EDc (**Fig. 11**).

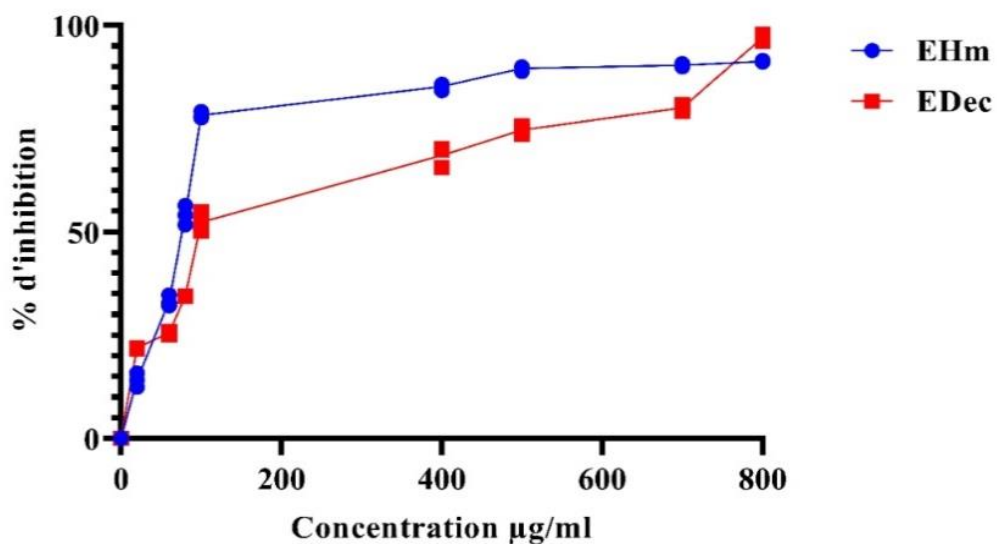


Figure 11 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la différente concentration des extraits de *P. harmala* L.

L'activité antiradicalaire est estimée par la valeur d'IC₅₀ qui représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour inhibé 50 % du radical DPPH. Plus la valeur IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est importante (Oliveira *et al.*, 2016).

L'EHm représente l'extrait le plus actif, leur IC₅₀ est de 70.37 ± 0.87 µg /ml, suivi de l'EDc avec une IC₅₀ d'ordre de 72.26 ± 0.73 µg /ml. Tous ces deux extraits ont montré une activité de piégeage du DPPH inférieure à celles du BHT (IC₅₀ : 28.22 ± 0.17 µg/ml), avec une différence sont significatives ($p < 0.001$) (Fig. 12).

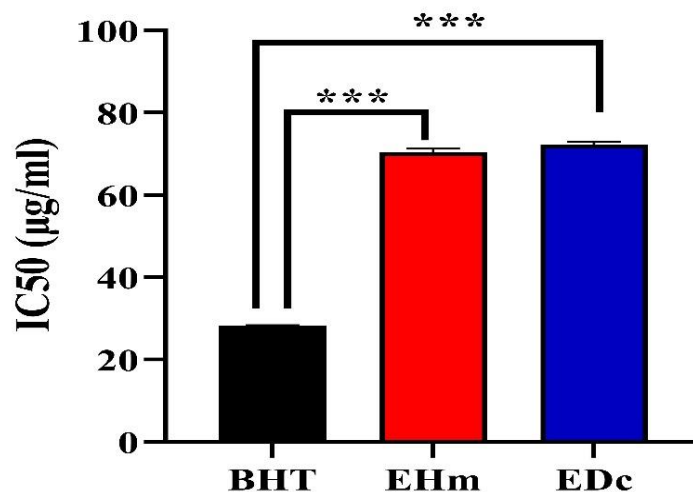


Figure 12 : IC₅₀ des extraits de *Peganum harmala* L. et de BHT. Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3). **EHm** : extrait hydro-méthanolique, **EDc** : extrait de décoction, **BHT** : ButylHydroxyToluène. *** ($p < 0.001$) Différence significative par rapport au

Des recherches indiquent que l'extrait des feuilles d'harmel ont démontré une inhibition des radicaux libres avec une IC₅₀ de 112.96 µg/ml (Guergour *et al.*, 2018), ce résultat est supérieur à celui trouvé dans notre extrait hydrométhanolique, ce qui révèle que cet extrait est plus actif IC₅₀ = 70.376 ± 0.8783 µg /ml. Akhtar *et al.* (2022) ont obtenu une IC₅₀ de l'extrait de la partie aérienne de 54.5 ± 0.69 µg/ml. Ce résultat est inférieur à celui trouvé dans la présente étude.

Plusieurs études montrent que l'activité antiradicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Locatelli *et al.*, 2010). Les différences dans les valeurs d'IC₅₀ peuvent être dues à la nature du solvant, la méthode d'extraction et à l'origine géographique de la plante (Allaq *et al.*, 2021). Les variations des valeurs d'IC₅₀ peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant, la méthode d'extraction et l'origine géographique de la plante (Allaq *et al.*, 2021).

3.2 Capacité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale de différents extraits de *P. harmala* a été mesurée en utilisant un dosage au phosphomolybdate. Pour déterminer l'activité antioxydante totale, une équation de régression basée sur une courbe d'étalonnage avec de l'acide ascorbique a été utilisée (Fig.13).

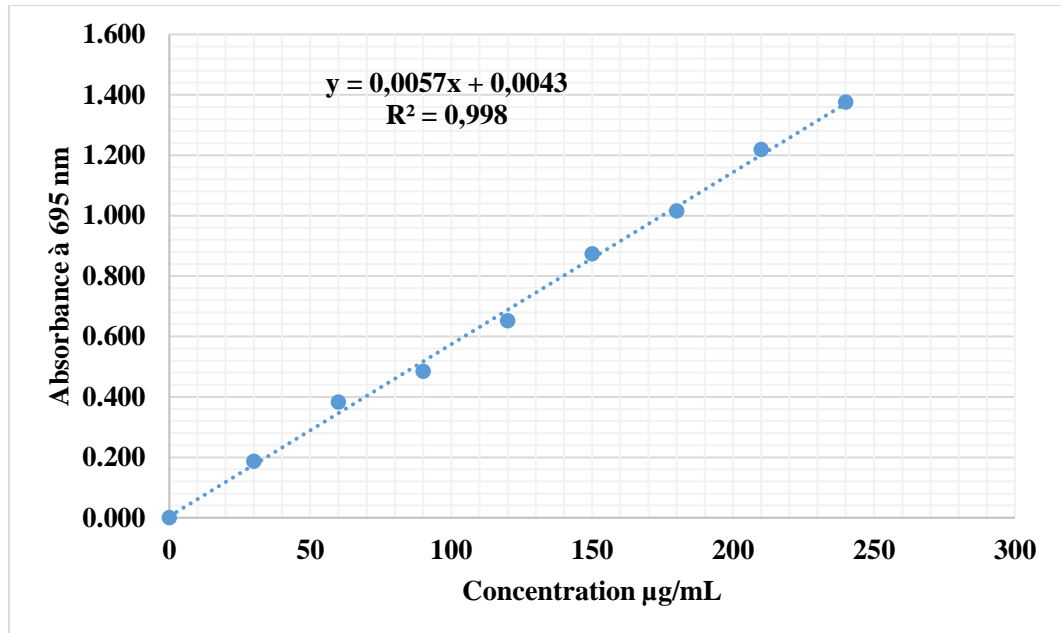


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour déterminer l'activité antioxydante totale.

Nos résultats montrent que l'extrait hydro-méthanolique a une capacité antioxydante élevée, avec une valeur de $94.74 \pm 0.77 \mu\text{g EAA/mg Ext}$, en comparaison avec l'EDc a une capacité antioxydante plus faible, de $38.30 \pm 0.42 \mu\text{g EAA/mg Ext}$. Cependant, ces capacités restent significativement inférieures ($p < 0.0001$) par rapport à celle du BHT, dont la capacité antioxydante est de $108.71 \pm 3.20 \mu\text{g EAA/mg Ext}$ (Fig. 14).

D'après les études de **Elansary et al. (2020)**, les extraits des feuilles de *P. harmala* ont une forte activité antioxydante. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Edziri et al. (2010)**.

Les résultats de notre étude sont très proches de ceux-ci, ce qui suggère que cette plante possède des propriétés antioxydantes.

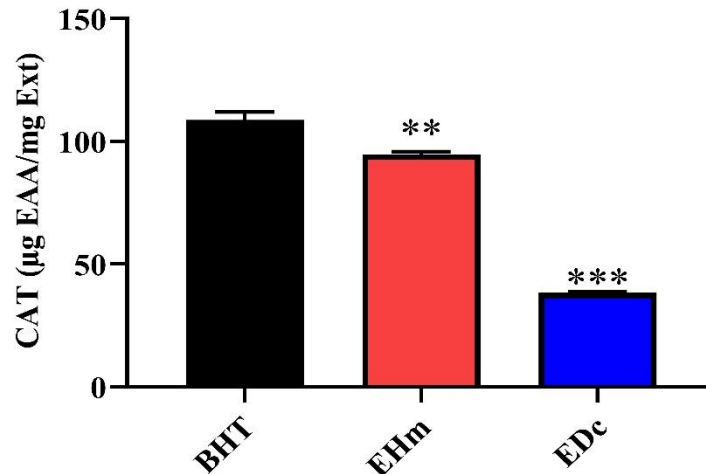


Figure 14 : Capacité antioxydante totale des extraits de *Peganum harmala* L. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). **BHT** : butylhydroxytoluène, **EHm** : extrait hydro-méthanolique ; **EDc** : extrait de décoction, *** ($p < 0.001$), ** ($p < 0.01$) : Différence significative par rapport au BHT.

4. Effet anti-inflammatoire des extraits de *P. harmala*

Pour l'estimation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* de *P. harmala*, la capacité de différents extraits à inhiber la dénaturation de la BSA a été étudiée. Les résultats indiquent que l'EHm possède un effet inhibiteur sur la dénaturation de la BSA, similaire à celui du Diclofénac, un anti-inflammatoire de référence, qui exprime un pourcentage d'inhibition de 29.77 ± 0.56 % à une concentration de 25 µg/ml et 92.13 ± 0.56 % à une concentration de 250 µg/ml. Cependant, l'EHm et l'EDc montrent un pourcentage d'inhibition de 7.57 ± 0.42 % et 18.92 ± 0.12 % à une concentration de 25 µg/ml et 91.83 ± 0.16 % et 80.27 ± 0.12 % à une concentration de 250 µg/ml, respectivement (**Fig. 15**).

Les pourcentages d'inhibition des extraits sont significatifs ($p < 0.001$) par rapport au standard (Diclofénac) à la concentration (25 µg/ml à 100 µg/ml), et statistiquement similaire entre le Diclofénac et l'EHm à la concentration 250 µg/ml.

Nos résultats sont très proches de ceux obtenus par **Dehiri (2023)**, qui a constaté que les pourcentages d'inhibition avec les extraits des graines de *P. harmala* à des concentrations de 250 µg/ml étaient de 80.61 ± 0.84 % pour l'EHm et de 76.40 ± 1.12 % pour l'EDc.

Abbas et al. (2021), ont rapporté que l'extrait méthanolique (100 %) de *P. harmala* inhibe la dénaturation de BSA à 63.0 %, alors que le Diclofénac à 400 µg/ml atteint une inhibition de 97 %. Nos résultats suggèrent que la plante de *P. harmala* pourrait avoir un effet anti-inflammatoire.

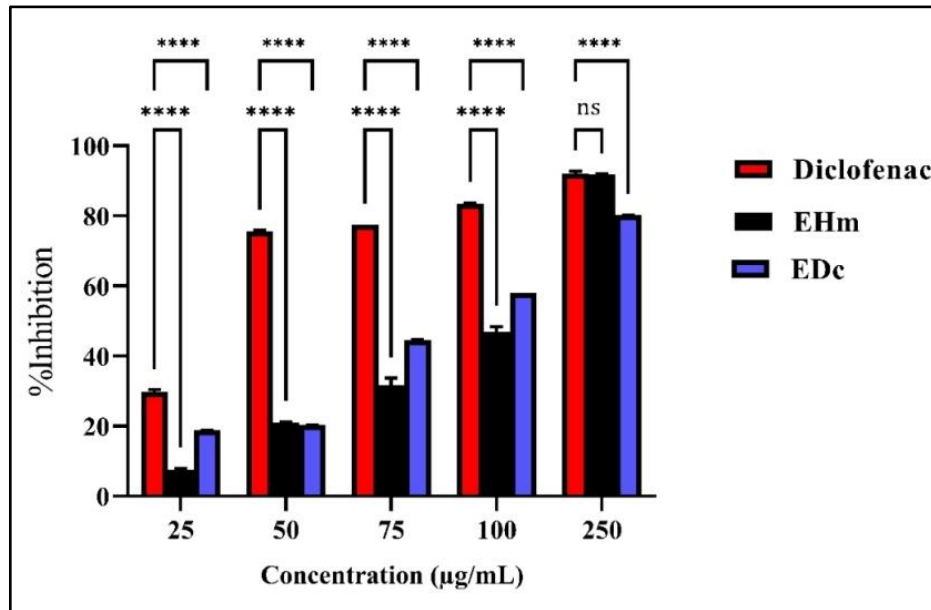


Figure 15 : Effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de *P. harmala* et de diclofenac. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). **EHm** : extrait hydro-méthanolique ; **EDc** : extrait de décoction, *** ($p < 0.001$) Différence significative par rapport au Diclofénac. **ns** : pas de différence.

L'effet anti-inflammatoire des extraits pourrait résulter de l'interaction de certains composants avec deux sites spécifiques sur des protéines comme l'albumine. Des études ont montré que les composants des plantes médicinales traditionnelles, grâce à leur affinité pour les liaisons riches en tyrosine, thréonine et lysine, exercent leurs effets thérapeutiques en se liant aux protéines plasmatiques (Williams *et al.*, 2008).

D'après les résultats, il est clair que les deux extraits peuvent contrôler la dénaturation des protéines et donc inhiber la production d'auto-antigènes. L'activité inhibitrice observée sur la dénaturation de la BSA est probablement due à la présence de divers composés bioactifs, tels que les flavonoïdes, identifiés lors des criblages phytochimiques des deux extraits.

De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits des plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* en utilisant la méthode de dénaturation des protéines. Cette méthode s'est avérée efficace pour identifier des agents anti-inflammatoires potentiels, ce qui souligne l'importance des composés bioactifs présents dans les extraits de *P. harmala* pour leur activité anti-inflammatoire.

Khelifi *et al.* (2013), ont examiné *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* et *P. harmala*, et ont mis en évidence une relation directe entre les composés phénoliques, l'activité antioxydante et les propriétés anti-inflammatoires.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les plantes aromatiques et médicinales ont suscité un intérêt passionné dans le domaine de la phytothérapie. Ces plantes renferment une multitude de substances naturelles actives. Leur potentiel bioactif est exploré de manière intensive dans la recherche biomédicale moderne, ouvrant la voie à des applications innovantes dans des domaines aussi variés que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture.

Peganum harmala L. est une plante très utilisée en médecine traditionnelle Algérienne pour traiter plusieurs maladies tels que les maladies inflammatoires, elle possède également des propriétés antibactériennes, antitumorales et antioxydantes.

Dans la présente étude, l'objectif principal était d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits des feuilles de *Peganum harmala* L. Pour cette raison, nous nous sommes intéressés à valoriser les vertus de cette plante par la caractérisation phytochimique.

L'extraction aqueuse (décoction) et alcoolique (méthanol) suivis d'une estimation quantitative des métabolites secondaires indiquent la richesse des feuilles de *P. harmala* en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Les résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test de DPPH et le test de TAC montrent que les extraits étudiés possèdent un pouvoir antioxydant important en comparaison avec l'antioxydant standard : BHT.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits par la méthode d'inhibition de BSA montre que les deux extraits possèdent un potentiel anti-inflammatoire important en comparaison avec le Diclofénac, l'anti-inflammatoire de référence.

Les résultats obtenus jusqu'à présent ne représentent qu'une première phase dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives dans la plante étudiée. Pour une compréhension approfondie des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de cette plante, nos futurs travaux et perspectives permettent d'évaluer de nombreux sujets :

- ✓ Isolement et identification des composés actifs présents dans les extraits de *P. harmala* par des méthodes spécifiques et l'étude de leurs effets isolément.
- ✓ Étudier le *P. harmala* au niveau moléculaire, et d'évaluer d'autres activités biologiques antalgiques, antidiabétique...
- ✓ Étudier la toxicité aiguë et subaiguë afin de déterminer leurs effets toxiques dans une période prolongée.
- ✓ Étude *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abbas M.W., Hussain M., Qamar M., Ali S., Shafiq Z., Wilairatana P., & Mubarak M.S. (2021).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Peganum harmala* Extracts: An *In Vitro* and *In Vivo* Study. *Molecules*. 8, 26(19).
- Akhtar M.F., Raza S.A., Saleem A., Hamid I., Ashraf Baig M.M.F., Sharif A., Sohail k., Javaid Z., Saleem U., & Rasul A. (2022).** Appraisal of anti-arthritic and anti-inflammatory potential of folkloric medicinal plant *Peganum harmala*. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 22(1), 49-63.
- Allaq A.A., Sidik N.J., Abdul-Aziz A., & Ahmed A. (2021).** Antioxidant, Antibacterial, and Phytochemical Screening of Ethanolic Crude Extracts of Libyan *Peganum harmala* Seeds. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 33(13): 74-82.
- Arrar L., Diafet A., Charef N., Khennouf S., & Baghiani A. (2013).** Preventive and curative effect of the methanolic extract of *Ajuga iva* on collagen induced arthritis in rats. *Pharmacognosy Communications*. 3 (2): 1-7.
- Asgarpanah J., & Ramezanloo F. (2012).** Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of pharmacy and pharmacology*, 6(22), 1573-1580.
- Athamena S. (2009).** Etude Quantitative des Flavonoides des graines de *Cuminum Cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus Officinalis* et l'Evaluation de l'Activite Biologique. Magister En Biologie. Université El-Hadj Lakhdar, Batna.
- Atrooz O.M., Wietrzyk J., Filip-Psurska B., Al-Rawashde I., Soub M., & Abukhalil M.H. (2018).** Antiproliferative, antioxidant, and antibacterial activities of crude plant extracts of *Asphodeline lutea* L. and *Peganum harmala* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(11), 148-167.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Din T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luyckx M., & Gazin M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittel-forschung/Drug Research*. 46(11), 1086 -1089.
- Behidj-benyounes N., Dahmane T., Aknouche F., & Demmouche K. (2013).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. produites dans la région de M'sila. *Sciences et technologies. C, Biotechnologies*, 27-37.
- Burits M., & Bucar F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: 323-328.
- De Almeida A.J.P.O., De Oliveira J.C.P.L., Da Silva Pontes L.V., De Souza Júnior J.F., Gonçalves T.A.F., Dantas S.H., De Almeida Feitosa M.S., Silva A.O., & De Medeiros I.A. (2022).** ROS: Basic Concepts, Sources, Cellular Signaling, and its Implications in Aging Pathways. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022(1), 1225578.
- Debuigne G., & Couplan F. (2009).** *Petit Larousse des plantes médicinales*. Franc. Larousse, 6.
- Dehiri M. (2023).** Evaluation de l'Activité Antiarthritique et Toxique des Extraits de *Peganum harmala* L. Thèse de Doctorat . Université Mohammed El Bachir El Ibrahim B.B.A.
- Djidjel S., Khennouf S., Ameni D., Baghiani A., Arrar L., & Charef N. (2013).** Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. Leaves extracts. *Pharmacognosy Communication*. 3: 28-34.

- Dube A., Misra P., Khaliq T., Tiwari S., Kumar N., & Narender T. (2011).** Therapeutic potential of Harmala (*Peganum harmala* L.) seeds with an array of pharmacological activities. *In Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 601-609.
- Elansary H. O., Szopa A., Kubica P., Ekiert H., Al-Mana F. A., & El-Shafei A. A. (2020).** Polyphenols of *Frangula alnus* and *Peganum harmala* leaves and associated biological activities. *Plants*, 9(9), 1086.
- Fatma B., Fatiha, M., Elattafia B., & Noureddine D. (2016).** Phytochemical and antimicrobial study of the seeds and leaves of *Peganum harmala* L. against urinary tract infection pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(10), 822-826.
- Gajić I., Stanojević L., Dinić A., Stanojević J., Nikolić L., Nikolić V., & Savić V. (2020).** The chemical composition of the essential oil and volatile compounds from caraway fruit (*Carum carvi* L.) extracted by headspace-solid phase microextraction and the antioxidant activity. *Advanced Technologies*, 9(1), 37-43.
- Ghedadba N., Bousselesla H., Hambaba L., Benbia S., & Mouloud Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.
- Guergour H. (2018).** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmaco-toxicologiques de la plante *Peganum harmala* (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas).7
- Hadadi Z., Nematzadeh G.A., & Ghahari S. (2020).** A study on the antioxidant and antimicrobial activities in the chloroformic and methanolic extracts of 6 important medicinal plants collected from North of Iran. *BMC chemistry*, 14, 1-11.
- Hamel T., Sadou S., Seridi R., Boukhdir S., & Boulemtafes A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 75-81.
- Hayet E., Maha M., Mata M., Mighri Z., Laurent G., & Mahjoub A. (2010).** Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9(48), 8199-8205.
- Hongwei L.i., Ziyi G.u.o., Mengwei X.u., Juanjuan Z.h.a.o., & Delin X.u. (2024).** Molecular mechanism of miRNA mediated biosynthesis of secondary metabolites in medicinal plants, *Plant Physiology and Biochemistry*.
- Khadhri A., El Mokni R., & Smiti S. (2013).** Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu: *Atractylis gummifera*. *Revue tunisienne de sciences sociales*, 39, 44-52.
- Khlifi D., Sghaier R.M., Amouri S., Laouini D., Hamdi M., & Bouajila J. (2013).** Phytochemical screening, total phenolics and biological activities of Tunisian *Peganum harmala* seed extracts. *Food and Chemical Toxicology*. 55: 202-208.
- Li HB., Cheng KW., Wong CC., Fan KW., Chen F., & Jiang Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*. 102(3): 771-776.
- Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., & Arlorio M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*. 119: 1647-1655.
- Lordan R., Tsoupras A., & Zabetakis I. (2019).** Chapter 2 – Inflammation. *The Impact of Nutrition and Statins on Cardiovascular Diseases*, Academic Press, 23-51.
- Markham K.R. (1982).** Chapter.1 and 2. Techniques of flavonoid identification. *Academic press*, (London): 1-113.
- Marwat S.K., & ur Rehman F. (2011).** Medicinal and pharmacological potential of harmala (*Peganum harmala* L.) seeds. *In Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Academic Press. 585-599

- Medjeldi S., Bouslama L., Benabdallah A., Essid R., Haou S., & Elkahoui S. (2018).** Biological activities, and phytochemicals of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction. *Microbial Pathogenesis*. 121: 173-178.
- Oliveira G.K., Tormin T.F., Sousa R.M., de Oliveira A., de Morais S.A., Richter E.M., & Munoz R.A. (2016).** Batchinjection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food chemistry*. 192: 691-697.
- Ouzid Y., Smail-Saadoun N., & Houali K. (2018).** Comparative Study of in vitro Antioxidant Activity of Foliar Endophytic Fungi and Leaves Extracts of *Peganum harmala* of Dayate Aiat (Ighouat, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(1), 147-157.
- Ozenda P. (1991).** Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} édition, Ed CNRS, Paris. : 662 In mémoire de master Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Aboubakr Belkaïd Tlemcen.
- Prieto P, Pineda M, & Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*. 269(2): 337-341.
- Sánchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Senhaji S., Lamchouri F., Boulfia M., Lachkar N., Bouabid K., & Toufik H. (2022).** Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. *South African Journal of Botany*, 147.
- Shahrajabian M.H., Sun W., & Cheng Q. (2021).** Improving health benefits with considering traditional and modern health benefits of *Peganum harmala*. *Clinical Phytoscience*, 7, 1-9.
- Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., & Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 1111-1117.
- Ummahan Ö.Z. (2024).** Bioinformatics-based detection of secondary metabolite biosynthetic gene clusters and enzymes involved in terpene synthesis in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, *South African Journal of Botany*, 168, 32-45.
- Williams L.A.D., Connar A.O., Latore L., Denis O., Ringer S., Whittaker J.A., Conrad J., Vogler B., Rosner H., & Kraus W. (2008).** The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and nonsteroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*. 57(4): 327-331.
- Yanqun L.i., Dexin K.o.n.g., Ying F.u., Michael R. Sussman., & Hong W.u. (2020).** The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
- Zhang Q.W., Lin L., & Ye W.C. (2018).** Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*. 13(1): 20.
- Zhu Z., Zhao S., & Wang C. (2022).** Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Antiparasitic Activities of *Peganum harmala* and Its Ingredients. A Review. *Molecules*, 27 (13), 4161.

ANNEXE

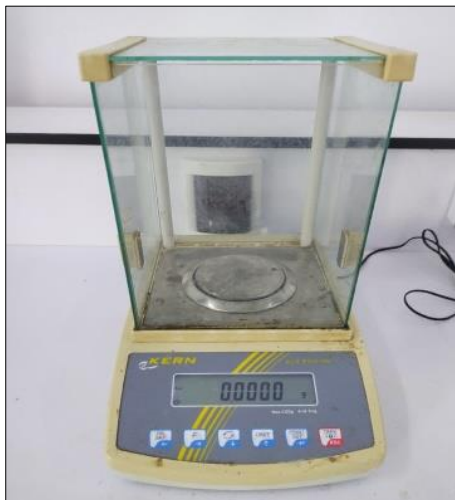
Annexe

1. Réactifs

- ❖ Le solvant organique utilisé est le méthanol.
- ❖ Les différents acides sont : l'acide sulfurique (H_2SO_4) ; l'acide ascorbique et l'acide gallique ; dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) et HCL.
- ❖ Les différentes bases sont : hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4) ; Tris
- ❖ Les réactifs chimiques sont le DPPH diphénylpicryl β hydrazyl, le Molybdate d'ammonium ($(NH_4)_6MO_7O_{24} \cdot H_2O$) ; le trichlorure d'aluminium ; le Folin-Ciocalteu ; sérum d'albumine bovine (BSA).
- ❖ Les sels sont : Bicarbonate de sodium, Phosphate de sodium (Na_3PO_4).
- ❖ D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, le butylhydroxytoluène (BHT), Diclofenac.

2. Appareillages

Annexe 1: Balance.



Annexe 2: Vortex.



Annexe 3: Evapourateur rotative (Buchi Labortechnik AG).



Annexe 4: Spectrophotomètre.



Annexe 5: Bain marie.



Annexe 6: Ph mètre.

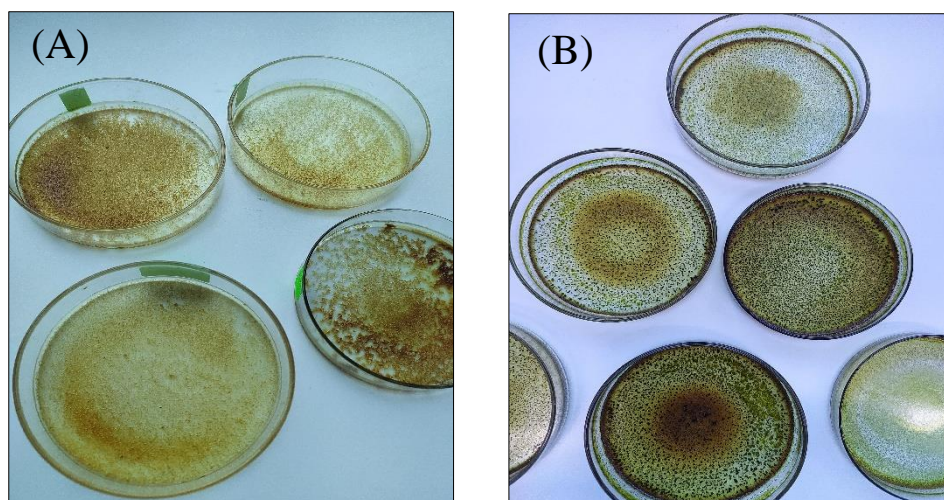


Annexe 7 : l'extrait hydro-méthanolique dans l'étuve.

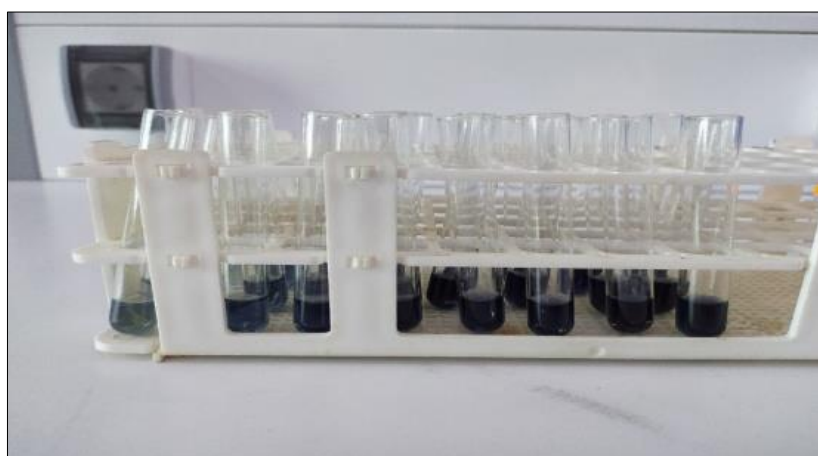


Annexe 8 : Les extraits obtenus avant les séchés à l'aide d'une étuve.

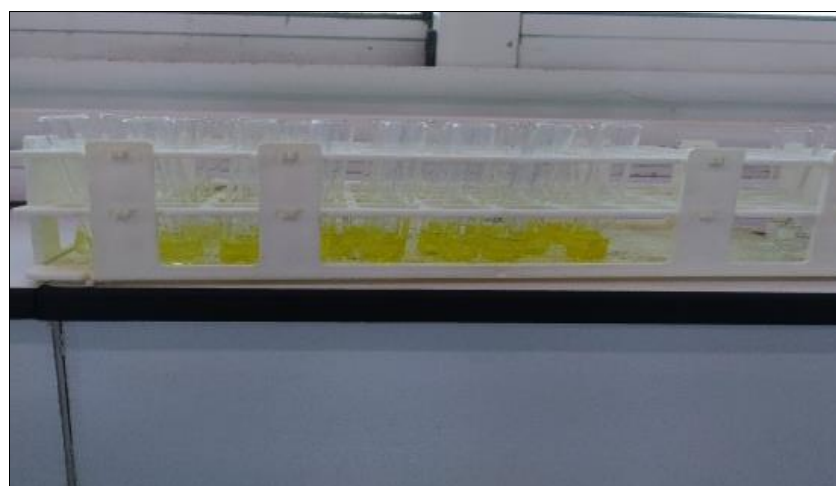
(A) : extrait de décoction ; (B) : extrait hydro-méthanlique.



Annexe 9 : Les résultats de dosage des polyphénols.



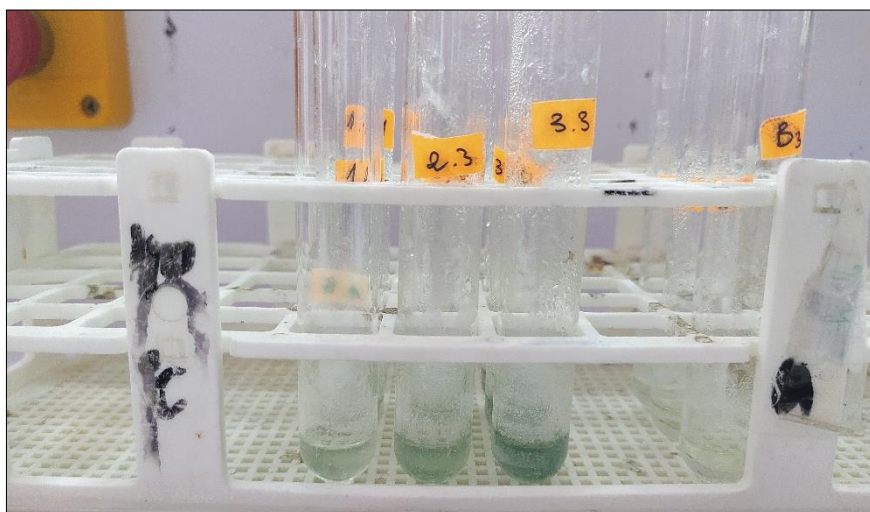
Annexe 10: Les résultats de dosage des flavonoïdes.



Annexe 11: Les résultats de test de piégeage des radicaux libres (DPPH).



Annexe 12: Les résultats capacité antioxydante totale (l'extrait de décoction).



ملخص

Peganum harmala L المعروف باسم "الخزمل"، ينتمي إلى عائلة (Zygophyllaceae)، هو من أكثر النباتات استخدامًا في الطب التقليدي لأغراض وعلاجية. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لنبته الخزمل، خاصة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب لمستخلصات أوراقها باستخدام طريقتين: المستخلص الهيدروميثانولي (EHm) ومغلي الأوراق (EDc). أظهر التحليل الكمي للمركبات النباتية أن أوراق الخزمل غنية بالبوليفينولات (EHm: $14.65 \pm 1.48 \mu\text{g EQ/mg}$; EDc: $4.12 \pm 0.28 \mu\text{g EQ/mg}$) والفلافونويدات. أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام طريقتين؛ اختبار تثبيط جذر DPPH واختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC)، أن المستخلصات تمتلك أنشطة مضادة للأكسدة ملحوظة. وقد تم تسجيل أعلى قدرة تثبيط في مستخلص (EHm) يبلغ $70.37 \pm 0.87 \mu\text{g/ml}$ (IC₅₀)، ومع ذلك، فإن هذه الأنشطة كانت أقل مقارنةً بمضاد الأكسدة الصناعي بيوتيلهيدروكسي تولوين (BHT) الذي أظهر مع IC₅₀ يبلغ $28.23 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$. أما بالنسبة للتأثير المضاد للالتهاب في المختبر باستخدام طريقة تثبيط تحلل ألبومين مصلى البقر (BSA)، أظهرت النتائج أن كلا المستخلصين يثبطان تحلل BSA. باختصار، يمكن أن تكون نبتة الخزمل مصدرًا هامًا للمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب. من المستحسن إجراء دراسات إضافية في المختبر وفي الجسم الحي من أجل دمجها في تصنيع الأدوية المضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Peganum harmala* L، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، البوليفينولات، الفلافونويدات.

Abstract

Peganum harmala L., commonly known as "harmel," belongs to the Zygophyllaceae family and is one of the most utilized plants in traditional medicine and therapeutic purposes. This study aimed to evaluate certain biological activities of *P. harmala*, specifically the antioxidant and anti-inflammatory activities of its hydro-methanolic extract (HmE) and decoction extract (DcE) from the leaves. Phytochemical analysis revealed that the leaves of *P. harmala* are rich in polyphenols (Hm: $107.16 \pm 2.88 \mu\text{g GAE/mg}$; DcE: $40.93 \pm 0.21 \mu\text{g GAE/mg}$) and flavonoids (HmE: $14.65 \pm 1.48 \mu\text{g QE/mg}$; DcE: $4.12 \pm 0.28 \mu\text{g QE/mg}$). *In vitro* antioxidant effect was estimated using two methods: DPPH radical scavenging and total antioxidant capacity (TAC), which revealed significant antioxidant activities of the extracts. The highest scavenging power was observed in the HmE extract with an IC₅₀ of $70.37 \pm 0.87 \mu\text{g/ml}$, although these activities are lower than butylated hydroxytoluene (BHT), which shows an IC₅₀ of $28.23 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$. Based on the results obtained from the evaluation of the anti-inflammatory effect *in vitro* using the bovine serum albumin (BSA) denaturation method, both extracts inhibit BSA denaturation. In summary, *P. harmala* L. could be an important source of bioactive compound with antioxidant and anti-inflammatory properties. Further studies of this plant *in vitro* and *in vivo* are desirable in order to integrate it into the manufacture of anti-inflammatory drugs.

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

Résumé

Peganum harmala L., connu sous le nom de « harmel » appartient à la famille de Zygophyllaceae, est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques. La présente étude visait à évaluer certaines activités biologiques de *P. harmala*, particulièrement l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique (EHm) et l'extrait de décoction (EDc) des feuilles de cette plante. L'analyse phytochimique a montré que les feuilles de *P. harmala* riche en polyphénols (EHm : $107.16 \pm 2.88 \mu\text{g EAG/mg}$; EDc : $40.93 \pm 0.21 \mu\text{g EAG/mg}$) et en flavonoïdes (EHm : $14.65 \pm 1.48 \mu\text{g EQ/mg}$; EDc : $4.12 \pm 0.28 \mu\text{g EQ/mg}$). En revanche l'estimation de l'effet antioxydant *in vitro* par deux méthodes : le teste de piégeage du radical DPPH et la capacité antioxydante totale (TAC) à révèlent des activités antioxydantes significatives des extraits. Le plus fort pouvoir de piégeage a été constaté dans l'EHm avec IC₅₀ de $70.37 \pm 0.87 \mu\text{g/ml}$. Cependant ces activités sont faibles en comparaison avec butylhydroxytoluène (BHT) qui montre un IC₅₀ de $28.23 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$. L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA), montrent que les deux extraits inhibent la dénaturation de la BSA. En résumé *P. harmala* L. pourrait constituer une source importante de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Des études complémentaires de cette plante *in vitro* et *in vivo* sont souhaitables afin de l'intégrer dans la fabrication de médicaments anti-inflammatoires.

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