



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 بو عريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biologie  
Spécialité : Toxicologie

## Intitulé

**Evaluation des activités biologiques d'une plante  
médicinale (*Peganum harmala L.*)**

Présenté par : Amira Semchaoui

Amina Belmagherbi

Soutenu le : 15 / 09/ 2021

Devant le jury :

<b>Président:</b> M <sup>me</sup> . Boussahel S	MCB	Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
<b>Encadrant:</b> Mr. Diafat A	MCA	Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
<b>Examineur:</b> M. Mezdour H	MCB	Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
<b>Co-encadreur:</b> M. Bahloul A	Pr	Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

Année universitaire: 2020/2021

# *Remerciements*

Avant tout, nous remercions Dieu « Allah » tout-puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous avons permis d'accomplir ce modeste travail.

Un grand merci à notre promoteur de ce travail Monsieur **DIAFAT Abdelouahab**, pour son assistance et ses conseils afin d'assurer le succès de ce travail.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à M<sup>me</sup> **Boussahel Soulef** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Nous adressons un grand merci à Mr **Mezdour Hicham** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant à examiner ce mémoire.

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

Nous remercions également l'ensemble du personnel ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



## *Dédicace*

*En ce jour inoubliable de ma vie je dis ce travail du fond de mon  
cœur à ma mère **REMACHE FATIHA***

*À mon cher père qui, à cause de sa fatigue et de sa fierté*

*a atteint ce niveau **HASSENE***

*À ma grand-mère **RABIAA***

*À ma sœur **SARA**, et son mari et ses enfants **JAWAD, SÉRINE***

*À mon unique frère **Ahmed***

*À mes sœurs **ROMAÏSSA, INESS***

*À tous les membres de ma famille, petits et grands*

*À mon amie, ma sœur, ma compagne **AMINA***

*à travers vents et marées Et sa gentille famille*

***BELMAGHARBI***

**AMIRA**



## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail aux plus chers*

*Mon Père **HOCINE**, Ma Mère **SEKHARA NAIMA***

*A ma Grand-mère, j'espère que*

*Dieu vous garde et vous montre le droit chemin*

*A mes deux chers frères **KHALED** et **RIAD**, leurs maris*

*Et leurs enfant **Yaakoub**, **MIRAL** et **LAITH***

*Mes Sœurs **KHAWLA** et **HADIL***

*A tout la Famille de **LAAMRI BELMAGHARBI***

*A mon cher binôme et mon amour **AMIRA***

*Qui à partage avec moi toute Ma vie universitaire*

*A sa généreuse famille*

**SEMCHAOUI**

**AMINA**

# Sommaire

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Chapitre I

### Synthèse bibliographique

1. Présentation de la plante <i>Peganum harmala</i> L. ....	2
1.1. Représentation de la plante .....	2
1.2. Classification botanique .....	2
1.3. Etude phytochimique des grains de <i>Peganum harmala</i> L. ....	3
1.4. Utilisations traditionnel de la plante .....	4
<b>1.5. Activité biologique de <i>Peganum harmala</i> L</b> .....	5
1.5.1. Effets antidiabétiques .....	5
1.5.2. Effets sur le système immunitaire .....	5
1.5.3. Effets antioxydants et anticancéreux.....	5
1.5.4. Effets antibactérien, antifongique, insecticides, antiparasitaire .....	6
1.5.5. Autre effet .....	6
1.6. Activité anti-inflammatoire .....	6
1.6.1. Définition de l'inflammation .....	6
1.6.2. Types de l'inflammation.....	6
1.7. Activité antioxydante .....	7
1.7.1. Stress oxydant. ....	7
1.7.2. Les radicaux libres. ....	7
1.7.3. Les Antioxydants .....	7
1.7.4. Les maladies liées au stress oxydant.....	7
3. Données toxicologiques .....	9
3.1. Toxicité aigue .....	9
3.2. Toxicité subaiguë et chronique .....	9

3.2.1. La toxicité subaiguë .....	9
3.2.2. La toxicité chronique .....	10
3.3. Manifestation toxique dans l'organisme .....	10

## Chapitre II

### Matériels et méthodes

1. Matériels .....	11
1.1. Matériel végétal.....	11
1.2. Produits chimique .....	11
2. Méthodes .....	11
2.1. Préparation des extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> L .....	11
2.2. Dosage des composées phénoliques .....	13
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	13
2.2.1. Dosage des flavonoïdes.....	13
2.3. Activités biologiques de la plante .....	14
2.3.1. Évaluation de l'activité antioxydante.....	14
2.3.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	16
Analyse statistiques .....	17

## Chapitre III

### Résultats et discussion

1. Résultats .....	18
1.1. Rendement d'extraction .....	18
1.2. Dosage des composées phénoliques .....	18
1.2.1. Teneur en polyphénols totaux .....	18
1.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	19
1.3. Activité biologique des extraits de <i>Peganum harmala</i> L.....	20
1.3.1. Activité antioxydante .....	20
1.3.2. Activité anti-inflammatoire.....	25
<b>2. Discussion</b> .....	26
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	

## ملخص

*Peganum Harmala L* المعروف باسم Harmel ، هو أحد النباتات الأكثر استخدامًا في الطب التقليدي لخصائصه المهدئة وكمطمت. الهدف من دراستنا هو تقدير محتوى البوليفينول والفلافونويد وتقييم التأثير المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات للمستخلص المائي الميثانولي (EHm) والمستخلص الإيثانولي (EEt) لبذور *Peganum Harmala L*. تم استخدام طرق قياس اللون لتحديد كمية المركبات الفينولية، بينما تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة في المختبر بطريقتين. اختبار التثبيط الجذري ل DPPH وطريقة قياس الجهد الدوري (VC). تم تحديد تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر من خلال قدرة المستخلصات المختلفة على تثبيط تحلل BSA. أظهرت النتائج أن بذور *Peganum Harmala L* غنية جدًا بالبوليفينول حيث ان المستخلص الميثانولي يحتوي على (29.30 ± 0.2 mg EAG/g extract) و المستخلص الإيثانولي يحتوي على (3.20 ± 0.1 mg EAG/g extract) وفي الفلافونويد المستخلص الميثانولي يحتوي على ( 28 ± 0.30 mg EQ/g ) و المستخلص الإيثانولي يحتوي على (5.20 ± 0.03 mg EQ/g) أظهر تثبيط جذر DPPH واستخدام طريقة قياس الفولتميتر الدوري أن مستخلصي النبات المدروسين يظهران خصائص مضادة للأكسدة. EHm هو الأكثر نشاطًا مع IC50 بمقدار 93.38 ± 2.08 ميكروغرام / مل (اختبار DPPH). فيما يتعلق باختبار VC، يمثل EHm درجة IC50 تبلغ 85.18 ميكرو لتر / مل ، بينما يُظهر فيتامين C تركيز IC50 بمقدار 22.22 ميكرو لتر / مل. النتائج التي تم الحصول عليها بعد تقييم التأثير المضاد للالتهابات في المختبر لمستخلصات بذور فطر *Peganum Harmala*. أظهرت أن المستخلصين يثبطان تمسخ BSA. في الختام، يمكن أن يكون لهذا النبات مصدرًا محتملاً للمركبات النشطة بيولوجيًا مع احتوائه على مضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات.

**الكلمات المفتاحية:** *Peganum Harmala*، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، قياس الفولتمي الدوري البوليفينول ، الفلافونويد.



## Résumé

*Peganum harmala* L. connu sous le nom de Harmel, est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle pour ses vertus sédatives et comme emménagogue. L'objectif de notre étude est l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïde et l'évaluation de l'effet antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique (EHm) et l'extrait éthanolique (EEt) des graines de *Peganum harmala*. Des méthodes colorimétriques ont été utilisées pour quantifier les composés phénoliques, tandis que l'activité antioxydante a été estimée *in vitro* par deux méthodes ; le teste de piégeage du radical DPPH et la méthode de voltampérométrie cyclique (VC). L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été déterminée par la capacité de différents extraits d'inhiber la dénaturation de la BSA. Les résultats ont montré que les graines de *Peganum harmala* L. sont très riches en polyphénols (EHm :  $29.30 \pm 0.20$  mg EAG/g extrait ; EEt :  $3.20 \pm 0.1$  mg EAG/g extrait) et en flavonoïdes (EHm ;  $28 \pm 0.30$  mg EQ/g ; EEt :  $5.20 \pm 0.030$  mg EQ/g). Le piégeage du radical DPPH et l'utilisation de la méthode voltampérométrie cyclique a montré que les deux extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes. L'EHm est le plus actif avec  $IC_{50}$  de  $93.38 \pm 2.08$   $\mu$ g/ml (teste de DPPH). Concernant le teste de VC, l'EHm a présente un  $IC_{50}$  de  $85.18$   $\mu$ l/ml, alors que la vitamine C montre un  $IC_{50}$  de  $22.22$   $\mu$ l/ml. Les résultats obtenus après l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de graines de *P. harmala* L. montrent que les deux extraits inhibent la dénaturation de la BSA. En conclusion, *P. harmala* L. pourrait être une source potentielle des composés bioactifs ayant un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

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



## Abstract

*Peganum harmala* L. is known as Harmel, is one of the most plants used in traditional medicine for its sedative properties and as an emmenagogue. The objective of our study is the estimation of the content of polyphenols, flavonoid, the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory effect of the hydro-methanolic extract (EHm), and the ethanolic extract (EEt) of the seeds of *Peganum harmala* L. Colorimetric methods were used to quantify phenolic compounds, while antioxidant activity was estimated *in vitro* by two methods; the DPPH radical trapping test and the cyclic voltammetry (CV) method.

The assessment of anti-inflammatory activity *in vitro* was determined by the ability of different extracts to inhibit denaturation of BSA. The results showed that the seeds of *Peganum harmala* L. are very rich in polyphenols (EHm:  $29.30 \pm 0.20$  mg EAG/g extract; EEt:  $3.20 \pm 0.1$  mg EAG/g extract) and in flavonoids (EHm;  $28 \pm 0.30$  mg EQ/g extract; EEt:  $5.20 \pm 0.030$  mg EQ/g extract). The trapping of the DPPH radical and the use of the cyclic voltammetry method showed that the two extracts of the plant studied exhibit antioxidant properties. EHm is the most active with an  $IC_{50}$  of  $93.38 \pm 2.08$   $\mu$ g/ml (DPPH test). Regarding the VC test, EHm represents an  $IC_{50}$  of 85.18  $\mu$ l/ml, while vitamin C shows an  $IC_{50}$  of 22.22  $\mu$ l/ml. The results obtained after the evaluation of the anti-inflammatory effect *in vitro* of extracts of seeds of *Peganum harmala* L. show that the two extracts inhibit the denaturation of BSA. In conclusion, *P. harmala* L. could be a potential source of bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory potential.

**Key words:** *Peganum harmala* L, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, cyclic voltammetry, polyphenols, flavonoids.

## Liste des abréviations

**AChE** : Acétylcholinestérase

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure D'aluminium

**BHT** : Butylated Hydroxy Toluene

**BSA** : Albumine De Sérum Bovine

**DL** : Dose Létale

**DMSO** : Diméthyle Sulfoxyde

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

**EHm** : Extrait hydrométhanolique

**EEt** : Extrait éthanolique

**ERO** : Espèce Réactives D'oxygène

**IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice à 50%

**IMID**: Immune Mediated Inflammatory Diseases

**MAO**: Monoamine Oxydase

**MAO-A**: Monoamine Oxydase De Type A

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate De Sodium

**NaCl** : Chlorure De Sodium

**OH** : Groupement Hydroxyle

**POARy** : Peroxyde Gamme Proliferator Activated

**THH**: Tetrahydroxyharmine

**VC**: Voltampérométrie Cyclique

## Liste des figures

Figure 1 : Les fleurs et les feuilles de la plante <i>Peganum harmala</i> L.....	2
Figure 2 : Schéma général de biosynthèse des alcaloïdes de la plante <i>Peganum harmala</i> L...	3
Figure 3: Les grains de <i>Peganum harmala</i> L.....	11
Figure 4: Protocole de préparation d'extrait hydrométhanolique des graines de <i>P. harmala</i> .....	12
Figure 5: Montage expérimental utilisé pour les mesures voltampérométriques.....	16
Figure 6: Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	18
Figure 7 : Teneur en polyphénols des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	19
Figure 8: Droites d'étalonnage de la quercétine. ....	19
Figure 9:Teneur en polyphénole des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	20
Figure 10: L'effet piègeur du radical DPPH par les extraits des graines de <i>P. harmala</i> L. et le standard (acide ascorbique).....	21
Figure 11: L'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la différente concentration de l'extrait de <i>P. harmala</i> L et de la vit C .....	21
Figure 12: Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence de différents volumes de l'extrait EBr(a) ou la vitamine C (b) sur l'oxygène.....	22
Figure 13: Courbes représentant les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes des composés EHM et vitamine C.....	23
Figure 14: Inhibition de BSA des différents extraits et le contrôle ( diclofénac).....	25

## Liste des tableaux

Tableau I: Composition chimique des graines de <i>Peganum harmala</i> .....	4
Tableau II: Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner .....	9
Tableau III: Rendement d'extraction de l'extraits éthanolique et hydrométhanolique.....	18
Tableau IV: Les valeurs IC50 calculées par la technique électrochimique de voltampérométrie cyclique.....	28
Tableau V : Les valeurs IC50 calculées par les méthodes DPPH et la voltampérométrie cyclique.....	24

A graphic of a scroll with a black outline and a grey shadow on the left side. The scroll is unrolled, and the word "INTRODUCTION" is written in a bold, black, serif font in the center. The scroll has a small circular detail at the top right corner, suggesting a binding or a roll.

# **INTRODUCTION**

### Introduction

Depuis des milliers d'années l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter traditionnellement toutes sortes de maladies ce qu'on appelle « la PHYTOTHERAPIE ». Ces dernières représentent une source naturelle importante de métabolites secondaires qui possèdent une très large activité biologique (**Chevallier, 2001**).

Malheureusement, les plantes sont considérées à tort comme non dangereuses, parce qu'elles sont naturelles et les gens les utilisent dans des contextes très variés et nombreux. En 2010, la fréquence des intoxications par les plantes représente 5.1% des cas totaux d'intoxication. En France et en Belgique, elle représente environ 5% des intoxications, en Italie 6,5%, en Suisse 7,2%, en Turquie 6%, et 3.2% selon l'association américaine des centres antipoison (**Rhalem et al., 2010**).

Les remèdes traditionnels utilisés sont, souvent, un mélange des plantes dont la connaissance et les impératifs de préparation, de dosage et de consommation ne sont pas bien maîtrisés. Ainsi les plantes peuvent contenir des composés chimiques puissants, responsables d'effets indésirables et de toxicité (**Khatabi et al., 2010**). Il est donc indispensable d'identifier les composés chimiques présents dans ces plantes et de déterminer la dose à respecter lors de l'utilisation afin d'éviter toute altération ou atteinte fonctionnelle humaine ou animale, car mal dosées, les plantes qui ont le pouvoir de vie, peuvent aussi avoir un pouvoir de mort.

C'est dans ce contexte, que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est d'évaluer les activités biologiques d'une plante médicinale (*Peganum harmala L*) . Pour cela, nous avons fixé les buts suivants :

- ✓ La détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits obtenus à partir des graines de *Peganum harmala*.
- ✓ Evaluation des activités biologiques des graines de *peganum harmala L*
  - \* Activités antioxydant par deux méthodes DPPH et la méthode de voltampérométrie cyclique
  - \* Activités anti-inflammatoires des extraits hydrométhanolique et éthanolique de la plante



**Synthèse  
bibliographique**



### 1. Présentation de la plante *Peganum harmala* L.

#### 1.1. Représentation de la plante

*Peganum harmala* L. est une plante herbacée glabre et pluriannuelle qui peut atteindre 70 cm de hauteur. Elle est caractérisée par des tiges très rameuses et des feuilles divisées en étroites lanières (Fig. 1). Cette espèce a plusieurs noms vernaculaires comme 'Harmel ou Harmal El sahari' en Algérie et en Afrique du Nord, 'Rue sauvage' en France, 'Africain rue ou Syrian rue' aux États-Unis et 'Espand' en Iran. Il s'agit d'une espèce qui pousse spontanément dans les régions steppiques et semi-arides. Elle est native à l'Afrique du Nord, la région méditerranéenne, le Moyen Orient, l'Inde et Pakistan (Yousefi *et al.*, 2009).



**Figure 1:** Les fleurs et les feuilles de la plante *Peganum harmala* L. (Weckesser, 2013).

#### 1.2. Classification botanique

*Peganum harmala* L. appartient à la famille des Zygophyllaceae mais sa position taxonomique est encore discutable et on a proposé une famille séparée Nitrariaceae pour ce genre. La classification botanique de *Peganum harmala* L. selon **Ozenda (1991)** est le suivant:

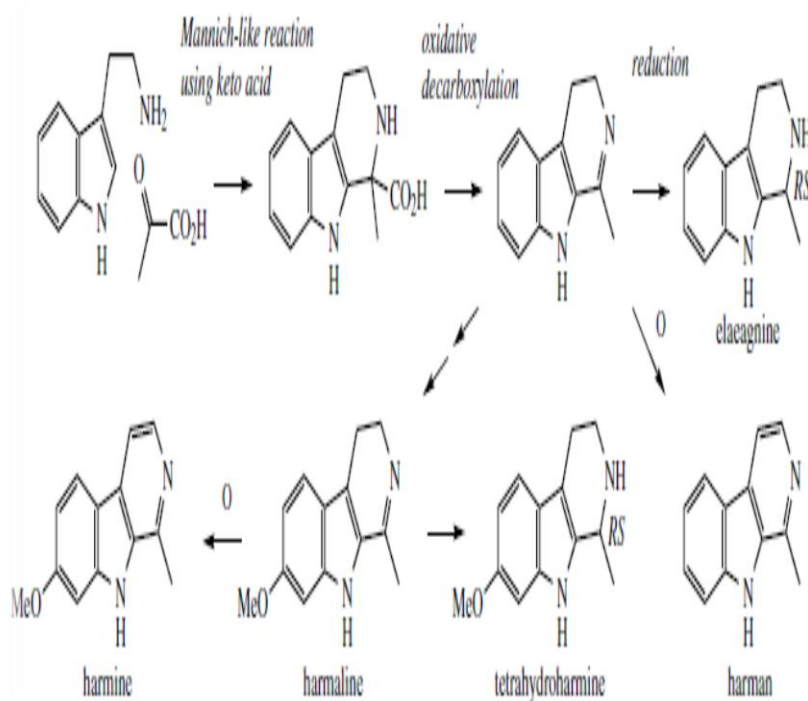
- ❖ **Embranchement** : Spermatophytes
- ❖ **Sous embranchement** : Angiospermes
- ❖ **Classe**: Dicotylédones
- ❖ **Sous classe** : Rosidae
- ❖ **Ordre** : Sapindales
- ❖ **Famille** : Zygophyllaceae
- ❖ **Genre**: *Peganum*
- ❖ **Espèce**: *Peganum harmala* L.

## 1.3. Etude phytochimique des graines de *Peganum harmala* L

### a) Les alcaloïdes de *Peganum harmala* L

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Ils sont synthétisés à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Bhat *et al.*, 2005). Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes. L'espèce de *Peganum harmala* est très riche en alcaloïdes indoliques (dérivés de l'acide aminé tryptophane) du type  $\beta$ -carboliniques. Les plus importants sont l'Harmaline, l'Harmane, l'Harmine et la Tetrahydroharmine (THH) (Kartal *et al.*, 2003) (Fig. 2).

Les alcaloïdes de *Peganum harmala* L. sont doués de propriétés toxiques. Les alcaloïdes peuvent provoquer une hypothermie permanente, des troubles respiratoires, des vomissements, des maux de ventre, des hallucinations et des convulsions (Mahmoudian *et al.*, 2002 ; Frison *et al.*, 2008), en inhibant la Monoamine Oxydase de Type A (MAO-A) et l'acétylcholinestérase (AChE) (Tuliaganov *et al.*, 1986 ; Kim *et al.*, 1997).



**Figure 2:** Schéma général de biosynthèse des alcaloïdes de la plante *Peganum harmala* L. (Dewick, 2002).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### b) Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylrique, ester, sucre) (Bruneton, 1993). Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004) (Tableau I).

**Tableau I:** Composition chimique des graines de *Peganum harmala L*

Métabolites secondaires	Composition %	Molécules identifiées	Références
Alcaloïdes	5 à 10%	$\beta$ -carboline Quinazoline	(Khashimov <i>et al.</i> , 1969 ; Zharekeev <i>et al.</i> , 1974 ; Kartal <i>et al.</i> , 2003)
Polyphénols	4.6%	Flavonoïdes, Quinones, Tanins, Coumarines	(El Allagui <i>et al.</i> , 2006 ; Baghiani <i>et al.</i> , 2012)
Saponines	ND	NI	(El Allagui <i>et al.</i> , 2006 ; Farouk <i>et al.</i> , 2009)
Huiles fixes	15.86%	Acide linoléique, Acide linoléique, palmitique, etc. Terpènes et stérols	Kurachko <i>et al.</i> , 1969 ; Agedilova <i>et al.</i> , 2006 ; Farouk <i>et al.</i> , 2009)
Caroténoïdes	0.7%	$\alpha$ -carotène, $\sigma$ -carotène $\beta$ -carotène	(Kurachko <i>et al.</i> , 1969) (Asilbekova, 2006)

ND: non déterminé ; NI : non identifié.

### 1.4. Utilisations traditionnelles de la plante

L'Harmel est largement employée en médecine traditionnelle comme un analgésique (Mina *et al.*, 2015) et comme une pommade pour le traitement des malades des rhumatismes, aussi par fumigation de la plante sèche sert à dissiper les troubles provoqués par le mauvais œil et traite les convulsions chez les enfants (Aouadhi, 2010).

*Peganum harmala* L. est proverbial dans la médecine traditionnelle depuis les périodes les plus courtes comme remède pour un éventail de plaintes (Shi *et al.*, 2000). Un colorant rouge obtenu à partir de ses graines est largement répandu en Turquie et en Iran pour la coloration des tapis (Baytop, 1999). L'harmal a été traditionnellement employé pour traiter le diabète dans la médecine folklorique de quelques régions du monde (Bnouham *et al.*, 2002). L'harmal a été employé par certaines populations pour traiter certains désordres de système nerveux tels que la maladie de Parkinson (Leporatti, 2009), en conditions psychiatriques comme la nervosité (González *et al.*, 2010).

En médecine traditionnelle du Nord d'Afrique, Harmel est une véritable panacée réputée traitée la plupart des troubles. Quelques « recettes » recueillies au Maghreb pour illustrer cette diversité d'emplois sont rapportées (Hammiche *et al.*, 2013).

### **1.5. Activité biologique de *Peganum harmala* L.**

#### **1.5.1. Effets antidiabétiques**

Harmine est le principal alcaloïde de *P. harmala* L. qui est impliqué dans l'effet antidiabétique. Une étude a montré que ce composé régule l'expression du récepteur Peroxysomes gamma Proliferator-Activated (PPAR $\gamma$ ), le principal régulateur de l'adipogenèse et la cible moléculaire des médicaments antidiabétiques, par inhibition de la voie de signalisation (Waki *et al.*, 2007).

#### **1.5.2. Effets sur le système immunitaire**

Les  $\beta$  Carbolines de *P. harmala* sont montrés des effets immunomodulateurs dans plusieurs études (Wang *et al.*, 1996 ; Farzin et Mansouri, 2006). Des extraits de cette plante ont un effet anti-inflammatoire significatif via l'inhibition de certains médiateurs de l'inflammation comme prostaglandine.

#### **1.5.3. Effets antioxydants et anticancéreux**

*P. harmala* L. présente une grande activité antioxydante ceci s'explique par leur richesse en polyphénols et en acides gras insaturés . De nombreuses études pharmacologiques suggèrent un effet antioxydant de *P. harmala* L. (Hamden *et al.*, 2009). Plusieurs chercheurs ont montré la cytotoxicité de différents extraits de *P. harmala* sur des lignées cellulaires tumorales *in vitro* et *in vivo* (Chen *et al.*, 2005).

### 1.5.4. Effets antibactérien, antifongique, insecticide et antiparasitaire

Diverses études ont montré différents effets pharmacologiques comme antiparasitaires (Akhtar *et al.*, 2000; Astulla *et al.*, 2008), antifongiques, antibactériennes (Saadabi, 2006 ; Nenaah, 2010) et insecticides (Rharrabe *et al.*, 2007) des alcaloïdes dérivés des graines de *P. harmala* L.

### 1.5.5. Autre effect

Les graines de *P. harmala* L. sont des antispasmodiques, hypnotiques, émétiques, alternants et narcotiques. La poudre des graines est recommandée en tant que vermifuge, et les décoctions des graines et des feuilles sont donnés en cas de laryngite et du rhumatisme. Les graines ont également une activité antitumorale significative et une toxicité cellulaire importante réduisant la prolifération des souches cellulaires cancéreuses *in vitro* (Dube *et al.*, 2011). En plus des effets: hypoglycémiant et vasorelaxants, quelques autres activités importantes qui ont été évaluées *in vivo* ou *in vitro* sont: l'activité antioxydante, antibactérienne, antifongique, insecticide (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

## 1.6. Activité anti-inflammatoire

### 1.6.1. Définition de l'inflammation

C'est la réponse des tissus vivants et vascularisés à une agression, est un phénomène banal, quotidien, intervenant dans de nombreuses circonstances, pathologique ou non (Barton, 2008; Stéphane, 2010).

### 1.6.2. Types de l'inflammation

#### 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 divisées en trois grandes phases; une phase vasculaire immédiate; une phase cellulaire consécutive et une phase de résolution et de cicatrisation (Charles *et al.*, 2010).

#### 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).

## 1.7. Activité antioxydante

### 1.7.1. Stress oxydant

Les radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Le stress oxydant est la résultante d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les systèmes de défenses antioxydants (**Fendri *et al.*, 2006**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink *et al.*, 2008**).

### 1.7.2. Les radicaux libres

L'oxygène est un élément indispensable à la vie de tous les organismes aérobies, parce qu'il permet de produire la majorité de l'énergie chimique en oxydant les substances organiques dans leurs mitochondries. Cependant, l'oxygène peut être une source d'agression pour ces organismes qui convertissent une partie de cet élément en métabolites hautement réactifs : les radicaux libres, qui peuvent être d'origine endogène ou encore exogène (**Pandey et Rizvi, 2011 ; Kalam *et al.*, 2012**). Il ya plusieurs conséquences moléculaires du stress oxydatif: L'oxydation des lipides; l'oxydation des protéines; L'oxydation d'ADN; l'oxydation des glucides.

### 1.7.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Ces molécules sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Behera *et al.*, 2006**).

### 1.7.4. Les maladies liées au stress oxydant

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (**Pincemail *et al.*, 1999**).

### 2. Donnés toxicologiques

Malgré les nombreux rapports d'intoxication humaine et animale enregistrés suite à l'ingestion de *P. harmala* L, cette plante a été largement utilisée en médecine traditionnelle, en tant qu'agent abortif emménagogue, narcotique antihelminthique, antispasmodique, et dans certains cas des rhumatismes, d'asthme et du cancer (**Duke, 2002**).

Les alcaloïdes de *Peganum harmala* L. sont doués de propriétés toxiques. Ils provoquent des problèmes d'empoisonnement chez l'homme ainsi que chez les animaux notamment les chameaux et les brebis, qui mangent cette plante en grande quantité comme un fourrage dans les périodes de sécheresse. Les alcaloïdes peuvent provoquer une hypothermie permanente, des troubles respiratoires, des vomissements, des maux de ventre, des hallucinations et des convulsions (**Mahmoudian et al., 2002 ; Frison et al., 2008**), en inhibant la MAO-A et l'AChE (**Tuliaganov et al., 1986 ; Kim et al., 1997**). Dans la plupart des cas, les animaux intoxiqués meurent, généralement, 36 à 38 heures après l'apparition des premiers signes d'intoxication du système nerveux central et système nerveux peripherique. Selon la fréquence et la durée de l'exposition ou l'administration du toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité : la toxicité aiguë et la toxicité à terme : subaiguë et chronique.

#### 2.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë englobe tous les phénomènes spécifiques et les signes aduerses, qui se manifestent juste après l'exposition de l'organisme à une prise unique ou plusieurs prises très rapprochées d'un agent chimique. L'effet toxique aigu est généralement considéré comme un effet qui se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition (**LeBlanc, 2010**).



## Chapitre I : Synthèse bibliographique

La dose létale 50 (DL50) une façon pratique de caractériser et classer la toxicité d'une substance consiste à déterminer sa DL50. Celle-ci désigne la dose d'une substance qui peut causer la mort de 50% d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises (**Lapointe, 2004**). De ce fait, la mesure de la DL50 peut établir un classement pour ces substances : plus qu'elle est faible, plus que la substance est toxique et l'inverse est juste (**Tableau II**).

**Tableau II:** Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner (**Frank, 1992**).

DL50	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg/kg	Extrêmement toxique
1 à 50mg/kg	Hautement toxique
50 à 500mg/kg	Modérément toxique
500 à 5000mg/kg	Légèrement toxique
5000 à 15000mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	Relativement inoffensif

Cependant, la DL50 a une valeur très limitée, car il ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire (première analyse) qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de traitement, etc. (**Lapointe, 2004**).

### 2.2. La toxicité subaiguë et chronique

Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles (exemple : Neurotoxicité de l'hexane). L'évaluation de la toxicité aiguë d'une substance ne permet pas de prédire ce type de toxicité. Des études destinées à évaluer la toxicité subaiguë et chronique doivent donc être effectuées (**Reichl, 2004**).

#### 2.2.1. La toxicité subaiguë

Due à l'exposition répétée à une dose du toxique, qui ne cause aucune toxicité aiguë évidente, pendant une période assez prolongée mais à condition de ne pas constituer une partie significative de la vie de l'espèce examinée. Dans les essais de la toxicité subaiguë, l'administration orale entre 28 et 90 jours chez le rat (ou bien la souris) ou le chien, respectivement, serait typique (**Hodgson et Cunny, 2010**).

## 2.2.2 La toxicité chronique

Utilisé pour décrire l'ensemble des effets cumulatifs, beaucoup plus insidieux et irréversibles, apparus après une longue période d'exposition ou d'administration de très faibles doses de l'agent chimique en question (**Hodgson et Cunny, 2010**). Ces doses sont assez petites qu'aucun effet aigu n'est manifesté, alors que la durée de l'administration forme une partie significative de vie de l'espèce mise en expérience (plus 90 jours chez le rat et la souris).

## 3.3. Manifestation toxique dans l'organisme

Les substances toxiques ne produisent pas des effets avec la même intensité sur tous les organes. Celui-ci dépend de nombreux facteurs, y compris l'importance de l'organe et la quantité des substances toxiques et/ou des métabolites réactifs qu'il contient. Des organes tels que le rein et le foie sont bien approvisionnés avec le sang et sont métaboliquement actifs, parce qu'ils ont un rôle important dans la biotransformation et l'excrétion des toxiques. Ces organes sont appelés organes cibles puisqu'ils sont plus vulnérables et plus exposés aux toxiques que les organes ou les tissus mal irrigués ou métaboliquement moins actifs tels que la peau et l'os (**Timbrell, 2000 ; Lapointe, 2004**).

### ➤ Le foie

Le foie est un organe essentiel du corps puisqu'il traite l'élimination des toxines de tout l'organisme. Lorsqu'il est sain, il constitue une véritable petite usine de transformation chimique, qui préserve le corps en le purifiant et protège le système immunitaire du risque de surcharges. De plus, il constitue l'élément fondamental du maintien d'un métabolisme équilibré et donc du contrôle du poids (**Lukas H, 2013**).

L'ensemble des atteintes toxiques généralement figurés au niveau hépatique sont regroupés sous le mot l'hépatotoxicité. Ces atteintes dépendent fréquemment de la nature du toxique, la sévérité de l'intoxication, et ainsi du type d'exposition (aiguë ou chronique) : Stéatose, les Hépatites aiguës (Nécrose, Fibrose, Cytolyse, Choléstase), les Hépatites chroniques (Cirrhose), ainsi que les dommages vasculaires, biliaires et tumorales (**Wallace et Meyer, 2010**).



# **Matériel et méthodes**

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel végétal

Les graines de *P. harmala* L. sont récoltées au mois de Juillet- août, période de maturation, dans la région d'Ain Wolman wilaya de Sétif, Ain Wolman est situé au sud de de Sétif, qui se caractérise par un climat semi-aride sec, ils ont été nettoyés des impuretés, ensuite broyés à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir du laquel le des différents extraits ont été préparés (Fig. 3).



**Figure 3 :** Les grains de *Peganum harmala* L. (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012)

#### 1.2. Produits chimique

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont ; Méthanol, Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), acide gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ), quercétine, acide ascorbique, Chloroforme ( $\text{CHCl}_3$ ), chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ), Dihydrogène-phosphate de Sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), Acide Chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ), Albumine De Sérum Bovine (BSA) , Diclofénac.

### 2. Méthodes

#### 2.1. Préparation des extraits des graines de *P. harmala* L.

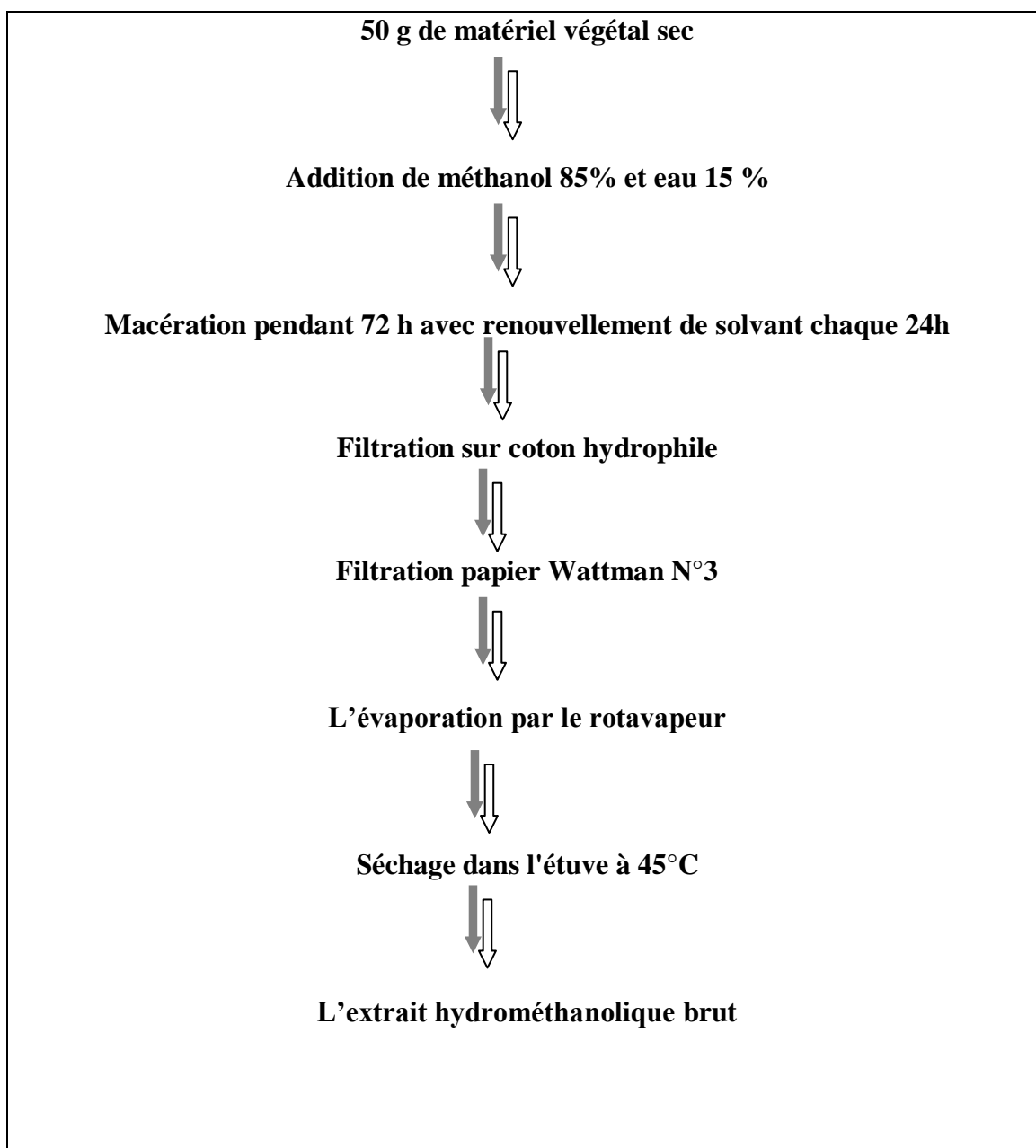
Les graines de *Peganum harmala* L. ont été nettoyées des impuretés, lavées avec de l'eau de robinet et séchées à l'abri de la lumière pendant quelques jours, ensuite broyés à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir de laquelle des différents extraits ont été préparés.

##### ➤ L'extrait hydro-méthanolique (EHm)

L'extrait hydro-méthanolique a été effectué selon le protocole d'extraction décrit par **Markham (1982)** avec quelques modifications. La poudre des graines (50 g) est soumise à une extraction par macération dans le mélange méthanol /eau (85 /15 : v /v) sous agitation

## Chapitre II : Matériel et méthodes

douce pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration sur coton hydrophile, puis à travers le papier Wattman N°3. Les filtrats sont recombines puis évaporés par un rotavapeur (BÜCHI) presque à sec et les résidus finaux ont été mis à sécher dans une étuve à 45°C, jusqu'à l'obtention d'un extrait sous forme de poudre conservée à 4°C jusqu'à son utilisation (Fig. 4).



**Figure 4 :** Protocole de préparation d'extrait hydro-méthanolique des graines de *Peganum harmala L.*

### ➤ L'extrait éthanolique (EEt)

Une masse de 11 g de la poudre obtenue est macérée dans 50 ml d'éthanol pendant une durée de 8 h sous agitation magnétique à température ambiante. Après filtration, l'extrait éthanolique est séché et conservé jusqu'à son utilisation.

Les rendements ont été calculés en utilisant la formule suivante déterminée par le rapport : **% Rendement** = (Masse l'extrait obtenu / Masse la matière végétale sèche) x 100

## 2.2. Dosage des composés phénoliques

### 2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification de ces métabolites est effectuée selon plusieurs méthodes analytiques. La méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu.

#### a) Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). L'oxydation en milieu alcalin du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu. L'intensité de la coloration produite, qui a une absorbance maximale à 765 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé (Georgé *et al.*, 2005).

#### b) Protocole

Les polyphénols ont été déterminés en spectrophotométrie, en suivant le protocole réalisé par Li *et al.*, (2007). Brièvement, 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu (dilué à 10% dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 100 µl d'extrait avec des concentrations bien déterminées. Quatre minutes après, 400 µl d' $Na_2CO_3$  (75 mg/ml), sont additionnées au mélange réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm.

La droite d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique (0-160 µg/ml), en suivant les mêmes étapes de dosage. Les concentrations des composés phénoliques sont déterminées à partir de la droite de régression de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g extrait).

### 2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes, dans les extraits de *P. harmala* L, a été effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), en suivant le protocole de Bahorun *et al.* (1996).





### a) Principe

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produit un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm (Ababsa, 2009).

### b) Protocole

À 1 ml d'échantillon, 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans de l'méthanol) est ajouté. Après 10 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430 nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/ g extrait)

## 2.3. Activités biologiques de la plante

### 2.3.1. Évaluation de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de *P. harmala* L, deux techniques ont été réalisées : en utilisant la méthode de piégeage de radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et par la méthode d'électrochimie.

#### a. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

##### ➤ Principe

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir des graines de *P. harmala* est évaluée en mesurant leur capacité de piéger le radical DPPH. La réduction du radical DPPH, ayant une couleur violet foncée, par les groupements hydroxyles des antioxydants présents dans les extraits, conduisant à la formation d'un composé stable d'une couleur jaune. La couleur violet foncée, mesurable à 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire de l'extrait (Locatelli *et al.*, 2010).

##### ➤ Protocole

Dans des tubes secs, on a introduit 1.5 ml de la solution de l'extrait à tester de chaque concentration déjà préparée, on ajoute 0.5 ml de solution au DPPH (0.004%). Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance est faite par un spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé pour chaque concentration. Le test est réalisé en triplicata. Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

**A<sub>contrôle</sub>** : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

**A<sub>extrait</sub>** : absorbance en présence d'extrait.

### b. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC)

Le superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) est un radical libre formé par la réduction du dioxygène ( $O_2$ ), et il est considéré le plus dangereux parmi tous les radicaux oxygènes (ERO) car il a une demi-vie plus longue et il peut générer d'autres radicaux nuisibles tels que le radical hydroxyle. La voltampérométrie cyclique a récemment servi à déterminer l'activité antioxydante vis-à-vis de ce radical en se basant sur la génération électrochimique de  $O_2^{\bullet-}$  par la réduction de  $O_2$  dissous dans des solvants convenables.

#### ➤ Principe de VC

Le principe général de la voltampérométrie est l'obtention d'une réponse à l'excitation responsable de la réaction électrochimique désirée. Cette opération est réalisée en effectuant un balayage de potentiel. On obtient alors un voltampérogramme cyclique, qui représente la réponse courant en fonction du potentiel appliqué.

Les unités de bases d'un analyseur voltampérométrique sont :

Une cellule électrochimique

Trois électrodes : ET ; électrode de travail, ER ; électrode de référence et Eaux : électrode auxiliaire (contre électrode).

Un circuit électronique ; appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.

Electrolyte support : son choix se base sur les propriétés suivantes : Il doit être assez soluble dans les solvants d'étude, pour assurer une bonne conductibilité à une concentration de minimum 50 à 100 fois plus grande que celle de l'espèce électroactive ; la force ionique demeure constante, et la contribution de l'espèce électroactive du courant de migration est négligeable ; il ne doit pas interagir chimiquement avec les composés étudiés ni avec leurs produits de réduction.

Solvant : il ne doit être ni oxydable, ni réductible dans le domaine du potentiel exploré, possède une bonne stabilité thermique, solubilise les espèces électroactives et l'électrolyte support, ne doit pas être trop visqueux et volatil pour éviter les variations de concentration pendant les mesures.

#### ➤ Mode opératoire et conditions de travail

L'étude de voltampérométrie cyclique (VC) est assurée par un Voltalab 40 modèles PGZ301 (Radiometer Analytical) potentiostat/ galvanostat) relié à une cellule électrochimique à trois électrodes : une électrode en carbone vitreux de diamètre 2 mm, plaque de platine de surface  $1,2 \text{ cm}^2$  comme contre-électrode et une électrode au calomel saturée (ECS) comme électrode de référence. Le tout est piloté par un micro-ordinateur doté d'un logiciel Ec-Lab,

version 10.11. L'électrode de travail est polie avant chaque manipulation en utilisant le papier abrasif p4000, ensuite rincée avec l'eau distillée et essuyée avec du papier absorbant (Fig. 5).



**Figure 5 :** Montage expérimental utilisé pour les mesures voltampérométriques.

La réaction entre les diverses molécules et l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) est effectuée dans une cellule électrochimique remplie de 10 ml d'une solution contenant l'électrolyte support (TBuNPF<sub>6</sub>, 0.1 mol.L<sup>-1</sup>) dissous dans l'acétonurie ; cette solution est soumise au barbotage par l'oxygène pendant 5 min. Le voltampérogramme de l'oxygène est enregistré à une vitesse de balayage de 50 mV/s, la gamme de potentiel était de 0 à -1.5 V / ECS et à température ambiante. L'activité de piégeage du radical super oxyde est vérifiée par l'addition successive de 0.1 ml de la solution de chaque composé, les voltampérogrammes sont ensuite enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales.

### 2.3.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire *in vitro*

#### a) Principe

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

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

### Analyse statistique

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



**Résultats**

**Et**

**Discussion**

### 1. Résultats

#### 1.1. Rendement d'extraction

2. Les résultats montrent que le rendement d'extrait hydrométhanolique est la plus élevé ( $21.53 \pm 2.02 \%$ ) comparant à celui de l'extrait ethanolique ( $10.50 \pm 1.30 \%$ ).

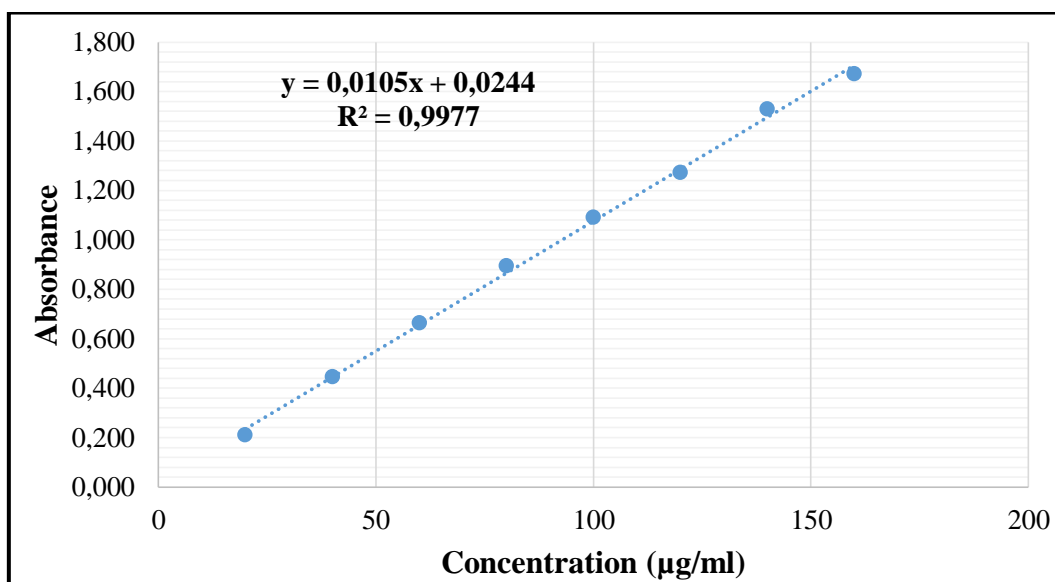
**Tableau III :** Rendement d'extraction de l'extraits éthanolique et hydro-méthanolique.

Extrait	Ethanolique (EEt)	Hydro-méthanolique (EHm)
Rendement (%)	$10.50 \pm 1.30 \%$	$21.53 \pm 2.02 \%$

#### 1.2. Teneur des composées phénoliques

##### 1.2.1. Teneur en polyphénols totaux

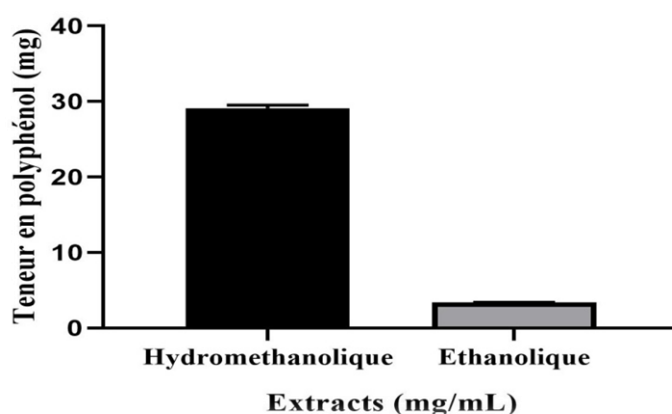
La concentration des polyphénols totaux est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme standard, la quantité de polyphénols totaux a été exprimée en mg EAG/g d'extrait. En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage présente une reproductivité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisée dans la gamme d'étalonnage (Fig. 6).



**Figure 6 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

## Chapitre III : Résultats et discussion

La teneur en polyphénols d'extraits éthanolique et hydro-méthanolique sont représenté dans (Fig.7).

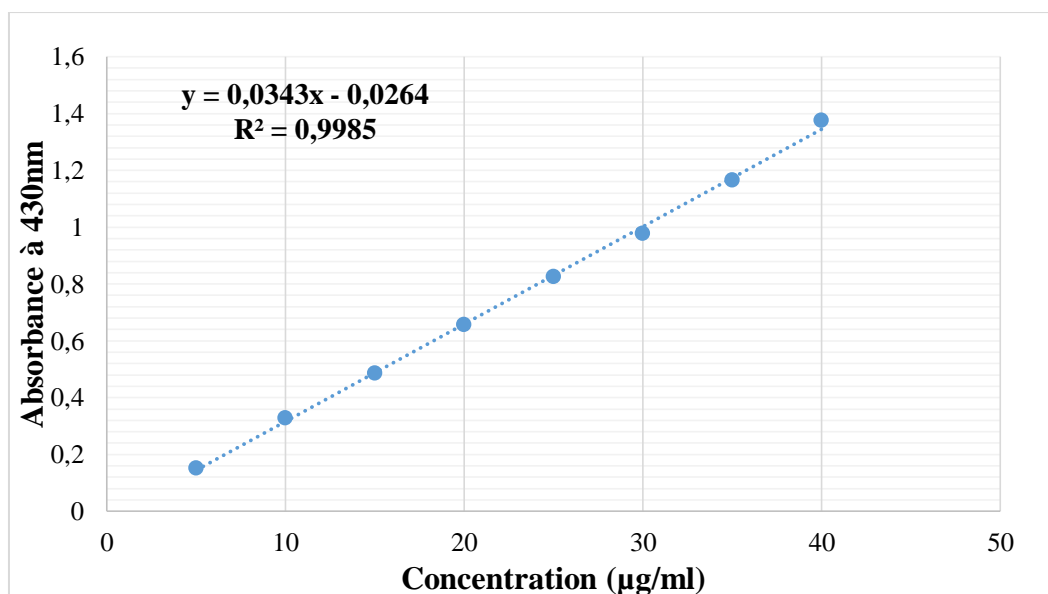


**Figure 7 :** Teneur en polyphénols des extraits de *Peganum harmala L.*

À partir de ces résultats, on remarque que l'extrait hydro-méthanolique est la plus riche en polyphénols ( $29.30 \pm 0.20$  mg EAG/g d'extrait) que l'extrait éthanolique ( $3.20 \pm 0.1$  mg EAG/g d'extrait).

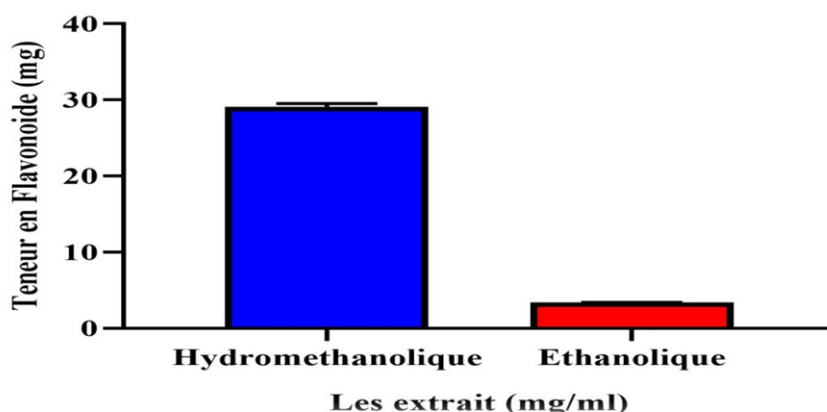
### 1.2.1. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg EQ /g d'extrait. En utilisant les valeurs des absorbances obtenues par les différentes concentrations de Quercétine, ainsi préparées nous avons tracé la courbe d'étalonnage selon les résultats obtenus (Fig. 8).



**Figure 8 :** Droites d'étalonnage de la Quercétine.

La teneur en flavonoïdes de différents extraits de *Peganum harmala* L. sont présentés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Teneur en flavonoïdes des extraits de *Peganum harmala* L.

Les résultats de dosages des flavonoïdes ont révélé que l'extrait hydro-méthanolique est plus riche en flavonoïdes ( $28 \pm 0.30$  en mg EQ /g d'extrait) que l'extrait éthanolique ( $5.20 \pm 0.030$  en mg EQ /g d'extrait).

### 1.3. Activité biologique des extraits de *Peganum harmala* L.

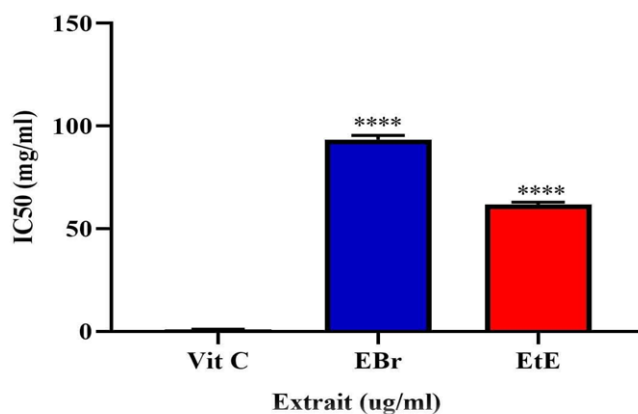
#### 1.3.1. Activité antioxydante

##### ➤ Effet piègeur envers le radical DPPH

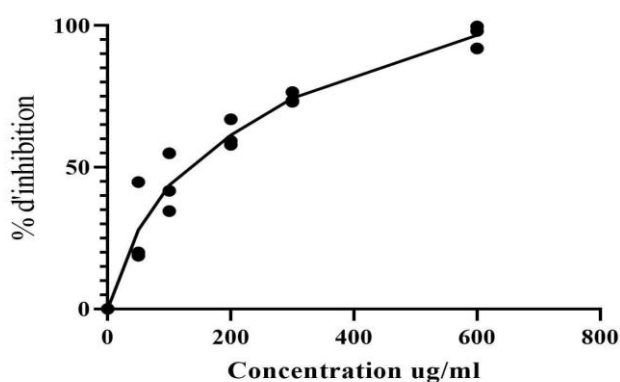
L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir des graines de *Peganum harmala* L. a été faite en comparaison avec celle d'autres antioxydants tels que l'acide ascorbique. Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, plus la  $IC_{50}$  est faible est plus l'antioxydant est puissant. L'acide ascorbique, c'est un antioxydant de référence présente un pourcentage d'inhibition très important du radical DPPH à des concentrations très faibles.

D'après les résultats on remarque que les différents extraits de *Peganum harmala* L. (EEt et EHm) capable de pièges les radicaux DPPH avec des  $IC_{50}$  ( $61.64 \pm 1.26$   $\mu\text{g/ml}$ ), EHm ( $93.38 \pm 2.08$   $\mu\text{g/ml}$ ) est reste toujours inférieure à celles de standard Vit C ( $1.009 \pm 0.02$   $\mu\text{g/ml}$ ) (Fig. 10). Le % d'inhibition des radicaux DPPH est présenté dans la figure 11.

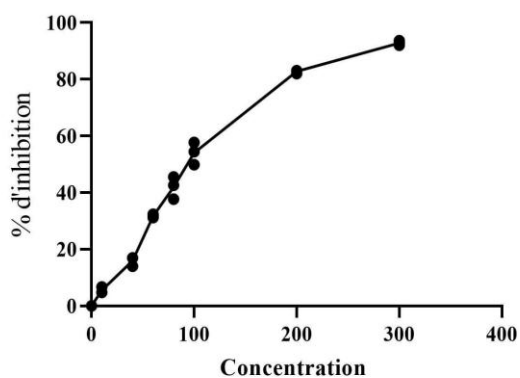




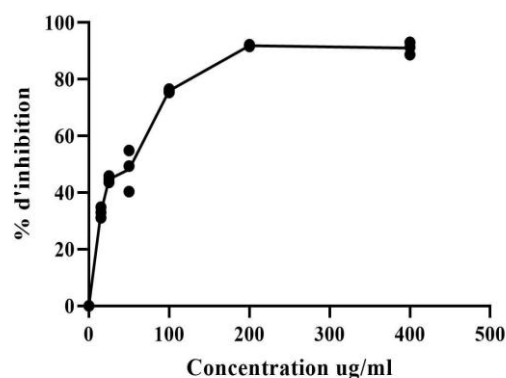
**Figure 10 :** L'effet piègeur du radical DPPH par les extraits des graines de *P. harmala* L. et le standard (acide ascorbique).



A



B

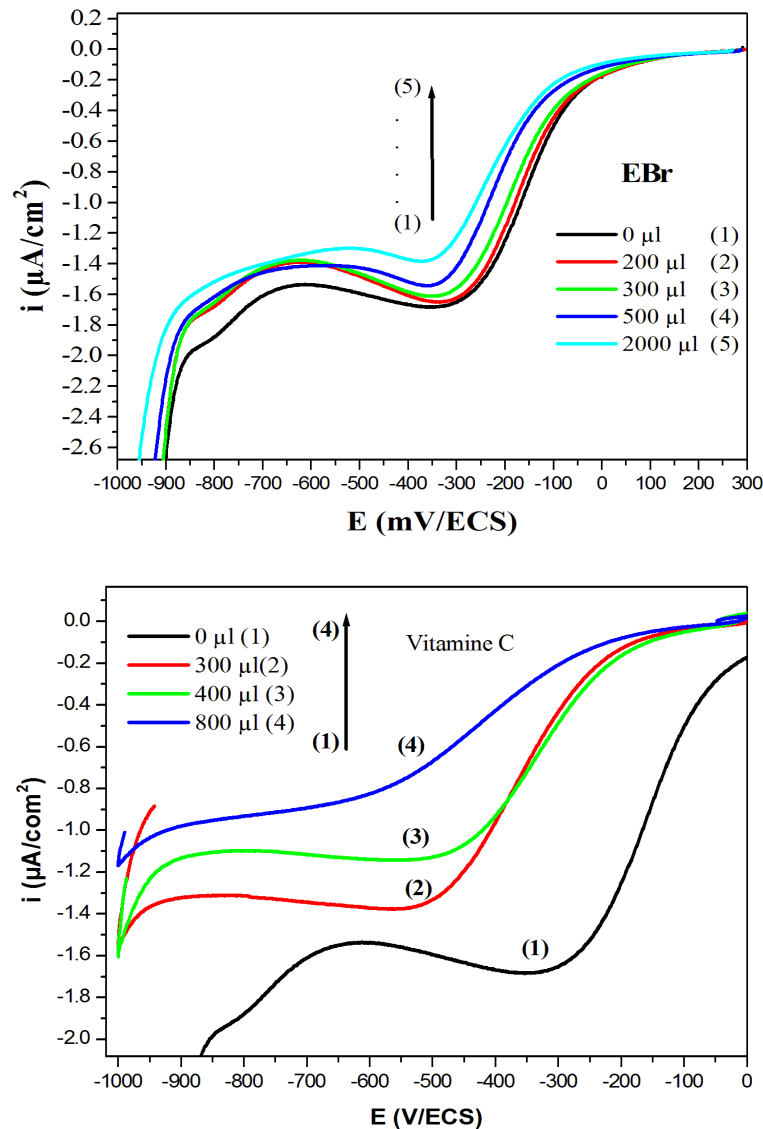


C

**Figure 11 :** L'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la différente concentration de l'extrait de *P. harmala* L. A : Vit C, B : Extrait hydro-méthanolique. C : Extrait éthanolique.

### ➤ Comportement électrochimique d'oxygène en présence de l'Ehm et la vit C

Les voltampérogrammes cyclique de réduction de l'oxygène sont enregistré en présence des différentes concentrations des extraits Ehm et vitamine C (Fig. 12).



**Figure 12 :** Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de la présence de différents volumes de l'extrait Ehm et la vitamine C sur l'oxygène.

La voltampérométrie cyclique est utilisée pour déterminer l'effet antioxydant de l'extrait sur l'oxygène. La réduction de l'oxygène conduit vers la formation du radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  selon :  $O_2 + 1e^- \rightleftharpoons O_2^{\bullet-}$

La formation du radical  $O_2^{\bullet-}$  dépend du milieu électrolytique, puisque la présence d'un système enzymatique (extrait) dans la solution électrolytique influée sur la quantité du radical  $O_2^{\bullet-}$  formé, ceci est dû à l'interaction entre les molécules de l'extrait et la molécule de

## Chapitre III : Résultats et discussion

L'oxygène, cette interaction augmente avec l'augmentation du pouvoir antioxydant de l'extrait.

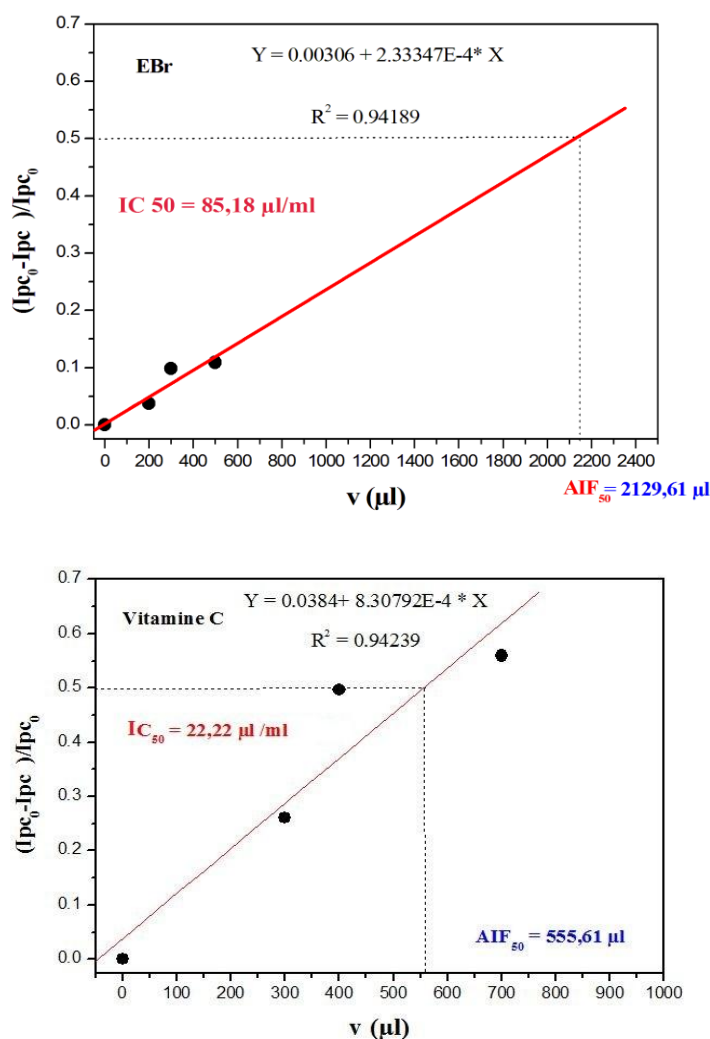
Les résultats obtenus révèlent que l'extrait EHm ou la vitamine C exhibent une interaction importante entre la molécule de l'oxygène et les molécules de l'extrait ou la molécule de la vitamine C, ce qui est traduit par une diminution proportionnelle du courant cathodique. Le pourcentage d'interaction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

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

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

**ipc<sub>0</sub> :** intensité du courant cathodique de l'oxygène sans extrait.

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



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

## Chapitre III : Résultats et discussion

L'activité antioxydante est évaluée par la valeur  $IC_{50}$  calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des volumes ajoutés. Les valeurs  $IC_{50}$  obtenues sont regroupées dans le tableau suivant (Tableau IV).

**Tableau IV.** Les valeurs  $IC_{50}$  calculées par la technique électrochimique de voltampérométrie cyclique

	$\mu\text{l}/25\text{ml}$	$\mu\text{l}/\text{ml}$
<b>EHm</b>	2129,61	88,18
<b>Vitamine C</b>	555,61	22,22

### ➤ Comparaison des résultats de l'activité antioxydant obtenus par les méthodes DPPH et électrochimique

Conformément à ce que nous avons fixé comme objectifs à réaliser, ce travail nous a conduit à valoriser l'activité biologique des extraits éthanolique et hydro-méthanolique des grains de *Peganum harmala*. L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des molécules a été réalisée par deux techniques ; le piégeage du radical libre DPPH et la voltampérométrie cyclique (VC).

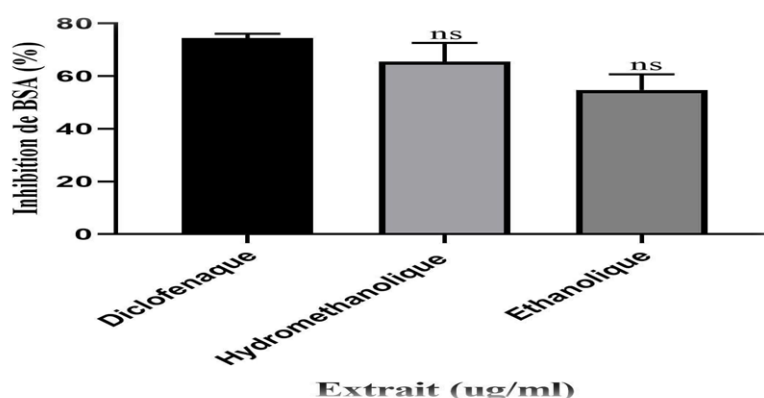
Les résultats obtenus par la méthode DPPH révèlent clairement que tous les extraits testés sont des agents piégeurs des radicaux libres et qu'ils exercent un effet antioxydant mais restent toujours inférieurs à celle du standard ; l'acide ascorbique.

**Tableau V :** Les valeurs  $IC_{50}$  calculées par les méthodes DPPH et la voltampérométrie cyclique.

	<b>IC 50 par DPPH (<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</b>	<b>IC 50 par VC (<math>\mu\text{l}/\text{ml}</math>)</b>
<b>EEt</b>	61,64	/
<b>EHm</b>	93,38	70,35
<b>Acide ascorbique</b>	1,009	22,22

### 1.3.2 Activité anti-inflammatoire

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* de *P. harmala*, la capacité de différent extrait d'inhiber la dénaturation de la BSA a été estimée. Les résultats obtenus montrent que l'EHm possède un effet inhibiteur vis-à-vis la dénaturation de la BSA. Cette inhibition est statistiquement similaire à celle de l'anti-inflammatoire de référence (Diclofénac) à la même concentration, qui exprime un pourcentage d'inhibition de  $74.42 \pm 0.46$  % à une concentration de 250  $\mu\text{g/ml}$ . Cependant, les pourcentages d'inhibition obtenus avec les extraits de graines de *P. harmala* L. aux concentrations de 250  $\mu\text{g/ml}$  sont de  $65.53 \pm 0,74$  % et de  $54.76 \pm 0,50$  % pour EHm et EAq, respectivement (Fig. 14).



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

### 2. Discussion

Une plante médicinale c'est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie que 'au moins une de ses parties (feuille, tige et graine) elles sont utilisées depuis au moins 7000 ans avant notre ère par l'homme elles sont à la base de phytothérapie. Elle est connue sous les noms de « harmel ». Il est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle à des fins rituelles, magiques, prophylactiques et surtout thérapeutiques (Bellakhdar, 1997 ; Sincich, 2002).

*Peganum harmala* est riche en substances bioactives parmi ces substances on trouve les alcaloïdes, polyphénols et flavonoïdes à partir l'extraction des graines de *Peganum harmala* (Kar, 2007). Les résultats obtenus après l'extraction indiquent que cette plante contient une teneur remarquable de composés extractibles EHm ( $21.53 \pm 2.02$  %) et d'EEt ( $10.50 \pm 1.30$  %). D'après Khali *et al.* (2013) divers solvants ont été utilisés pour l'extraction des principes actifs, englobant l'eau, l'acétone, l'éthanol et le méthanol. Puis ils ont montré que la macération est la meilleure méthode pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes. En outre, ils sont résumés que l'éthanol et l'acétone sont préférables pour l'extraction de ces biomolécules. Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (à chaud ou à froid), affectent le contenu total, par conséquent, les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee *et al.*, 2003). L'extraction par les solvants organiques est souvent la méthode la plus pratiquée pour la préparation des extraits de plantes. D'après Sahreen *et al.* (2010) ont montré que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents pourcentages sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure récupération de composés phénoliques. Le méthanol (CH<sub>3</sub>OH) et l'éthanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) sont tous deux des alcools primaires, semblables du point de vue chimique, cette propriété commune confirme nos résultats de recherche. L'extraction d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau), elle est utilisée vue la capacité méthanol d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires et de faciliter l'extraction d'un grand nombre de composés polaires ainsi que des composés de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005).

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

Les résultats de dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes montrent que l'extrait hydro-méthanolique est l'extrait le plus riche en polyphénols ( $29.30 \pm 0.20$  mg EAG/g d'extrait) et flavonoïde ( $28 \pm 0.30$  mg EQ/g d'extrait) que l'extrait éthanolique ( $3.20 \pm 0.1$  mg EAG/g d'extrait) en outre les flavonoïdes ( $5.20 \pm 0.030$  mg EQ/g d'extrait). Une étude effectuée par **Djeridane et al. (2006)** a montré que le taux de polyphénols dans l'extrait éthanolique est plus bas que celui trouvé dans nos résultats.

Plusieurs méthodes ont été utilisées, dans des travaux précédents, pour déterminer l'activité antioxydante des plantes (**Baghiani et al., 2012**). Dans notre travail on a étudié l'effet piègeur des radicaux libres évalué par le test du DPPH, pour évaluer l'activité antioxydante de graines de *Peganum harmala*. Le DPPH est un radical libre synthétique de couleur violette foncée. C'est le radical le plus utilisé dans l'analyse de l'activité anti-radicalaire des substances bioactives contenues dans les extraits des plantes médicinales (**Kubola et Siriamornpun, 2008**) pour deux raisons :

- Leur absorbance maximale à 517 nm, ce qui permet donc d'évaluer l'activité anti radicalaire, spectrophotométriquement, en mesurant toute diminution d'absorbance de DPPH.
- Leur grande stabilité, par rapport aux radicaux naturels (le radical hydroxyle et l'anion superoxyde) et vis-à-vis d'autres réactions telles que la chélation métallique des ions ainsi que l'inhibition enzymatique (**Locatelli et al., 2010**).

En présence de composés anti-radicalaires capables de donner un électron ou un atome d'hydrogène, le radical DPPH est réduit conduisant donc à leur neutralisation en un composé non radicalaire (DPPH-H) de couleur jaune pâle. De ce fait, la couleur va se changer du violet au jaune et l'absorbance sera diminuée (**Kubola et Siriamornpun, 2008**). L'activité antioxydante des extraits est exprimée en  $IC_{50}$ , ce paramètre a été employé par plusieurs chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdulmajed et al., 2005 ; Ranga et al., 2009**). Les résultats obtenus ont révélé une importante activité anti-radicalaire des extraits de *Peganum harmala* envers le DPPH. La comparaison de ces valeurs avec celle des antioxydants standards (Vitamine C) avec  $IC_{50}$  :  $1.009 \pm 0.02$  µg/ml. D'après **Talang (2008)** la vitamine C aide à protéger les cellules du stress oxydatif en fournissant continuellement des électrons, qui se lient chimiquement aux cellules et neutralisent les radicaux libres. Et présente l'extrait le plus actif ( $IC_{50}$  :  $61.64 \pm 1.26$  µg/ml) puis EHm ( $IC_{50}$  : de  $93.38 \pm 2.08$  µg/ml). Une étude menée par **Razzagui (2012)** sur *Peganum harmala* a montré des  $IC_{50}$  de l'extrait hydro-méthanolique ( $181 \pm 1.73$  µg/ml) similaire avec nos résultats. Les deux extraits hydro-méthanolique et éthanolique de graine de *P. harmala* sont

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

plus riche en polyphénols donc la capacité de piéger les radicaux DPPH est très élevée. Nos résultats sont cohérents avec de nombreux travaux (**Ismail et al., 2010**). L'activité anti-radicalaire est peut-être liée à la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans ces extraits. Ce dernier réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal aux groupements hydroxyles portés par la molécule de l'antioxydant (**Bondetetal., 1997**). La capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits (**Ozturk et al ., 2007 ; Su et al ., 2008 ; Liuk et al ., 2009**). Tous les extraits de la plante présentent des activités antioxydantes nettement inférieures à celles du produit de référence (acide ascorbique). Cela confirme la validité et la crédibilité de nos résultats. La voltampèremètre cyclique c'est une méthode très facile et reproductible utilisée pour évaluer l'effet de l'activité antioxydante des différents extraits sur l'oxygène

L'analyse phytochimique préliminaire a révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, ces composants possèdent plusieurs propriétés biologiques notables qui sont peut-être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait. D'après les résultats précédents, on peut affirmer que les extraits de *P. harmala* étaient capables de contrôler la dénaturation des protéines et donc d'inhiber la production d'auto-antigènes.

La comparaison entre les résultats des activités antioxydantes obtenus par les deux techniques montre clairement qu'il existe une certaine approche, la différence des résultats est attribuée aux conditions de travail (milieu aqueux). Il est souhaitable de refaire l'étude électrochimique en présence du radical  $O_2^{\bullet-}$ , qui sera détectée par son courant d'oxydation durant le balayage inverse en milieu organique ( $CH_3CN$ ,  $DMF$ ,...). La voltampérométrie cyclique est par conséquent un moyen pratique de générer de l' $O_2^{\bullet-}$  sans système enzymatique et d'étudier son interaction avec une molécule ou un extrait, à condition que le substrat ne soit pas actif dans le domaine de potentielle de réduction de l'oxygène. L'absence du résultat électrochimique de l'extrait éthanolique « EEt » est dû à la réponse électrochimique de cet extrait dans la même plage potentielle de réduction de l'oxygène, ce qui ne nous a pas permis de déterminer l'activité antioxydante de cet extrait.



## Chapitre III : Résultats et discussion

---

L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle qui se développe suite à une lésion tissulaire provoquée par des facteurs physicochimiques (irradiations, brûlure, traumatismes mécaniques...etc.) ou des infections microbiennes, bactériennes, virales ou parasitaires (**Medzhitov, 2008**). Dans notre étude on a évalué l'effet anti-inflammatoire *in vitro* et la capacité des extraits (EHm et EEt) d'inhiber la dénaturation de la BSA a été estimée. Bovine sérum albumine (BSA) est une protéine extraite du sérum de bovin largement utilisée en laboratoire de biologie. Les résultats obtenus montrent que l'extrait hydro-méthanolique possède un effet inhibiteur vis-à-vis de la dénaturation de la BSA. Ces résultats montrent que l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique a été inférieur à celui de diclofénac et supérieur à celui d'extrait éthanolique.



**Conclusion**

### Conclusion

Le travail mène sur la plante de *Peganum harmala L.* en vue d'explorer ces propriétés thérapeutiques et biologiques nous ont mènes à la conclusion les résultats suivants :

L'analyse quantitative montrent que les deux extraits hydro-méthanolique et éthanolique des graines de *Peganum harmala L.* sont très riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Le présent travail montre que l'E<sub>Hm</sub> est très riche en polyphénol et en flavonoïdes que l'E<sub>Et</sub>.

Le présent travail pour l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH révélé que les deux extraits hydrométhanoliques et éthanolique présente une puissante activité antioxydante. Cette activité anti-radicalaire des extraits est relativement dépendante à la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes donc suggère la corrélation entre l'activité antioxydante des extraits et leur richesse en polyphénols et flavonoïdes.

Une technique électrochimique étant utilisée parallèlement au DPPH qui a révélée des résultats très important montre que l'E<sub>Hm</sub> possède une réponse électrochimique ce qui ne pas permis de déterminer l'activité antioxydante de ces extrait. Il y'a une similitude avec les résultats obtenus par DPPH et VC.

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des graines de *Peganum harmala* permet de conclure que les extraits possèdent une activité anti-inflammatoire très importante à partir de la dénaturation de BSA comparable à celle de diclofinaque qui est un anti-inflammatoire de référence.

Nous concluons que le *Peganum harmala* est une plante riche en polyphénols et flavonoïdes, ce qui en fait l'une des plantes médicinales les plus importantes pour traiter une variété des troubles, utilisée comme un anti-inflammatoire, elle possède également une forte activité antioxydante.

### Références bibliographiques

1. **Ababsa Z** (2009). Caractérisation Pharmacotoxicologique et Etude Phytochimique De *Centaurea Dimorpha*. Thèse de Magistère. *Université Mentouri* (Constantine, Algérie).
2. **Abdulmajed K, McGuigan C, Heard CM.** (2005). Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free. Radic. Res.* 39: 491-498.
3. **Adrian J, Frangne R.** (1991). La science Alimentaire de A à Z, Ed Lavoisier, Paris.
4. **Agedilova M, Turmukhambetov A, Schultz E, Shakirov M, & Adekenov S.** (2006). Components of the aerial part of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, **42**: 226-227.
5. **Akhtar MS, Iqbal Z, Khan MN, Lateef M.** (2000). Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo Pakistan subcontinent. *Small. Rumin. Res.* 38: 99–107.
6. **Aouadhi S.** (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude De 57 plantes recommandées par les herboristes, 15-166.
7. **Asgarpanah J, Ramezanloo F.** (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties.
8. **Asilbekova D.** (2006). Lipids from the aerial part of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, **42**: 223-225.
9. **Baghiani A, Djarmouni M, Boumerfeg S, Trabsa H, Charef N, Khennouf S, & Arrar L.** (2012). Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Effects of *Peganum harmala* Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants*, **1**: 42-56.
10. **Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M, & Gazin M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Drug Research*, 1-6. *European Journal of Medicinal Plants*, **1**: 42-56.
11. **Baytop T.** (1999). Herbal treatments in Turkey, (Past and Present) 2. Baski, [Tükiye’de Bitkilerle Tedavi (Gecmiste ve Bugün)] Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Sti., Istanbul Turkey, (In Turkish). 35-90
12. **Behera J.N, Rao J.** (2006). Kagome Compound Templated by 1,8- Diazacubane *Ameri. Chem. Society.* 128 (29): 9334 -9335.
13. **Bellakhdar J.** 1997.La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Saint Etienne, 764 p.
14. **Bhat SV, Nagasampagi BA, Sivakumar M.** (2005). Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, India.Ch. 4, 237.
15. **Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A.** (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes. Metab.* 10: 33–50.

## Références bibliographiques

---

16. **Bruneton J.** (1993). Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> Ed Lavoisier paris.
17. **Chen Q, Chao R, Chen H, Hou X, Yan H, Zhou S, et al.** (2005). Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. *Int. J. Cancer*. 114: 675–82.
18. **Chevallier A.** (2001). Encyclopédique des plantes médicinales. Identification, préparation, sains .Ed. Larousse, Paris, 2éme : 335.
19. **Dewick PM.** (2002). Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach. 2nd Ed, John Wiley & Sons Ltd, 346 p. Diazacubane *Ameri. Chem. Society* 128 (29): 9334 -9335.
20. **Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, & Vidal N.** (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654-660.
21. **Duke AJ.** (2002). Handbook of Medicinal Plants. 2nd ed. *CRC Press* (Boca Raton, Florida), 717.
22. **El Allagui N, Bourijate M, Tahrouch S, & Hatimi A.** (2006). Effet de cinq extraits végétaux sur *meloidogyne* spp de la tomate. *Congrès International de Biochimie* (Agadir), 357-360.
23. **Farouk L, Laroubi A, Ouachrif A, Aboufatima R, Benharref A, & Chait A.** (2009). Study on Antinociceptive Activity of Different Extracts of *Peganum Harmala* and Possible Mechanism of Action. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, **8**: 29-35.
24. **Farzin D, Mansouri N.** (2006). Antidepressant-like effect of harmine and other betacarbolines in the mouse forced swim test. *Eur. Neuro. Psycho. pharmacol* 16: 324–328.
25. **Fendri C, Mechri A, Khiari G, Othman A, Kerkeni A, Gaha L.** (2006). Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la schizophrénie : rev littérature. *L'Encéphale*. 32: 244-52.
26. **Frank CLU.** (1992). Toxicologie, Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. (Paris), 73-202.
27. **Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, Ferrara SD.** (2008). A case of  $\beta$ -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic. Sci. Int.* 179, e37–e43
28. **Georgé S, Brat P, Alter P, & Amiot JM.** (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 1370-1373.
29. **González D, Ancín-Azpilicueta C, Arán VJ, Guillén H.** (2010). Beta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food. Chem. Toxicol* 48: 839–45.

## Références bibliographiques

---

30. **Guergour H.** (2018). Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala* Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences en biochimie Université Ferhat Abas Setif. Pp 7-10.
31. **Hamden K, Carreau S, Ayadi F, Masmoudi H, El Feki A.** (2009). Inhibitory effect of estrogens, phytoestrogens, and caloric restriction on oxidative stress and hepato-toxicity in aged rats. *Biomed. Environ. Sci* 22: 381–387.
32. **Hammiche V, Merad R, Azzouz M.** (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Paris, Springer: 447.
33. **Hodgson E & Cunny H.** (2010). Toxicity Testing. **In:** A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons. Inc* (Hoboken, New Jersey): 409-456.
34. **Ismail HI, Chan KW, Mariod AA, & Ismail M.** (2010). Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (cucumis melo) methanolic extracts. *Food Chemistry*, 119: 643-647.
35. **Kalam S, Singh R, Mani A, Patel J, Naem KF, & Pandey A.** (2012). Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal*, 1: 18-34.
36. **Kar A.** (2007). Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. 2nd ed. *New Age International (P) Limited* (Daryaganj, New Delhi): 122-777.
37. **Kartal M, Altun ML, & Kurucu S.** (2003). HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, 31: 263-269.
38. **Khattabi A, Rhalem N, Chabat A, Skali S, & Soulaymani-Bencheich R** (2010). Plantes toxiques : définition et classification. *Toxicologie Maroc*, **2**: 3-4.
39. **Khashimov K, Telezhenetskaya M, & Yunusov S.** (1969). Desoxypeganine: A new alkaloid from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 5: 381-382.
40. **Kim H, Sablin SO, & Ramsay RR.** (1997). Inhibition of monoamine oxidase A by beta-carboline derivatives. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 337: 137-142.
41. **Kirschvink N, De Moffarts B, Lekeux P.** (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet. J.* 177: 178–191.
42. **Kubola J & Siriamornpum S.** (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chemistry*, 110: 881-890.
43. **Kurachko K, Umarov A, & Markman A.** (1969). The oil of the seeds of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 5: 358-359.
44. **Lapointe G.** (2004). Notions de Toxicologie. 2nd ed. *Commission de la santé et de la sécurité du travail* (Québec, Canada) : 16-20.
45. **Lebham.** (2005). Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM) - Université de Bretagne Occidentale (UBO) :65.

## Références bibliographiques

---

46. **LeBlanc GA.** (2010). Acute toxicity. **In:** A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons, Inc* (Hoboken, New Jersey): 125-236.
47. **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J & Lee .C.Y., 2003:** Cocoa Has More phenolic phytochemicals and Higer Antioxydant Capacity than Teas and Wine .*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **102**, 771-776.
48. **Leporatti M, Ghedira k.** (2009). Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *J. Ethnobiol ethnomed:* 5-31.
49. **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: 771-776.
50. **Liuk, L, Sun, Y, Laura, T, Liang, X, Ye, H, Zeng, X.** (2009). Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J.Tseng. *Food. Chem.* 112: 35-4.
51. **Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, 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.
52. **Mahmoudian M, Jalipour H, Dardashti, PS.** (2002). Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Iran. J. Pharmacol. Ther.* 1 : 1-4.
53. **Markham KR.** (1982). Chapter.1 and 2. Techniques of flavonoid identification. *Academic press*, (London): 1-113.
54. **Medzhitov, R.** (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. Vol.454, N°.7203: 428-435.
55. **Ozenda P.** (1991). Flore de Saha ra .2 ème Ed, Paris: 622.
56. **Pandey KB & Rizvi SI.** (2011). Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. *Biomedical paper of medicine faculty- University Palacky Olomouc-Czech Republic*, 155: 131-136. *Peganum harmala* L. *Afr. J. Pharm. Pharmacol* 6: 1573-1580.
57. **Pincemail C., Charlier C. , Gillion P. , Cheramy-Bien J., Van Honacker E. , Chapelle JP et Defraigne J.** (1999). Evaluation biologique du stress oxydant Application en routine clinique. *Arch Med biomed Res* 1 : 25-30.
58. **Ranga RR, Tiwari AK, Prabhakar RP, Suresh BK, Ali AZ, Madhusudana K, Madhusudana RJ.** (2009). New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem* 17: 5170-5175.
59. **Reichl FX.** (2004). Guide pratique de toxicologie. **2nd ed.** *DeBoeck & Larcier* (Bruxelles) : 4-16.

## Références bibliographiques

---

60. **Rezzagui Abir.** 2012: Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala* L. Pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abas Setif. Pp 90-102.
61. **Rhalem N, Khattabi A, Soulaymani A, Ouammi L, & Soulaymani-Bencheich R** (2010). Etude rétrospective des intoxications par les plantes au Maroc : Expérience du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (1980-2008). *Toxicologie Maroc*, 5-8.
62. **Rharrabe K, Bakrim A, Ghailani N, Sayah F.** (2007). Bioinsecticidal effect of harmaline on *Plodia interpunctella* development (Lepidoptera Pyralidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 89: 137–45.
63. **Seidel V.** (2005). Initial and Bulk Extraction. Natural products isolation. Ed Humana Press, (Totowa): 27-37.
64. **Shi CC, Chen SY, Wang GJ, Liao JF, Chen CF.** (2000). Vasorelaxant effect of harman. *Eur. J. Pharmacol.* 390: 319–25.
65. **Sincich F.** 2002. Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Ed FAO, 146 p.
66. **Su MS, Shyu YT, Chien, PJ.** 2008. Antioxydant activities of various herbal product extracts, *Food. Chem.* 111: 892
67. **Sahreen S, Khan MR, Khan RA** ,(2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food chemistry* ,122:1205\_1211
68. **Talang, DB.** (2008). Validation of capacitance and equivalent series resistances model of manganese oxide based aqueous super capacitor. 40 (10): 1105-1118
69. **Timbrell J.** (2000). Principles of biochemical toxicology. 3rd ed. *Taylor & Francis. Inc* (London): 1-390.
70. **Tuliaganov N, Sadritdinov FS, Suleimanova GA.** (1986). Pharmacological characteristics of desoxypeganine hydrochloride (Abstract). *Farmakol Toksikol* 49: 37-40. vasorelaxant activities. *J. Nat. Med* 62: 470–2.
71. **Waki H, Park KW, Mitro N, Pei L, Damoiseaux R, Wilpitz DC.** (2007). The small molecule harmine is an antidiabetic cell-type-specific regulator of PPAR gamma expression. *Cell. Metab.* 5: 357–70.
72. **Wallace AD & Meyer SA.** (2010). Hepatotoxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons. Inc* (Hoboken, New Jersey): 277-290.
73. **Wang X, Wang H, He A.** (1996). Study on the antitumor effect of total harmala. *J. China. Med Univ* 25: 240–242.
74. **Wecksser W.** (2013). First record of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) in Val Verde County, Texas, and subsequent eradication treatment. *Phytoneuron.* (71): 1–5
75. **Williams L., Vasquez E., Milan P., Zebitz C., Kraus W.** (2002). In vitro anti-inflammatory and anti-microbial activities of phenylpropanoids from Piper betle (Piperaceae). In Proceeding of the Phytochemical Society of Europe: Natural products in the new millennium: Prospects



## Références bibliographiques

---

- and industrial application. AP Rauter, PB Palma, J. Justino, Araujo ME, Santos SP (Eds). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. The Netherlands. 74: 221-27.
76. **Yousefi R, Ghaffarifar F, & Dalimi AA.** (2009). The Effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) *in vitro*. *Iranian Journal of Parasitology*. 4: 40-47.
77. **Zharekeev B, Khashimov K, Telezhenetskaya M, & Yunusov S.** (1974). New alkaloids from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*. 10: 282-283.