



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 بوعريش

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

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض 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: Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Thème

**Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols et flavonoïdes (temps) et l'effet anti-oxydant et anti-inflammatoire des extraits de la plante *Peganum harmala***

Présenté par : M<sup>r</sup> Herizi Zakaria

M<sup>r</sup> Zitouni Walid

Devant le jury :

**Président:** M<sup>me</sup> Driai.S

MAB

Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

**Examineur:** M<sup>me</sup> Guergour.H

MAA

Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

**Encadrant:** M<sup>r</sup> Diafat.A

MCA

Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

Année universitaire : 2017/2018

## *Remerciements*

*Avant toute chose, nous remercions Allah, notre Dieu qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promoteur monsieur **Diafat Abdelouahab** qui a mis toute sa compétence à notre disposition et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous exprimons notre profonde et vive reconnaissance à Mme **Driai Sihem** d'avoir acceptée de présider le jury de soutenance.*

*Nous adressons un grand merci à Mme **Guergour Hassina** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant à examiner ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements aux membres du laboratoire de recherche pour leur gentillesse, leur aide, soutien, et conseils durant la période que nous avons passé dans le laboratoire en particulier doctorante : **Dhiri Mounira, Baali Faiza, Righi Nadjet, Ghedjemis Amina** et Mr : **Deghima Amirouche**.*

*Nos remerciements vont aussi aux ingénieurs de laboratoire de T3, biochimie, phytologie et chimie pour leur gentillesse et leur aide durant la période que nous avons passé dans le laboratoire.*

*Nos derniers remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*

## *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,*

*L'amour, le respect, la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que Je dédie ce*

*Travail...*

*A mes chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel  
et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour  
mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez  
depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne  
toujours.*

*Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie  
et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mes frère, sœur et toute ma famille Zitouni*

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le  
tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A toute mes amis et surtout les étudiants de 3ème année spécialité  
toxicologie promotion 2015/2016*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments  
agréables que nous avons passés ensemble.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce  
mémoire.*

*walid*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes parents, source d'affection de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voire atteindre ce jour, et ma Femme pour leur soutien tout au long de mes études.*

*A mes sœurs Hayet, Saadia, khadidja, et mes frères Mahfaud, Riadh, messoud, Yahya, Ali, et à toute la famille Herizi.*

*A mon binôme de mémoire Walid Zitouni.*

*A tous mes amis et collègues de la promotion de Biochimie.*

*A mes amis de la city universitaire de BBA.*

*zakaria*

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Introduction .....	01

## **Partie 1. Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I : Le stress oxydatif**

I. Le stress oxydatif .....	02
I.1. Radicaux libres .....	02
I.1.1. Définition .....	02
I.1.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	02
I.1.3. Sources des ERO .....	02
I.1.3.1. sources exogènes .....	03
I.1.3.2. Sources endogènes .....	03
I.2. Stress oxydatif .....	03
I.2.1. Cibles biologiques et conséquences pathologiques du stress oxydatif .....	03
I.2.1.1. Cibles biologiques .....	03
I.2.1.2. Conséquences du stress oxydant .....	03
I.3. Les Antioxydants .....	04
I.3.1. Définition .....	04
I.3.2. Classification des antioxydants .....	04
I.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques .....	04
I.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques .....	04
I.3.2.3. Antioxydants d'origine végétale .....	04

### **Chapitre II : L'inflammation**

II. L'inflammation .....	06
II.1. Définition de l'inflammation .....	06
II.2. Type d'inflammation .....	06
II.2.1. L'inflammation aiguë .....	06
II.3. Les médiateurs de l'inflammation .....	06
II.4. Implication pathologique de l'inflammation .....	06
II.5. Thérapeutique de l'inflammation .....	06

II.5.1. AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens).....	07
II.5.2. AIS (anti-inflammatoires stéroïdiens) .....	07
II.5.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétales.....	07

### Chapitre III : Médecine traditionnelle

III. Médecine traditionnelle .....	09
III.1. Les plantes médicinales .....	09
III.1.1. Définition.....	09
III.1.2. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales .....	09
III.1.3. Métabolites secondaires des plantes .....	09
III.1.3.1. Les polyphénols .....	10
III.1.3.2. Les flavonoïdes.....	10
III.1.3.3. Les alcaloïdes .....	10
III.1.3.4. Les tanins .....	10
III.2. Généralité sur la plante <i>Peganum harmala</i> .....	11
III.2.1. Présentation de la plante .....	11
III.2.2. Classification botanique .....	12
III.2.3. Composition chimiques .....	12
III.3. La toxicité.....	12
III.3.1. Mécanisme d'action et toxicocénétiques.....	13
III.4. Activité pharmacologique .....	13
III.4.1. Effet anticancéreux .....	13
III.4.2. Effet analgésique .....	13
III.4.3. Effet anti-inflammatoire .....	14
III.4.4. Effet antimicrobienne .....	14

### Partie 2. Etude expérimentale

#### Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes .....	15
IV.1. Matériel .....	15
IV.1.1. Produits et réactifs .....	15
IV.1.2. Appareillages .....	15
IV.1.3. Matériel végétal.....	15
IV.1.4. Animaux .....	15
IV.2. Méthodes .....	16
IV.2.1. Extraction par les solvants.....	16

IV.2.1.1. Extraction des huiles fixe .....	16
IV.2.1.2. Optimisation d'extraction des métabolites secondaires .....	16
IV.2.2. Rendement d'extraction .....	18
IV.3. Dosage des polyphénols .....	18
IV.4. Dosage des flavonoïdes .....	18
IV.5. Activités biologiques de la plante .....	19
IV.5.1. Activité anti oxydante .....	19
IV.5.1.1 Inhibition du radical DPPH .....	19
IV.5.1.2. Pouvoir réducteur (FRAP) .....	20
IV.5.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	20
IV.5.2.1. Protocole expérimental.....	21
IV.5.2.1.1. Prétraitement par l'extrait.....	21
IV.5.2.1.2. Induction de l'inflammation.....	21
IV.5.2.1.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	22
IV.6. Analyses statistique .....	22

### **Chapitre V : Résultats et discussion**

V. Résultats et discussion .....	23
V.1. Résultats .....	23
V.1.1. Rendement d'extraction.....	23
V.1.2. Dosage des polyphénols totaux .....	23
V.1.3. Dosage des flavonoïdes .....	24
V.1.4. Activités biologiques .....	25
V.1.4.1. Activité anti-oxydante .....	25
V.1.4.1.1. Inhibition du radical DPPH .....	25
V.1.4.1.2. pouvoir réducteur (FRAP) .....	28
V.1.4.2 Activité anti-inflammatoire .....	29
V.2. Discussion.....	30

Conclusion

Références bibliographiques

## Liste des abréviations

- ONAB** : Office National des Aliments de Bétails.
- Rdt** : Rendement.
- PF** : Produit final.
- MS** : Matière sèche.
- OH** : Hydroxyles.
- nm** : Unit de mesure d'absorbance, nanomètre.
- g** : Gram.
- EQ** : Equivalents de quercétine.
- Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique.
- Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux.
- pH** : Potentiel Hydrogène.
- M** : Molaire.
- rpm** : Rotation par minute.
- IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.
- EAG** : Equivalent d'acide gallique.
- R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation.
- AEAC** : acide Ascorbique Equivalent Antioxydant Capacité.
- h** : Heure.
- C°** : Celsius.
- Vit C** : Acide ascorbique.
- ERO** : espèces réactives de l'oxygène.



## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Mécanisme d'action anti inflammatoire d'origine végétale des flavonoïdes.....	08
<b>Figure 02</b> : Herbe de <i>Peganum harmala</i> L.....	11
<b>Figure 03</b> : Différents parties de l'espèce <i>Peganum harmala</i> L.....	12
<b>Figure 04</b> : La plante de <i>Peganum harmala</i> et leur graines.....	15
<b>Figure 05</b> : Extraction par sohxlet. ....	16
<b>Figure 06</b> : Préparation des extraits bruts de <i>Peganum harmala</i> .....	17
<b>Figure 07</b> : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH). ....	19
<b>Figure 08</b> : Le gavage des solutions. ....	21
<b>Figure 09</b> : L'application topique de xylène.....	22
<b>Figure 10</b> : Rendement d'extraction des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	23
<b>Figure 11</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. ....	23
<b>Figure 12</b> : Teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	24
<b>Figure 13</b> : Courbe d'étalonnage de la Quercétine. ....	25
<b>Figure 14</b> : Teneur en flavonoïdes des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	25
<b>Figure 15</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	26
<b>Figure 16</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de Vit C .....	27
<b>Figure 17</b> : IC50 des extraits et la Vit C .....	27
<b>Figure 18</b> : Pouvoir réducteur des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	28
<b>Figure 19</b> : Pouvoir réducteur de Vit C.....	28
<b>Figure 20</b> : Le pouvoir réducteur des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	29
<b>Figure 21</b> : Différence du poids entre l'oreille droite et gauche une heure après l'induction de l'œdème.....	30

## Résumé

*Peganum harmala* L, connue par Harmel, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles tel que : l'hypertension artérielle, les hémorroïdes, les troubles digestifs et l'inflammation. La présente étude a pour but d'optimiser les conditions d'extraction des flavonoïdes et polyphénols de cette plante, et d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des différents extraits.

Les résultats obtenus ont montré la présence des polyphénols et flavonoïdes dans les différents extraits des graines de la plante, une activité anti radicalaire et un effet réducteur significatif pour les différents extraits.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire montre que l'effet de l'extrait 8h est significatif par rapport au groupe témoin, et non significatif par rapport à la référence qui est le Diclofenac à la dose étudiée.

**Mots clés :** *Peganum harmala* L, anti radicalaire, anti-inflammatoire, effet réducteur, Diclofenac.

## Abstract

*Peganum harmala L*, also known as Harmel, is a plant widely used in traditional Algerian medicine to treat a variety of disorders such as : high blood pressure, hemorrhoids, digestive disorders and inflammation. The aim of this study is to optimize the flavonoid and polyphenol extraction conditions of this plant, and to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of the various extracts.

The results obtained showed the presence of polyphenols and flavonoids in the seeds, an anti-radical activity and a significant reducing effect for the extracted deferents.

The study of the anti-inflammatory activity shows that the effect of the 8h extract is significant compared to the control group, and not significant by reference to the reference which is Diclofenac at the dose studied.

**Key words :** *Peganum harmala L*, anti radical, anti-inflammatory, reducing effect, Diclofenac.

### الملخص

*Peganum harmala L*، المعروف أيضا باسم الحرمل، نبتة تستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لعلاج مجموعة متنوعة من الاضطرابات مثل: ارتفاع ضغط الدم، البواسير، اضطرابات الجهاز الهضمي والالتهاب. الغرض من هذه الدراسة هو تحسين شروط استخراج الفلافونويد والمركبات الفينولية من هذا النبات، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب من مختلف المستخلصات.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها احتواء البذور على المركبات الفينولية والفلافونويدات، ونشاط مضاد للأكسدة وأيضا قدرة إرجاعيه معتبرة بالنسبة لجميع المستخلصات.

تبين من خلال دراسة النشاط المضاد للالتهاب أن للمستخلص 8س تأثير معتبر مقارنة مع المجموعة الشاهدة، غير أن تأثيره مقارنة مع المرجع الذي هو Diclofenac عند الجرعة المدروسة غير معتبر.

**الكلمات المفتاحية:** *Peganum harmala L*، القدرة الإرجاعية، مضاد للأكسدة، مضاد الالتهاب.

# Introduction

## **Introduction**

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires (**Kholkhal et al., 2013**). Ils sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

L'Algérie vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la méditerranée et l'Afrique subsaharienne est considérée parmi les pays connus pour leur diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. Parmi les plantes qui constituent le couvert végétal, on trouve *Peganum harmala*.

*Peganum harmala* est une plante médicinale qui présente un intérêt en médecine traditionnelle, elle a un effet narcotique, antihelminthique, antispasmodique et utilisés dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (**Siddiqui et al., 1988 ; Bellakhdar, 1997**). Elle est également employée comme antivirale (**Rashan et Adaay, 1989**) et abortive (**Shapira et al., 1989 ; Nath et al., 1993 ; Adaay, 1994**).

Aucune étude n'a été effectuée pour optimiser les conditions d'extraction de *Peganum harmala*. C'est dans ce contexte, que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est l'optimisation d'extraction des polyphénols et flavonoïde de cette plante afin d'évaluer les différentes activités biologiques (antioxydante et anti-inflammatoire).

# Partie bibliographique

Chapitre I

# Le stress oxydatif

Partie bibliographique



## **I. Le stress oxydatif**

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

### **I.1. Radicaux libres**

#### **I.1.1. Définition**

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Asmus *et al.*, 2000).

Ces radicaux libre auront toujours tendance à remplir leur orbital en captant un électron pour devenir plus stables (Halliwell, 1996). Parmi les radicaux libres, il y a les espèces réactives de l'oxygène (ERO).

#### **I.1.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko *et al.*, 2007). L'oxygène il constitue lui-même une source importante de radicaux libre. L'ajout d'un électron à la molécule de dioxygène forme le radical anion superoxyde ( $O_2^-$ ), principalement au niveau de la mitochondrie (Cadenas *et Sies*, 1998).

Les radicaux libres comme l'anion superoxyde sont peu réactifs et jouent un rôle physiologique important. D'autres espèces beaucoup plus nocives comme le radical hydroxyle ( $HO\bullet$ ), ou les radicaux peroxyles ( $ROO\bullet$ ) dont le chef de file est l'hydroperoxyl ( $HOO\bullet$ ) (De Grey, 2002).

D'autres espèces dérivées de l'oxygéné comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ne sont pas des radicaux libres mais sont très réactifs (Halliwell *et Gutteridge*, 2007). L'ensemble de ces espèces radicalaires et non radicalaires sont regroupées sous le nom commun d'ERO.

#### **I.1.3. Sources des ERO**

Les ERO sont produit continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.

### **I.1.3.1. Sources exogènes**

Les radicaux libres peuvent être d'origine exogène : produits des radiations (rayons X et lumière UV), polluants de l'air (N, NO<sub>2</sub>), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, xénobiotiques et hyperoxie (Halliwell *et Gutteridge*, 1989).

### **I.1.3.2. Sources endogènes**

Les radicaux libres d'origine endogènes sont produits, en majorité au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies (Halliwell, 2006 ; Durackova *et al.*, 2008). Dans les fibres musculaires l'auto-oxydation des quinones au niveau des mitochondries et l'activité enzymatique de la xanthine oxydase dans les cellules endothéliales des capillaires, constitueraient les deux sources potentielles des radicaux libres dérivés d'oxygène (Sjodin *et al.*, 1990). Ils apparaissent aussi au niveau lysosomes, des peroxyosomes, du réticulum nucléaire et sarcoplasmique, du sarcolemme et du sarcoplasme lui-même (Bendich, 1991).

## **I.2. Stress oxydatif**

Le stress oxydatif apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces prooxydantes et antioxydantes est rompu en faveur de l'état prooxydant. La rupture de cet équilibre est due à la promotion d'espèces activées de l'oxygène, ou radicaux libres oxygénés (Gutteridge, 1995 ; Halliwell, 1996).

### **I.2.1. Cibles biologiques et conséquences pathologiques du stress oxydatif**

#### **I.2.1.1. Cibles biologiques**

Lors d'un stress oxydant, les ERO peuvent entraîner des dommages importants aux différentes structures cellulaires, notamment les acides nucléiques, les lipides et les protéines. (Curtin *et al.*, 2002 ; Gutteridge, 1992).

#### **I.2.1.2. Conséquences du stress oxydant**

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des procarcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme le p53 (Favier, 2003), ils ont aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Montagnier *et al.*, 1998).

## **I.3. Les antioxydants**

### **I.3.1. Définition**

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

### **I.3.2. Classification des antioxydants**

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

#### **I.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques**

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

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

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

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

#### **I.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques**

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

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

#### **I.3.2.3. Les antioxydants d'origine végétale**

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, les plantes renferment de nombreuses substances bioactives qui présentent des propriétés antioxydantes. Ont été rapportées présentant une activité antioxydante y compris *Citrullus colocynthis*, *Limoniastrum feei*, *Pistacia lentiscus* et bien d'autres (Atmani *et al.*, 2009 ; El-Haci *et al.*, 2012).

Une grande partie de ces molécules est présente dans l'alimentation. Les plus connus sont les polyphénols, les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les caroténoïdes flavonoïdes, et les tanins (**Pellegrini *et al.*, 1999**).

Chapitre **II**

# L'inflammation

Partie bibliographique

## **II. L'inflammation**

### **II.1. Définition de l'inflammation**

L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle, qui se développe suite à une lésion tissulaire provoquée par des facteurs physicochimiques (irradiations, brûlure, traumatismes mécaniques...) ou des infections microbiennes, bactériennes, virales ou parasitaire (Medzhitov, 2008).

### **II.2. Type d'inflammation**

L'inflammation est classée en deux catégories aiguës et chroniques selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires (Mansour, 2015).

#### **II.2.1. L'inflammation aiguë**

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses (Rousselet *et al.*, 2005). Et peut être divisée en 3 grandes phases :

- Une phase vasculaire.
- Une phase cellulaire.
- Une phase de résolution et de cicatrisation.

### **II.3. Les médiateurs de l'inflammation**

Les changements locaux qui surviennent au niveau du site inflammatoire sont le résultat de la formation et/ou la libération séquentielle de médiateur pro et anti-inflammatoires de nature divers : amine (histamine et sérotonine), médiateurs lipidiques (prostaglandines et leucotriènes) et des cytokines de nature peptidique, protéique ou glycoprotéique (Botting *et Botting*, 2000).

### **II.4. Implication pathologique de l'inflammation**

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires, à savoir les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Charles *et al.*, 2010).

### **II.5. Thérapeutique de l'inflammation**

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires (Cohen *et Jacquot*, 2001). C'est à dire les substances chimiques luttant contre les phénomènes inflammatoires généraux d'origine diverses (infections, brûlures, irritations,

troubles métaboliques, etc.) par inhibition de la Cyclo-oxygénase (COX), en particulier la COX-2 (Grunfeld, 2002 ; Gobec *et al.*, 2005).

On distingue généralement deux catégories d'anti-inflammatoires : les uns sont hormonaux (les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS) et les autres ne sont pas (les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS).

### **II.5.1. AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des médicaments largement utilisés pour traiter les maladies inflammatoires, qui ont des effets analgésiques, antipyrétiques et à hautes doses des effets anti-inflammatoires, certains AINS (aspirine, Diclofenac) sont fréquemment utilisés pour l'automédication des maux de tête, de dents et de divers troubles musculosquelettiques, etc. (Neal, 1999).

Tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) semblent partager au moins un mécanisme d'action commun, à savoir l'inhibition des enzymes de cyclo-oxygénase (COX 1 et 2) qui conduit à une diminution de la synthèse de divers médiateurs de l'inflammation tel que : les prostaglandines et thromboxanes (Barnes, 1998).

### **II.5.2. AIS (anti-inflammatoires stéroïdiens)**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (Payne *et Adcock*, 2001). Ils sont largement utilisés pour la suppression de l'inflammation dans les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, la maladie intestinale inflammatoire et les maladies auto-immunes, qui sont toutes associées à une expression accrue des gènes inflammatoires (Barnes, 1998).

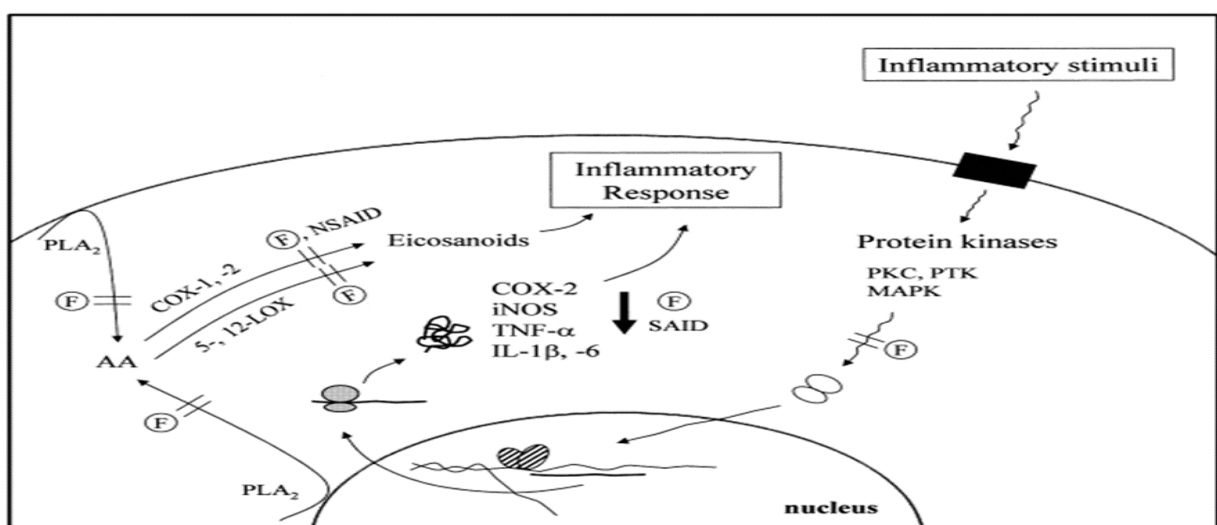
Ils agissent en inhibant la réaction inflammatoire par l'inactivation de la phospholipase membranaire, ils empêchent la libération de l'acide arachidonique précurseur des prostaglandines et ils induisent la formation d'une protéine appelée lipocortine qui se fixe sur la phospholipase et la rend inactive (Neal, 1999).

### **II.5.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétales**

Les plantes médicinales ont joué un rôle clé dans la santé humaine et contribué au développement de médicaments thérapeutiques modernes (Cragg *et al.*, 1997 ; Shu *et al.*, 1998). Ils sont très utilisés pour le soulagement des maladies inflammatoires tel que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères gastriques et duodénaux (Setty *et Sigal*, 2005 ; Wiart, 2006).

L'activité anti-inflammatoire de ces plantes revient à leur contenu en métabolites secondaires doués d'activités biologiques ; polyphénols, stéroïls, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes, polysaccharides etc.

Les points les plus saillants de la régulation cellulaire affectés par les flavonoïdes c'est l'effet sur les enzymes générant d'écicosanoïde tel que : Phospholipases A2 (PLA<sub>2</sub>), cyclo-oxygénase (COX), lipoxygénase (LOX) et des effets sur la suppression des molécules pro-inflammatoire tel que : protéines kinases C (PKC), protéine tyrosine kinases (PTk), et Mitogen-activated protein kinases (MAPK) (Hyun Pyo *et al.*, 2004) (Figure 01).



**Figure 01** : Le mécanisme d'action anti inflammatoire d'origine végétale des flavonoïdes (Setty *et Sigal*, 2005).



Chapitre **III**

# Médecine traditionnelle

Partie bibliographique

### **III. Médecine traditionnelle**

La médecine traditionnelle est définie par l'OMS comme « la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales. Dans certains pays, les appellations médecine parallèle, alternative et douce sont synonymes de médecine traditionnelle. » (OMS, 2014).

#### **III.1. Les plantes médicinales**

##### **III.1.1. Définition**

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj *et al.*, 2007).

##### **III.1.2. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales**

Malgré le développement du médicament de synthèse, le médicament végétal sous ses différentes formes continues à occuper une place de choix ainsi, l'OMS estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaire de 80% de la population mondiale. Ce phénomène n'est pas seulement limité aux pays en développement. Une analyse des prescriptions médicales menée aux Etats-Unis entre 1959 et 1980, a montré que 25% d'entre elles contenaient un principe issu du règne végétal, tandis que près de 60 % des prescriptions en Europe de l'Est proviennent directement ou indirectement de plantes (Hmamouchi *et al.*, 2012).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi en médecines classique qu'en phytothérapie ; elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (Iserin, 2001).

##### **III.1.3. Métabolites secondaires des plantes**

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites

secondaires. De nos jours, un grand nombre de composés sont utilisés en médecine moderne. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives.

### **III.1.3.1. Les polyphénols**

Les tissus végétaux contiennent un grand nombre de substances à fonctions phénols, dont les plus importants sont les anthocyanes (pigments rouges et bleus des fleurs et des fruits), les flavones et leurs dérivés (pigments jaunes), les tanins...etc. **Bourzeix, (1976)** ont classé les constituants phénoliques en différents groupes :

- Les phénols simples.
- Les acides phénols et leurs dérivés.
- Les catéchines et leurs esters galliques.
- Les leucoanthocyanes.
- Les anthocyanes.
- Les flavonoles.
- Les tanins et leurs dérivés.

### **III.1.3.2. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes tirent leur origine du mot latin « flavus = jaune ». Ce terme a été utilisé pour la première fois pour décrire la famille de composés colorés en jaunes (**Jovanovic et al., 1997**). Par la suite, on leur avait ajouté les flavonones moins intensivement colorés, des flavonoles moins colorés (catéchines), les composés colorés en rouge et des anthocyanidines bleues.

Certains dérivés flavoniques sont utilisés en thérapeutique comme des protecteurs capillaires. D'autres possèdent des activités diurétiques, antispasmodiques, antiulcéreuses, gastriques et anti-inflammatoires. Ce sont des molécules toxiques mais bien tolérées par l'Homme (**Bezanger et al., 1980**).

### **III.1.3.3. Les alcaloïdes**

Malgré les propriétés très hétérogènes, un certain nombre de substances sont regroupés sous le terme « alcaloïdes » en raison de leur origine végétale et de leur caractère alcalin (**Guignard et al., 1996**). Ils forment un groupe très hétérogène du point de vue : structure, propriétés chimiques et activités biologiques. Ce sont des bases de poids moléculaire très variable, qui donnent des sels en présence des acides (**Paris et Hurbielle, 1981**).

### **III.1.3.4. Les tanins**

Le terme tanin désigne des substances phénoliques de structures assez éloignées mais ayant en commun des propriétés tannantes. Ces propriétés tannantes concernent plus particulièrement un ensemble de substances poly phénoliques d'origine végétale dont les

masses moléculaires sont comprises entre 500 et 3000 daltons (Paris et Hurbielle, 1986). Ces substances peuvent être classées en deux catégories : les tanins hydrosolubles ou tannoïdes, qui sont des polymères de l'acide gallique, et les tanins vrais non hydrosolubles, qui sont des polymères de certains flânonns.

## **III.2. Généralité sur la plante *Peganum harmala***

### **III.2.1. Présentation de la plante**

*Peganum harmala* est une plante herbacée glabre et pluriannuelle qui peut atteindre 70cm d'hauteur. Elle est caractérisée par des tiges très rameuses et des feuilles divisées en étroites lanières (Figure 02, 03). Cette espèce a plusieurs noms vernaculaires comme 'Harmel ou Harmal El sahari' en Algérie et en Afrique du Nord, 'Rue sauvage' en France, 'African rue ou Syrian rue' en Etats 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. Les fleurs solitaires sont grandes (25 à 30 mm), d'un blanc jaunâtre vert. Elles sont formées de petites fleurs blanches à l'aisselle des rameaux et d'un fruit globuleux contenant plusieurs graines aplaties. Les graines d'une couleur marron foncée, sont petites, anguleuses, sub triangulaires et ont un diamètre de 3 à 4 mm x 2mm (Yousefi et al., 2009).



**Figure 02 :** Herbe de *Peganum harmala* L (F. k. e. s., 2012).



**Figure 03 :** Différents parties de l'espèce *Peganum harmala* L (H. h., 2012).

### III.2.2. Classification botanique

Selon la classification d'OZENDA, 1991:

**Embranchement :** Spermatophytes

**Sousembanchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Rosidae

**Ordre :** Sapindales

**Famille :** Zygophyllaceae

**Genre :** Peganum

**Espèce :** *Peganum harmala* L.

### III.2.3. Composition chimiques

*Peganum harmala* appartient à la famille des Zygophyllacées qui compte 24 genres et 240 espèces. En 1841, le premier principe actif du *Peganum harmala*, l'harmaline fut isolé. Sa structure chimique a été découverte en 1919 et utilisée pour la première fois en 1927 par Richard Manske. Plusieurs autres principes actifs ont été identifiés par la suite, notamment la harmine et la quinazoline (Ben Salah *et al.*, 1986).

### III.3. La toxicité

L'intoxication chez l'animal se traduit par une excitabilité, des tremblements, une rigidité musculaire, une démarche chancelante et une respiration saccadée. L'animal est dans un état narcotique interrompu par de courtes périodes d'excitation. Après quelques heures, il y a apparition d'une dyspnée et d'une mydriase, d'une hypothermie, de troubles urinaires avec avortement en cas de gestation.

Chez l'homme la harmaline, à la dose de 4 mg/kg, per os produirait des effets psychomimétiques. Des doses plus élevées provoquent des convulsions, suivies d'une paralysie

du système nerveux central avec une paralysie respiratoire, hypothermie, hypotension avec défaillance cardiaque, diminution de la contraction des muscles lisses, à l'exception du muscle utérin (hyper contraction) (Ben Salah *et al.*, 1986).

### III.3.1. Mécanisme d'action et toxicocénétiques

Toute la plante est toxique par l'intermédiaire d'un alcaloïde dont le taux est plus élevé dans la graine (3 à 4 %).

La harmaline et la harmine sont des antagonistes de la sérotonine, qui prennent la place de la sérotonine dans les mécanismes enzymatiques en raison de la ressemblance des structures.

Le catabolisme hépatique par sulfo et glycuco-conjugaison a été mis en évidence chez le rat et confirmé sur le foie humain. L'absorption dépend de la voie d'exposition : après ingestion des graines, les alcaloïdes sont absorbés en quelques minutes par le tractus gastro-intestinal, atteignant en 15 à 30 minutes, les organes cibles (système nerveux central et cœur). En fumigation ces organes sont touchés en 5 à 10 mm.

L'effet principal s'exerce sur le système nerveux central entraînant un cortège de signes neurologiques et neuromusculaires. Les alcaloïdes de quinazoline sont responsables de l'activité abortive par une contraction du muscle utérin (Ben Salah *et al.*, 1986).

## III.4. Activité pharmacologique

### III.4.1. Effet anticancéreux

L'harmine est une molécule naturelle initialement isolée à partir de plantes telles que *Peganum harmala*. Cette molécule était à l'origine, utilisée par les indigènes d'Amérique du Sud en tant qu'ingrédient principal de l'ayahuasca, une décoction de plantes consommée, notamment, pour ses effets hallucinogènes. De nos jours l'harmine est particulièrement étudié pour ses diverses propriétés pharmacologiques, incluant une activité anticancéreuse. En effet, des études *in vitro* ont mis en évidence la diminution de viabilité cellulaire de cellules cancéreuses provenant de divers tissus incluant le cerveau, le colon, le sein, le poumon, le foie, l'œsophage et les tissus gastriques, après un traitement par l'harmine cet effet de l'harmine se confirme également *in vivo*, puisque la molécule inhibe la croissance tumorale, et ce pour divers modèles murins (Céline *et Johan*, 2015).

### III.4.2. Effet analgésique

Des études montrés que le *Peganum harmala* possède une activité analgésique qui diminue les récepteurs de douleur périphérique et la prévention de PG – médiateur de sensibilisation des terminaisons nerveuses mais le mécanisme d'action exact reste inconnu (Pradeep Kumar *et al.*, 2015).

#### **III.4.3. Effet anti-inflammatoire**

Selon Pradeep Kumar *et al.*, (2015) et Shahinaz *et al.*, (2015) l'effet de l'extrait de *Peganum harmala* présente une activité anti-inflammatoire mais, les études doivent être continues pour connaître son mode d'action.

#### **III.4.4. Effet antimicrobienne**

Des études montrent que la forte teneur en alcaloïdes de la plante offre une forte toxicité. Cette dernière présente un effet antibactérien contre les bactéries Gram + et certaines bactéries Gram – sauf pour *E. coli* et *P. aeruginosa*. Ainsi un effet inhibiteur sur les levures et moisissures (Behidj-Benyounes *et al.*, 2015).

# Partie expérimentale



Chapitre IV

# Matériel et méthodes

Partie expérimentale

## IV. Matériel et méthodes

### IV.1. Matériel

#### IV.1.1. Produits et réactifs

-Les solvants : Méthanol, Hexane, Ethanol, Chloroforme et Xylène (**Sigma Aldrich**).  
-Les réactifs :  $AlCl_3$  (chlorure d'aluminium), Folin-Ciocalteu,  $Na_2CO_3$  (carbonate de sodium),  $C_7H_6O_5$  (Acide gallique),  $C_{15}H_{10}O_7$  (quercétine), acide ascorbique (Vit C),  $K_3Fe(CN)_6$  (Ferricyanure de potassium),  $FeCl_3$  (Chlorure ferrique),  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  (Sodium dihydrogen phosphate dihydrate),  $Na_2HPO_4$  (Hydrogénophosphate de sodium),  $KH_2PO_4$  (Potassium dihydrogen phosphate), TCA (Acide trichloracétique), DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), Diclofenac (**Biochem**).

#### IV.1.2. Appareillages

-Spectrophotomètre (UVmini-1240, Shimadzu, Kyoto, Japan).  
-Centrifugeuse (Sigma Laborzentrifugen, Germany).  
-Rota vapeur (BUCHI, switzerland, 2011).  
-Bain marie (type WNB14, Germany).

#### IV.1.3. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des graines de *Peganum harmala* de la Wilaya de Sétif (**Figure 04**).



**Figure 04** : La plante de *Peganum harmala* et leur graines.

#### IV.1.4. Animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris *Mus musculus* dont le poids varie entre 30 et 36 g procurés aux prés de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux répartis en groupes comportant 4 à 5 chacun, sont hébergés dans des cages de polypropylène à une température ambiante, avec accès libre à l'eau et à l'aliment fourni par l'Office National des Aliments de

Bétails (ONAB) de Bejaia. Après une période d'adaptation 7 jours, les souris sont pesées, marquées, et soumises à jeûne pendant une nuit avant leur utilisation.

## IV.2. Méthodes

### IV.2.1. Extraction par les solvants

#### IV.2.1.1. Extraction des huiles fixe

Les huiles fixes sont extraites selon la méthode d'Idrissi Hassani *et* El Hadek, (1999) avec quelque modification, 40 g de graines de *Peganum harmala* ont été broyées. La poudre obtenue est placée dans un extracteur de type Soxhlet, le ballon contenant de l'hexane est porté à une température de 45°C (**Figure 05**). L'extraction dure 6 heures. L'hexane récupéré et enrichi de matières lipidiques est filtré et éliminé par évaporation au moyen d'un évaporateur rotatif à températures 45°C.



**Figure 05** : Extraction par sohxlet.

#### IV.2.1.2. Optimisation d'extraction des métabolites secondaires

Dans le but d'évaluer la teneur des polyphénols et flavonoïdes en fonction de temps d'extraction nous avons effectué une série de macération.

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la préparation de différent extrait par macération pendant déférentes durées : 1, 4, 6, 8, et 16 heures en utilisant l'éthanol comme solvant.

La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale à extraire. Dans notre cas 50 g de la plante sont broyées et extraits par 200ml de l'éthanol à 80% pour chaque extrait. L'extraction est effectuée sous agitation continue et à une température 25°C. Le mélange est filtré sur un papier filtre, et les déférentes filtrats sont évaporés au moyen d'un évaporateur rotatif à températures 45°C.

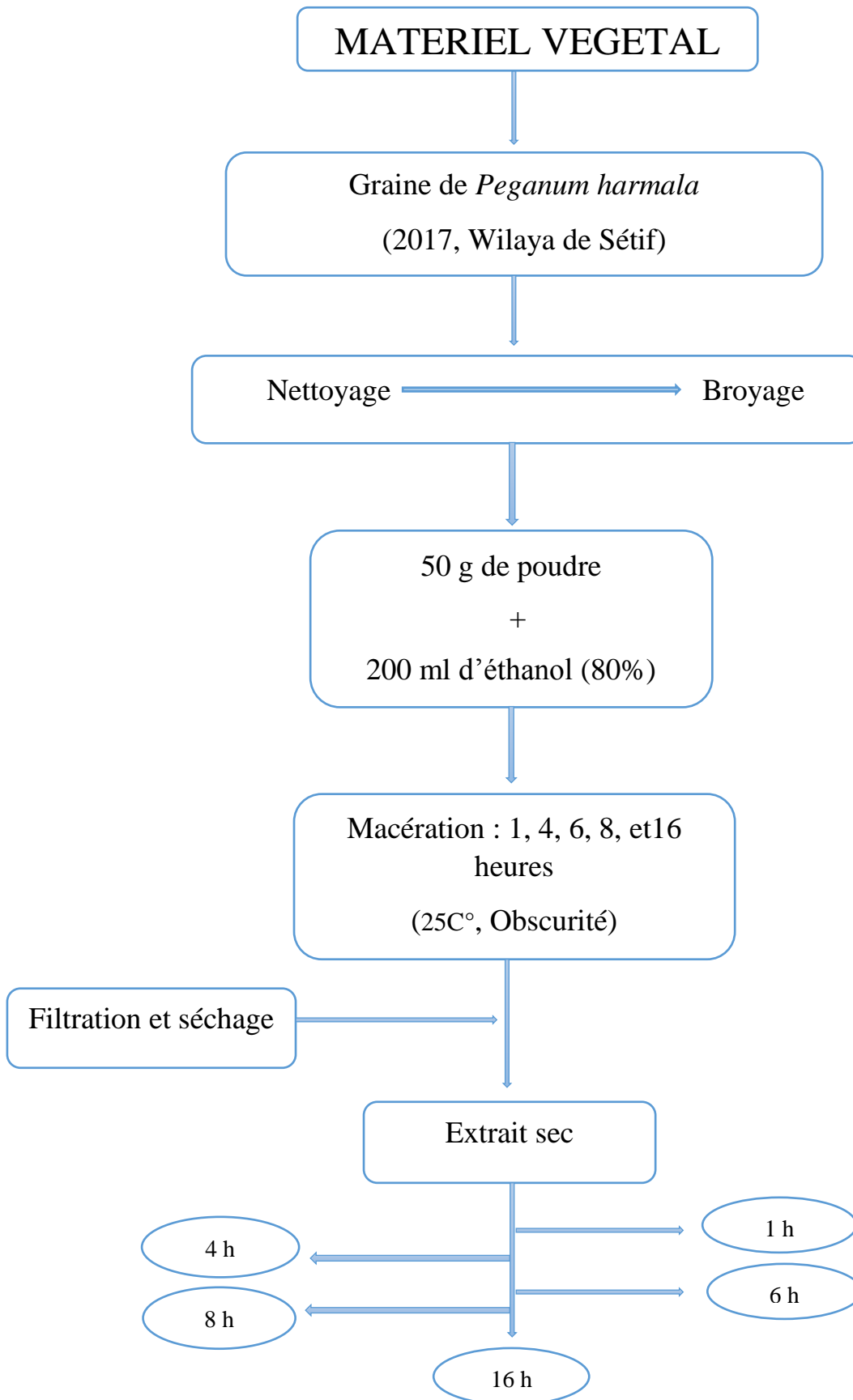


Figure 06 : Préparation des extraits bruts de *Peganum harmala*.

#### IV.2.2. Rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'huile ou de l'extrait obtenu après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la graine soumise à l'extraction.

Les rendements ont été calculés en utilisant la formule suivante :

**Rdt** : rendement en %.

**PF** : produit final.

**MS** : Matière sèche.

$$\text{Rdt \%} = \text{PF/MS} \times 100$$

#### IV.3. Dosage des polyphénols

##### Principe

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de notre plante a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique et phosphomolybdique de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

##### Mode opératoire

Brièvement, pour quantifier les polyphénols dans les différents extraits éthanolique et l'huile de la plante, 1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-160 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

#### IV.4. Dosage des flavonoïdes

##### Principe

La technique repose sur la formation d'une liaison covalente entre l'ALCl<sub>3</sub> et les groupements OH des flavonoïdes produisant un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm (Huang *et al.*, 2004).

### Mode opératoire

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits éthanolique et l'huile de la plante. 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2%) est ajoutée à 1 ml de la solution de l'échantillon ou standard contenant différentes concentrations.

Le mélange est laissé réagir pendant 10 min puis la lecture est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (5-40 µg/ml) et exprimée en (µg) d'équivalents de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

## IV.5. Activités biologiques de la plante

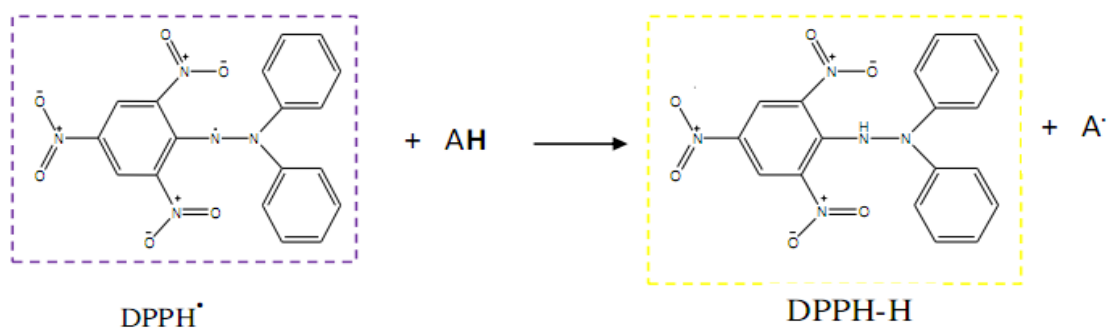
### IV.5.1. Activité anti oxydante

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif.

#### IV.5.1.1 Inhibition du radical DPPH

##### Principe

La méthode du DPPH introduite par Blois, (1958) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H (Figure 07).



**Figure 07** : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

La réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, initialement violet foncé sous sa forme libre, devient jaune pâle après transfert d'électron par des composés antioxydants.

Cette réduction qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH• en présence d'antioxydant est suivie par spectrophotométrie à 517 nm par rapport à un témoin d'antioxydant commercial.

### Mode opératoire

Dans des tubes secs, on introduit 1.5 ml de la solution de l'extrait à tester de chaque concentration déjà préparée, on ajoute 0.5ml de solution au DPPH. 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 qui est constitué de 1.5ml d'extrait et 0.5ml du méthanol. Parallèlement, le contrôle est préparé, il est composé de 1.5 ml de méthanol et 0.5ml de DPPH. Le test est réalisé en triplicata pour chaque concentration.

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

#### IV.5.1.2. Pouvoir réducteur (FRAP)

##### Principe

Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (Yildirim Mavi *et al.*, 2001).

##### Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu, (1986), 1.25ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1.25ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1.25ml d'une solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 1.25ml d'acide trichloracétique TCA à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (1.25ml) de surnageant est combinée avec 1.25ml d'eau distillée et 0.5ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; le Vit C, l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

#### IV.5.2. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

Pour évaluer l'effet anti œdémateux de l'extrait éthanolique des graines de *Peganum harmala*, l'œdème de l'oreille est induit par le xylène selon la méthode de Rotelli *et Ses collaborateurs*, (2003) avec quelque modification.

#### IV.5.2.1. Protocole expérimental

##### IV.5.2.1.1. Prétraitement par l'extrait

Une heure avant l'application topique de xylène, un effectif de 11 souris pesant 32 à 46 g est divisé en trois groupes, chaque groupe reçoit par voie orale des solutions (**Figure 08**).



**Figure 08** : Le gavage des solutions.

**-Groupe témoin** : 1 ml de l'eau physiologique.

**-Groupe de référence** : anti-inflammatoire de référence (Diclofenac) à une dose de 1.4 mg/Kg dissous dans l'eau physiologique.

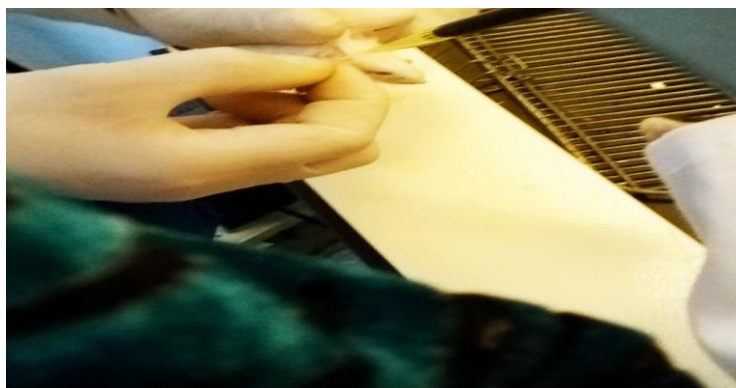
**-Groupe traité** : 1 ml de l'extrait éthanolique de *Peganum harmala* à une dose de 200 mg/Kg dissous dans l'eau physiologique.

##### IV.5.2.1.2. Induction de l'inflammation

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'une plante médicinale, un modèle expérimental de l'inflammation aigue de l'oreille de la souris induit par le xylène a été utilisé.

Des œdèmes au niveau des oreilles de souris sont induits après l'application topique de 30 ul de xylène au niveau des oreilles droite pour tous les groupes à l'aide d'une micropipette, une heure après l'administration de l'extrait et les solutions expérimentales par voie orale (**Figure 09**).





**Figure 09 :** L'application topique de xylène.

L'inflammation causée sera diminuée en présence de l'extrait ayant une activité anti-inflammatoire (Winter *et al.*, 1962).

#### **IV.5.2.1.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire**

Toute les souris a été sacrifiée après une heure de l'induction de l'œdème par le Chloroforme.

Des disques de 0.5 cm de diamètre des oreilles ont été prélevés et le poids de chaque disque est pesé après une heure d'induction de l'inflammation par une balance de précision.

La différence de poids entre l'oreille droite et gauche et leur moyenne après l'application du xylène est calculée pour chaque groupe.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est défini par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (n \text{ Témoin} - n \text{ traité} / n \text{ Témoin}) \times 100$$

n : poids d'œdème.

#### **IV.6. Analyses statistique**

Les résultats des tests effectués *in vitro* et *in vivo* sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. La différence entre le contrôle et les différents tests est déterminée par le test ANOVA univariée suivi du test de Tukey's pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ( $p < 0.05$ ). (Graph Pad. Prism. V 7.00).

Chapitre V

# Résultats et discussion

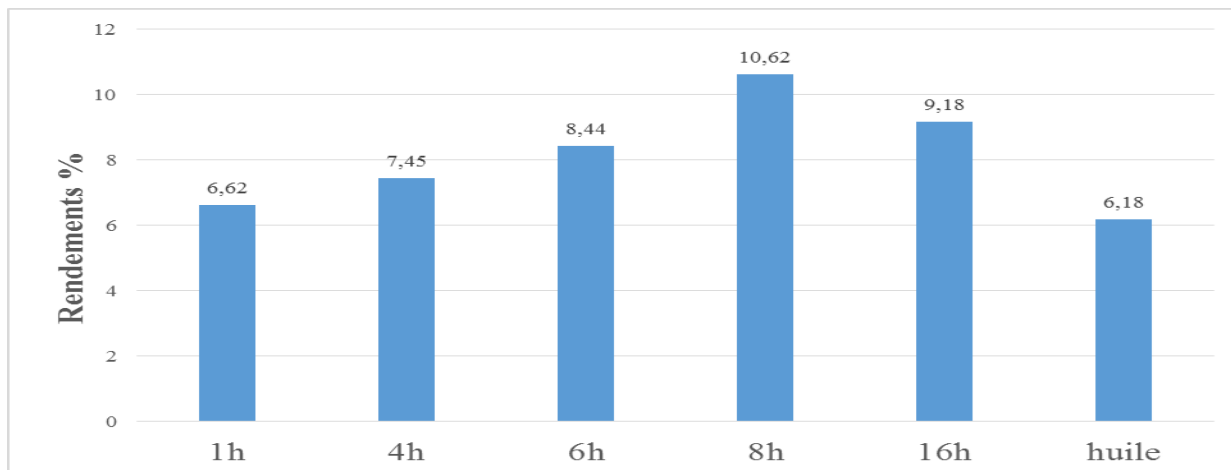
Partie expérimentale

## V. Résultats et discussion

### V.1. Résultats

#### V.1.1. Rendement d'extraction

Les rendements obtenus pour les différents extraits et l'huile sont représentés dans la **Figure 10**.

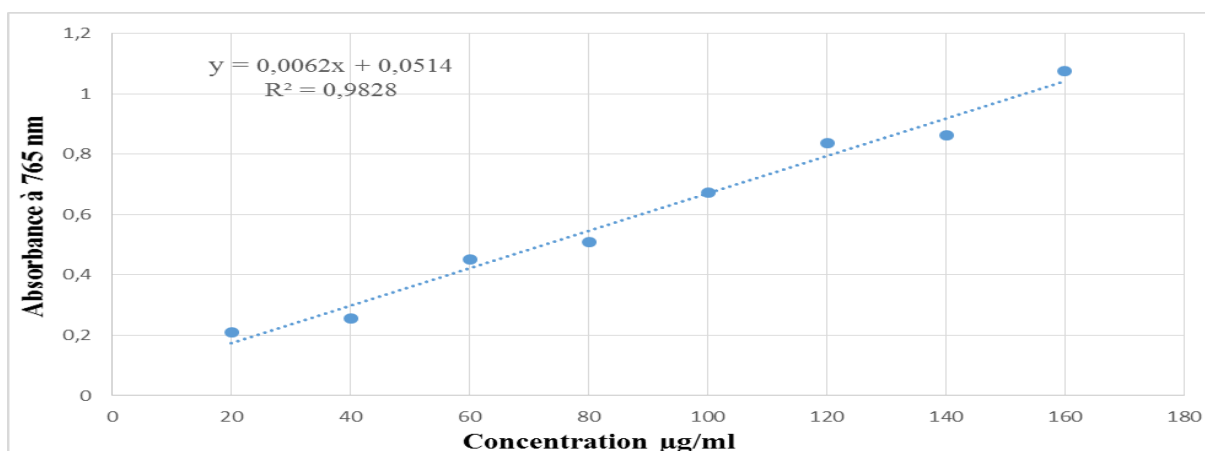


**Figure 10** : Rendement d'extraction des différents extraits de *Peganum harmala*.

#### V.1.2. Dosage des polyphénols totaux

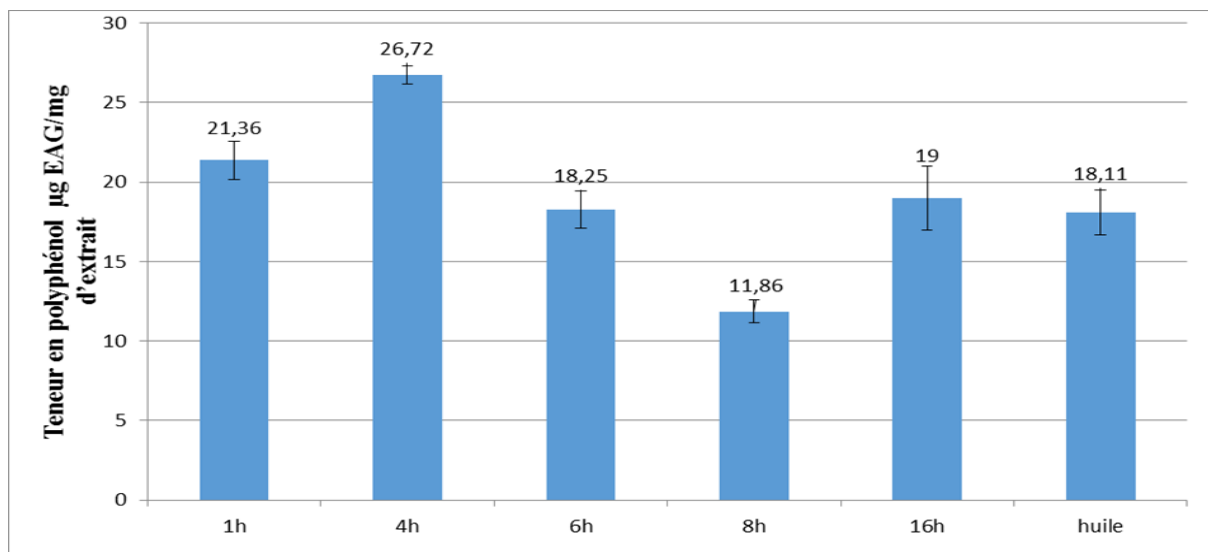
La concentration des polyphénols totaux est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure 11**), la quantité de polyphénols totaux a été exprimée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ( $\mu\text{g}$  EAG/mg 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 ayant l'équation :

$$y = 0,0062x + 0,0514 \quad R^2 = 0,9828$$



**Figure 11** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur en polyphénols de différents extraits et d'huile de *Peganum harmala* sont présentés dans la **Figure 12**.



**Figure 12** : Teneur en polyphénols totaux des extraits de *Peganum harmala*. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais  $\pm$  écarte type.

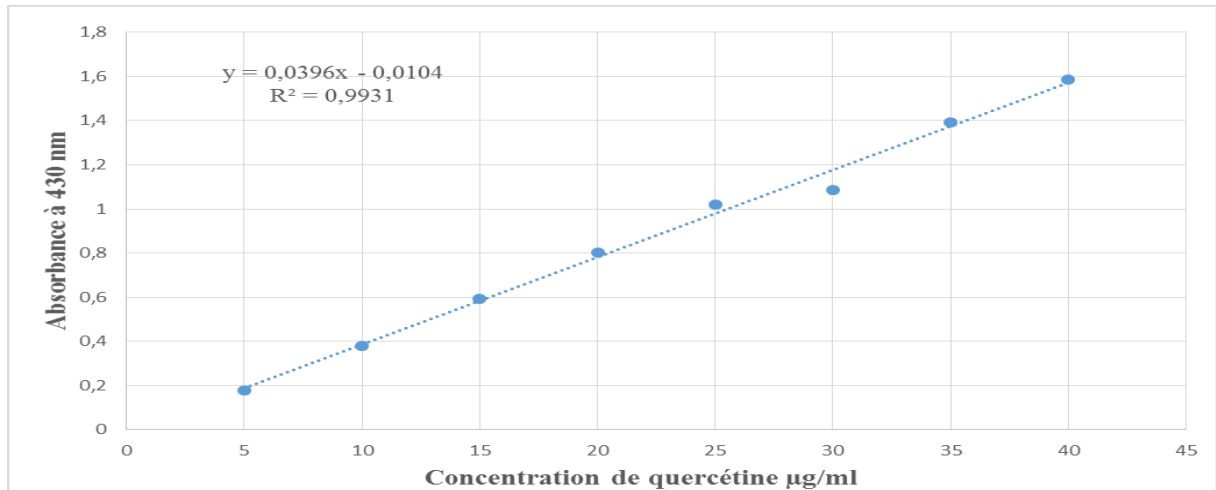
Le dosage des polyphénols a révélé que l'extrait de (4h) est le plus riche en polyphénols  $26,72 \pm 0,58 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait de (1h)  $21,36 \pm 1,17 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, l'extrait (16h) renferme  $19 \pm 2 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, l'extrait (6h) contient  $18,25 \pm 1,17 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, l'extrait huileux contient  $18,11 \pm 1,41 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, alors que l'extrait (8h) ne contient que  $11,86 \pm 0,70 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait.

### V.1.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), la quercétine a été utilisée comme étalon (**Figure 13**). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont extraites à partir d'une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

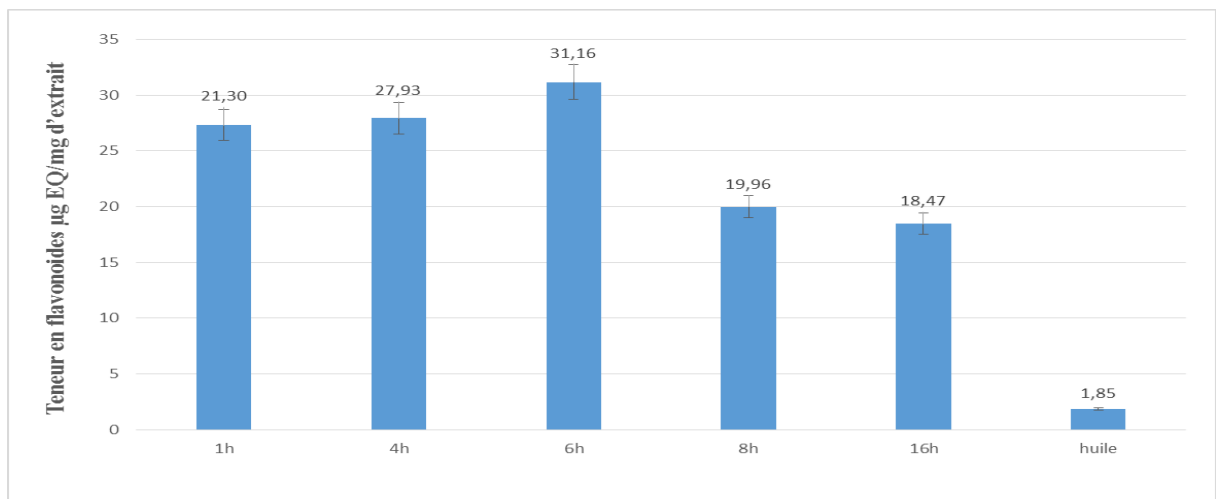
$$Y = 0,0396x - 0,0104 \quad R^2 = 0,9931$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait).



**Figure 13** : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur en flavonoïdes de différents extraits et d'huile de *Peganum harmala* sont présentés dans la **Figure 14**.



**Figure 14** : Teneur en flavonoïdes des extraits de *Peganum harmala*.

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais  $\pm$  écart type.

Le dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait de (6h) est le plus riche en flavonoïdes  $31,16 \pm 0,41 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ , suivi par l'extrait (4h)  $27,93 \pm 0,14 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ , l'extrait (1h) renferme  $21,30 \pm 0,035 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ , l'extrait (8h) contient  $19,96 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ , l'extrait (16h) contient  $18,47 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ . Alors que l'extrait huileux ne contient que  $1,85 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ .

#### V.1.4. Activités biologiques

##### V.1.4.1. Activité anti oxydante

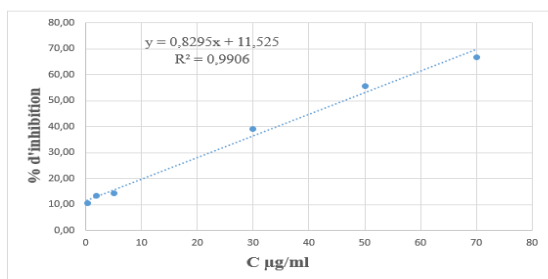
###### V.1.4.1.1. Inhibition du radical DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits et d'huile de *Peganum harmala* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical

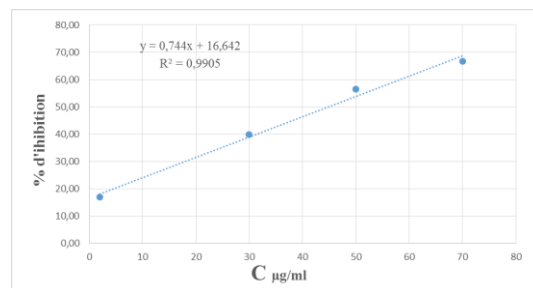
qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

L'activité antioxydante des différents extraits et d'huile, ainsi que la Vit C utilisée est exprimée en IC50 (Concentration inhibitrice 50). C'est la concentration qui neutralise (réduit) 50% du radical libre (DPPH), plus la IC50 est faible est plus l'antioxydant est puissant.

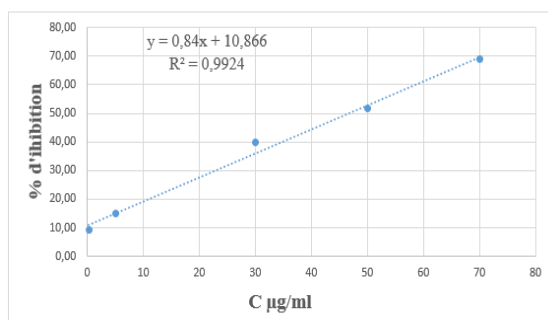
Les différentes IC50 Obtenues pour nos extraits, l'huile et le standard sont déduite de la droite d'étalonnage correspondante (Figure 15, 16).



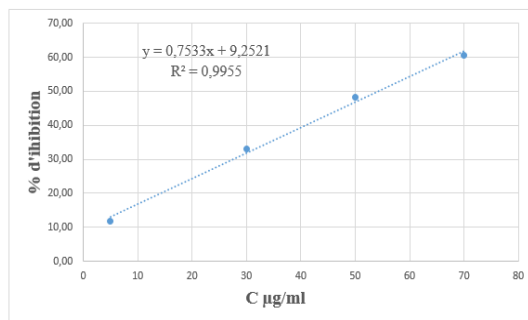
(1)



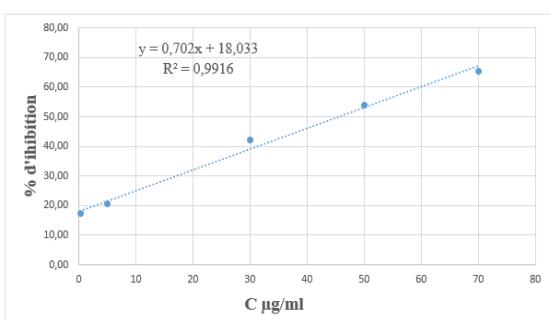
(2)



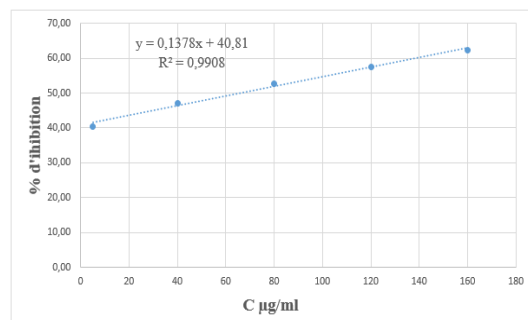
(3)



(4)



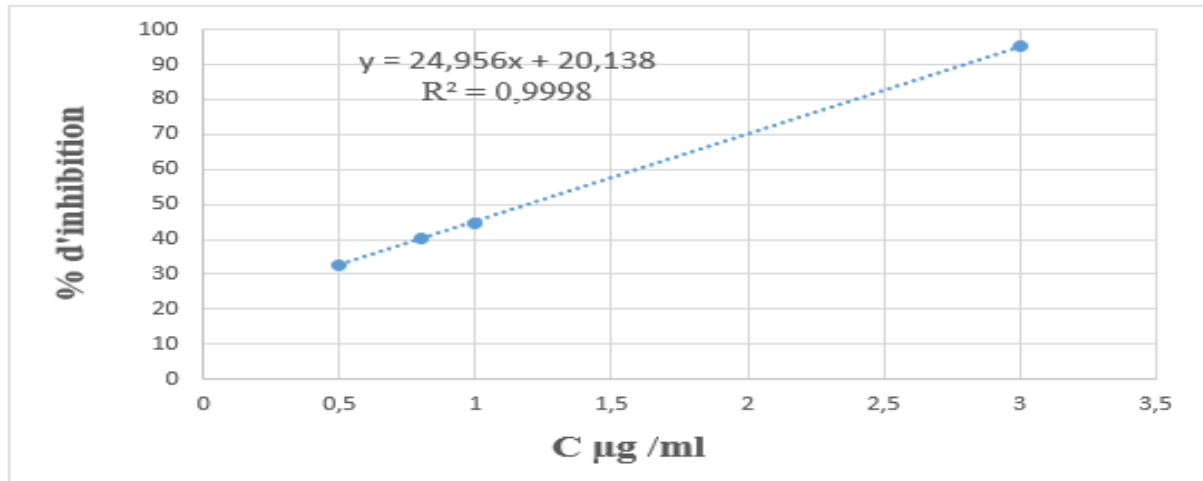
(5)



(6)

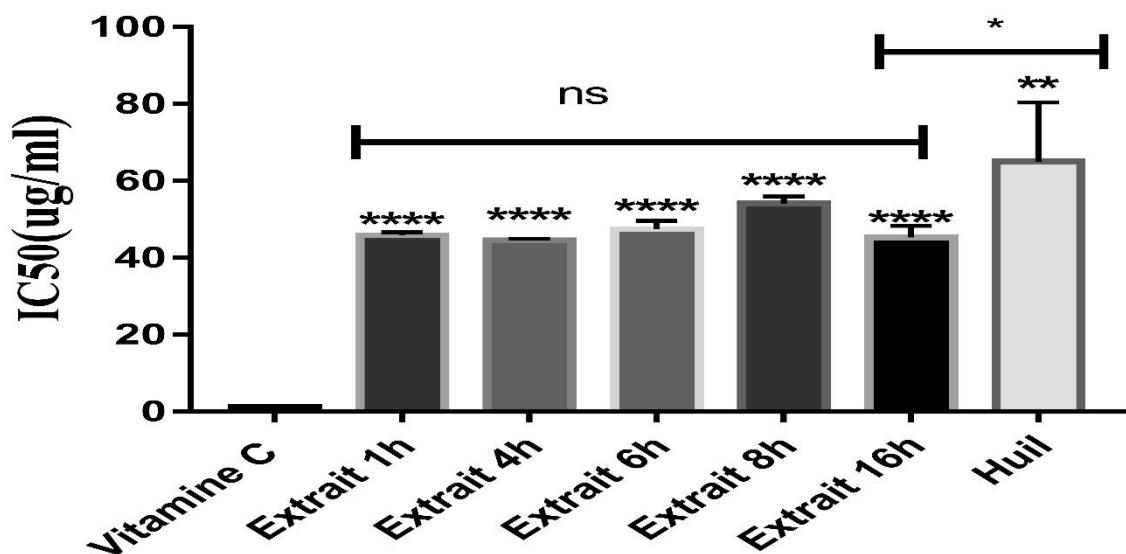
**Figure 15** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations des extraits de *Peganum harmala*.

(1) : l'extrait de 1h, (2) : l'extrait de 4h, (3) : l'extrait de 6h, (4) : l'extrait de 8h, (5) : l'extrait de 16h, (6) : l'extrait huileux.



**Figure 16** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de Vit C.

Les différentes IC50 Obtenues sont représentés dans la **Figure 17**.



**Figure 17** : IC50 des extraits et la Vit C. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais  $\pm$  écarte type. \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ , \*\* :  $p < 0.01$ .

Les résultats obtenus illustrent que les différents extraits et l'huile des graines de *Peganum harmala* piègent les radicaux DPPH. Les extraits 4h, 16h, 1h, 6h, et 8h, possède l'effet le plus puissant avec des valeurs IC 50 :  $44.83 \pm 0.243$ ,  $45.53 \pm 1.716$ ,  $46.38 \pm 0.412$ ,  $46.58 \pm 1.236$ ,  $54.09 \pm 1.065$  et  $\mu\text{g/ml}$  respectivement, par contre l'huile et le plus faible avec une IC 50 d'environ  $66.69 \pm 8.868 \mu\text{g/ml}$ . Une activité qui reste très inférieure à celle du standard : la Vit C ( $1.19 \pm 0.066 \mu\text{g/ml}$ ).

#### V.1.4.1. Pouvoir réducteur (FRAP)

C'est un test rapide, reproductible et facile à exécuter pour évaluer l'activité antioxydante. Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés.

Dans notre travail, nous avons opté pour tester les différents extraits et l'huile des graines de *Peganum harmala*. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait et l'huile avec le standard utilisé qui est la Vit C à des fins comparatives (Figure 18, 19).

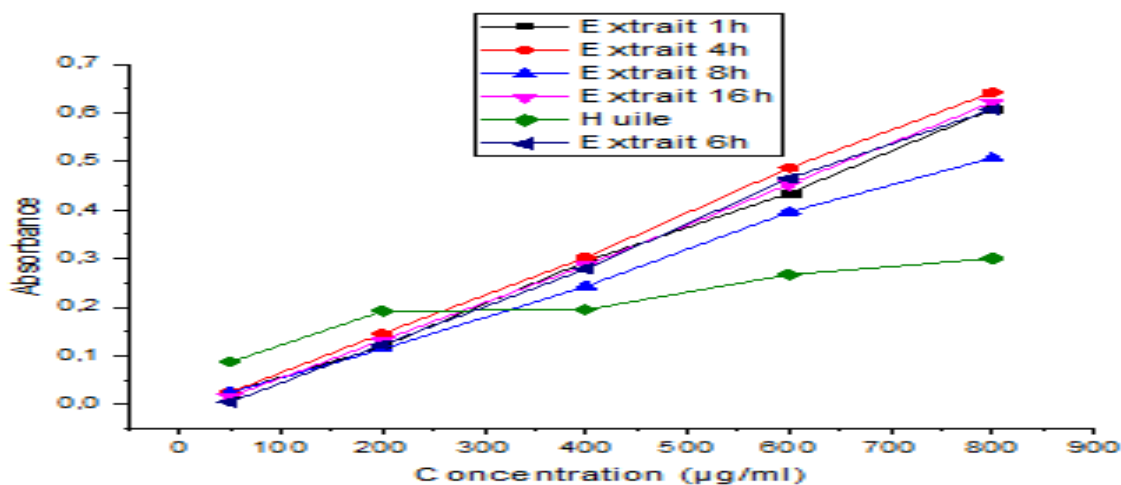


Figure 18 : Pouvoir réducteur des extraits de *Peganum harmala*.

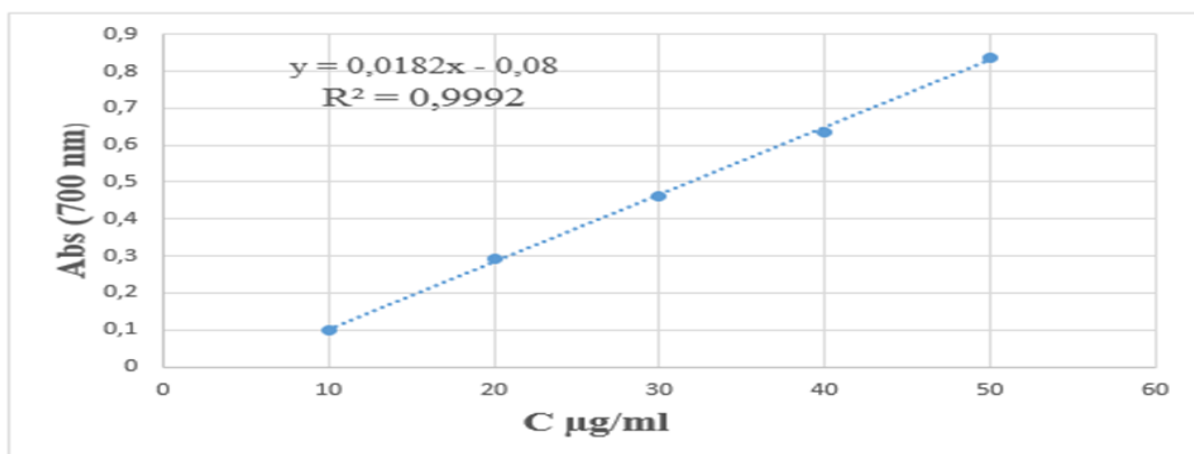


Figure 19 : Pouvoir réducteur de Vit C.

Les résultats représentés dans les figures suivantes nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons avec le standard utilisé (concentration dépendante).



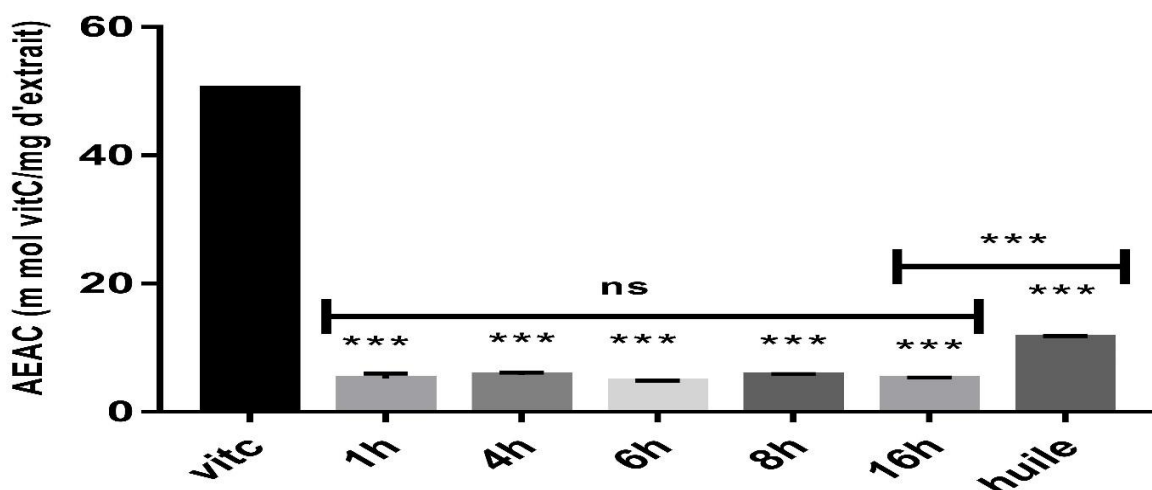
A la concentration de 50 µg/ml, l'huile donne la plus grande absorbance 0.087 suivi par l'extrait de 4h 0.025, puis les deux extraits 1h et 8h qui possède la même absorbance 0.024, l'extrait 6h possède une absorbance 0.0158, et en fin l'extrait de 16h ayant une absorbance de 0.0048.

La Vit C a été utilisé comme standard, il a donné une absorbance maximale de 0,837 à une concentration de 50 µg/ml.

La Vit C possède un pouvoir réducteur plus important que celui des extraits et d'huile de *Peganum harmala*.

Pour une meilleure comparaison entre les différents extraits et l'huile avec le standard utilisé qui est la Vit C on a exprimé le pouvoir réducteur en AEAC (Ascorbique acide Equivalent Antioxydant Capacité). La Vit C est utilisé comme référence et les résultats sont exprimés en équivalent de Vit C.

Les résultats de pouvoir réducteur obtenus sont résumés dans la **Figure 20**.



**Figure 20** : Le pouvoir réducteur des différents extraits de *Peganum harmala*. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± écart type. \*\*\*p<0.001 en comparant avec la Vit C.

D'après la figure, l'huile montre la plus grande AEAC parmi les différents extraits de *Peganum harmala* et qui est égale à  $9,17 \pm 0,23$ , suivi par les extraits 4h, 1h, 8h, 16h, et 6h qui représente des AEAC de  $5,76 \pm 0,03$ ;  $5,73 \pm 0,07$ ;  $5,73 \pm 0,11$ ;  $5,26 \pm 0,03$ ; et  $4,65 \pm 0,03$  (m mol vit c/mg d'extrait et l'huile) respectivement.

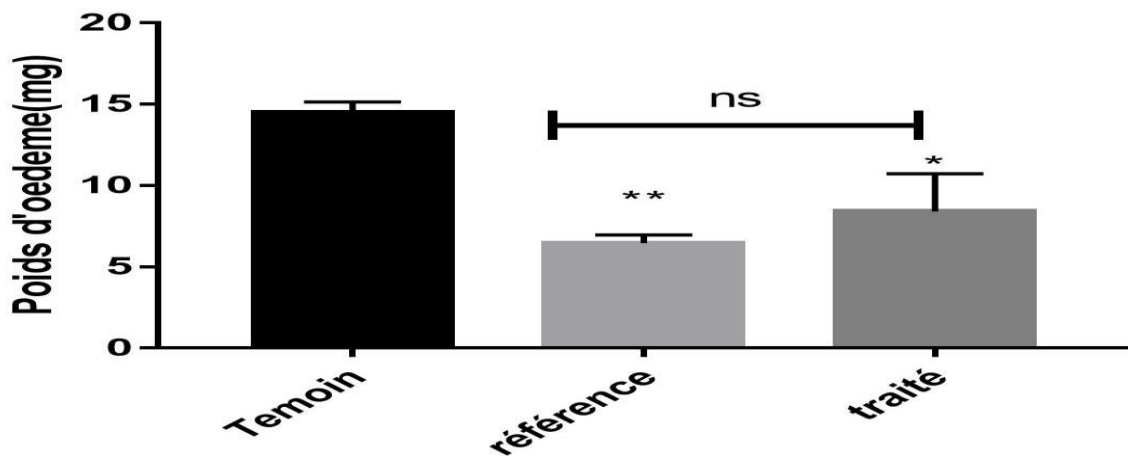
#### V.1.4.2 Activité anti-inflammatoire

L'effet anti œdémateux des extraits éthanolique a été investigué en utilisant le modèle de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. Les souris du Groupe témoin ayant reçu localement 30 µl de xylène sur la face externe de l'oreille droite ont développé au bout d'une

heure un œdème caractérisé par une augmentation de poids de l'oreille qui a un moyen de 14,5 mg.

L'administration de 50 mg/Kg de Diclofénac par voie orale une heure avant l'induction de l'œdème provoque une diminution hautement significative ( $p < 0.01$ ) de l'œdème de l'oreille comparé à celui des souris du groupe témoin. La moyenne de différence de poids d'oreille avant et une heure après l'induction de l'inflammation est de 6.65 mg, et leur pourcentage d'inhibition est 54.13%.

Le traitement par 200 mg/Kg d'extrait éthanolique de 8 heures des graines de *Peganum harmala* par voie orale induit une atténuation significative ( $p < 0.05$ ) de l'inflammation par rapport aux souris du groupe témoin. Une moyenne d'œdème de 8.4 mg est observée et leur pourcentage d'inhibition est 42.06%. Donc, l'effet d'extrait éthanolique par rapport au médicament de référence qui est la Diclofenac et non significative à la dose utilisé 200 mg/Kg ( $p < 0.05$ ) (Figure 21).



**Figure 21** : Différence du poids entre l'oreille droite et gauche une heure après l'induction de l'œdème. La Comparaison est faite par rapport au groupe témoin. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  écarte type. \*\* :  $p < 0.01$ , \* :  $p < 0.1$ , ns : non significatif. (ANOVA uni varié suivie du test de Tukey's).

## V.2. Discussion

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi en médecines classique qu'en phytothérapie ; elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (Iserin, 2001).

Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006).

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, certaines plantes présentent des propriétés antioxydantes (*Citrullus colocynthis*, *Limoniastrum feei*, et *Pistacia lentiscus*) (Atmani *et al.*, 2009 ; Ivanovska *et al.*, 1996), antidiabétiques, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (*Berberis vulgaris*) (Meliani *et al.*, 2011), antibactérien, antiviral, antispasmodique, carminatif, et insecticide (*Mentha spicata*) (Duke *et al.*, 2002).

*Peganum harmala L* est une plante qui présente un intérêt en médecine traditionnelle, elle est narcotique, antihelminthique, antispasmodique et utilisée dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (Siddiqui *et al.*, 1988 ; Bellakhdar, 1997). Elle est également employée comme antivirale (Rashan *et Adaay*, 1989), et abortive (Shapira *et al.*, 1989 ; Nath *et al.*, 1993 ; Adaay, 1994).

Dans le but d'évaluer les activités biologiques de cette plante, nous avons utilisé plusieurs tests *in-vitro* et *in vivo*.

Les composés phénoliques des graines de *Peganum harmala* se sont répartis entre deux solvants d'extraction selon la méthode d'extraction utilisée qui est la macération par l'éthanol en fonction de différentes durées d'extraction ; 1h, 4h, 6h, 8h, et 16h, et la méthode d'extraction des huiles fixes par Soxhlet.

En ce qui concerne la méthode d'extraction appliquée nous sommes les pionniers qui font l'extraction sur la variabilité de paramètre de temps sur la plante de *Peganum harmala*.

Le rendement d'extraction par macération est effectivement variable en fonction du temps. Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale a montré que le rendement des extraits 1h, 4h, 6h, et 8h est augmenté avec le temps, puis le rendement a diminué et diminuer pour l'extrait de 16h.

Dans un travail qui a été réalisé par Rhazi *et al.*, (2015) sur la plante *Acacia mollissima barks*, la macération pendant des durées différentes d'urée 2h, 6h, et 24h, ils ont trouvé que la progression de temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols. Ces résultats sont similaires et concordent ce que nous avons trouvé.

Le rendement d'extraction des huiles fixes par Soxhlet obtenue est 6.18 %. Ces résultats restent différents quantitativement de ceux trouvés par Idrissi Hassani *et El Hadek*, (1999) qu'ils ont trouvé 10 %. On peut dire que ces différences sont dues à la provenance géographique et les conditions d'extraction appliquées.

Afin d'analyser les extraits et l'huile préparés à partir des graines de *Peganum harmala*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le

choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés anti oxydantes des plantes leur sont attribués.

Les résultats obtenus après l'extraction des graines de *Peganum harmala* indiquent que cette plante contient une teneur remarquable de composés extractibles.

Dans notre étude nous avons trouvé que l'extrait de (4h) est le plus riche en polyphénol avec taux de l'ordre  $26,72 \pm 0,58 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait de (1h)  $21,36 \pm 1,17 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, l'extrait (16h) renferme  $19 \pm 2 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, l'extrait (6h) contient  $18,25 \pm 1,17 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, alors que l'extrait (8h) ne contient que  $11,86 \pm 0,70 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait représente la fraction qui contient la plus faible teneur en polyphénols. Ces résultats ont montre qu'il n'y a pas une corrélation entre l'augmentation de la teneur de polyphénol en fonction d'augmentation de la durée d'extraction.

Ces résultats sont en accord avec ce qui été réalisé par **Rhazi et al., (2015)** sur vieille écorce de dix ans d'âge de la plante de *Acacia mollissima barks*, ils ont effectués la macération pendant 2h, 6h, et 24h, ils trouvent que la teneur en polyphénol et  $353.6 \pm 0.50$ ,  $230.00 \pm 0.66$  et  $295.05 \pm 0.58 \text{ mg EAG/ g}$  d'écorce, respectivement. Les mêmes résultats sont trouvés par **Brigita et al., (2004)** sur la plante *Ribes rubum var Rondon*, ils ont effectués la macération pendant 1h, 12h, et 24h, ils trouvent que la plus grand concentration de polyphénols et observer dans l'extraction de 12h  $1166.4 \pm 8.6 \text{ mg/l}$ , suivi par l'extrait de 24h  $1151.9 \pm 8 \text{ mg/l}$  et puis l'extrait de 1h qui représente la valeur la plus faible  $884.1 \pm 5.2 \text{ mg/l}$ .

Les flavonoïdes pourraient être à l'origine des vertus préventifs et curatifs de plusieurs Plantes médicinales. Ils ont connus par leurs remarquables activités pharmaco-biologiques, (**Narayana et al., 2001 ; Seyoum et al., 2006**) et ont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (**Di Carlo et al., 1999**).

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait de (6h) est le plus riche en flavonoïdes  $31,16 \pm 0,41 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait (4h)  $27,93 \pm 0,14 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, l'extrait (1h) renferme  $21,30 \pm 0,035 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, l'extrait (8h) contient  $19,96 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, alors que l'extrait (16h) ne contient que  $18,47 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait. Ces résultats ont montré qu'il n'y a pas une corrélation entre l'augmentation de la teneur de flavonoïdes en fonction d'augmentation de la durée d'extraction.

Des études qui ont été réalisée pour confirme la variabilité de teneur de flavonoïdes en fonction de temps. **Yin Yin et al., (2009)** ils ont fait une série d'extraction de 20, 40, 60, 80, 100 et 120 min, sur la plante *Morinda citrifolia*, et ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes et

variable de 350 mg CE/100g DW jusqu'à 450 mg CE/100g DW dans cette intervalle de temps. Mokrani *et Khodir*, (2016) ont trouvé des teneurs en flavonoïdes variable de 20 QE /100g DW a 40 QE /100g DW dans de différente duré ; 30, 120, 180, 270, 360, et 450 min sur la plante *Prunus persica*.

En ce qui concerne notre extrait huileux, qui contient  $18.11 \pm 1.41$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait, selon Khadhr *et al.*, (2016) ils ont trouvé que la teneur de compose phénolique au niveau des huile des graines de *Peganum harmala* est de l'ordre  $0.38 \pm 0.01$ mg EAG /ml d'extrait, cette déférence est liée aux condition climatiques et édaphiques.

En effet, le contenu phénolique (y compris les flavonoïdes) d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique), extrinsèques (environnement et stockage) (Falleh *et al.*, 2008), la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Locatelli *et al.*, 2010), ainsi la progression de temps d'extraction qui peuvent également influencer sur l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (Rhazi *et al.*, 2015).

Plusieurs méthodes ont été utilisées, pour déterminer l'activité antioxydante des plantes (Krishnaiah *et al.*, 2010 ; Baghiani *et al.*, 2012). Dans notre présente étude, deux méthodes différentes ont été impliquées pour évaluer l'activité antioxydante des graines de *Peganum harmala*. Ces deux méthodes sont basées sur deux mécanismes antioxydants différents : l'effet piègeur des radicaux libres évalué par le test du DPPH, et le Pouvoir réducteur (FRAP).

L'évaluation de l'activité anti radicalaire des différents extraits et l'huile des graines de *Peganum harmala* indique que les différents extraits et l'huile piègent les radicaux DPPH.

Parmi les extraits des graines de *Peganum harmala* que nous avons étudié, les extraits 4h, 6h, et 8h possèdent l'effet le plus puissant avec des valeurs IC 50 de l'ordre de  $44.83 \pm 0.243$ ,  $46.58 \pm 1.236$ , et  $54.09 \pm 1.065$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivement. Ces résultats sont en concordance avec l'augmentation de la teneur en polyphénol des extraits 4h, 6h, et 16h.

Ces résultats sont similaire à ceux trouvé par Mokrani *et Khodir*, (2016) qu'ils ont fait une série d'extraction de 30, 120, 180, 270, 360, et 450 min sur la plante *Prunus persica* L, et qui ils ont trouvé que l'activité anti radicalaire est lie à l'augmentation ou la diminution de la teneur en polyphénol et flavonoïde dans cette intervalle de temps. D'autres études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod *et al.*, 2009 ; Locatelli *et al.*, 2010).

En ce qui concerne les extraits 1h et 16h, qu'ils possèdent des valeurs IC (50) :  $45.53 \pm 1.716$  et  $46.38 \pm 0.412$ , on trouve que l'activité anti radicalaire et la teneur en polyphénol et flavonoïde est indépendante. Cette résultat et celle confirme par Yin Yin *et al.*, (2009) qu'ils ont

fait une série d'extraction par durée ; 20, 40, 60, 80, 100, et 120 min sur la plante *Morinda citrifolia*.

Pour l'extrait huileux, leur IC 50 est d'environ  $66.69 \pm 8.868$   $\mu\text{g/ml}$  et leur activité anti radicalaire est plus élevé par rapport à la valeur d'IC (50) 4.9 mg/ml trouvé par **Khadhr et al., (2016)** à propos des graines de *Peganum harmala*. Cette déférence liée à la teneur de polyphénol et flavonoïde qui trouvé dans l'huile.

La capacité de l'extrait à donner un électron en convertissant le fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  en fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$ , est évalué par le pouvoir réducteur. Une absorbance élevée indique que l'extrait possède une grande capacité réductrice, cette capacité considère comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (**Tep et al., 2005**).

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que l'extrait huileux à un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique avec une absorbance de 0.087 à 50  $\mu\text{g/ml}$ , par contre l'acide ascorbique donne une absorbance de 0.837 à 50  $\mu\text{g/ml}$  ; pour l'extrait de 4h, son pouvoir réducteur arrive a 0.0250 à 50  $\mu\text{g/ml}$ , mais reste inférieur de celle du l'extrait huileux, le même résultat a été enregistrée pour l'extrait 1h, qui donne l'absorbance de 0.0243 à la même concentration. Cependant pour ces extraits, une corrélation a été mise en évidence entre le pouvoir réducteur de ces extraits des graines de *Peganum harmala* et leurs teneurs en composés phénoliques. Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres travaux récents, par exemple dans une étude menée par **Mokrani et Khodir, (2016)** dans une série d'extraction sur la plante *Prunus persica* L, ont mis en évidence l'existante d'une corrélation entre le pouvoir réducteur de ces extraits et leurs teneurs en composés phénoliques. Ces résultats pourraient indiquer que les composés phénoliques s'avèrent comme de bons chélateurs des ions métalliques (**Morris, 1995 ; Brown, 1998**).

Tandis que les autres extraits 8h et 16h, donnent des absorbances de 0.0243 et 0.0158 à la même concentration respectivement, alors que l'extrait 6h présente le pouvoir réducteur le plus faible avec une absorbance de 0.0048 toujours à la même concentration. Et pour ces extraits, il n'existe pas une corrélation entre le pouvoir réducteur et leur teneur en composés phénoliques. Ces résultats sont en concordance avec ce qui été trouvé par **Hip Seng et al., (2013)** sur la plante *Schizophyllum commune* dans une série d'extraction, ils prouvent qu'il existe une corrélation faible entre le pouvoir chélateur des extraits et leurs teneurs en composés phénoliques. Ces résultats pourraient indiquer que les composés phénoliques ne sont pas les principaux chélateurs présents dans les extraits qui sont en fait un mélange complexe d'acides organiques (acides citrique, malique, tartrique, oxalique, lipoïque et phytique..etc.), d'acides aminés et de sucres qui peuvent contribuer également à la séquestration des métaux de transition

(Wong *et al.*, 2006). Les composés contenant le nitrogène sont généralement des chélateurs plus puissants que les composés phénoliques (Chan *et al.*, 2007). De plus, la capacité chélatrice d'un composé phénolique dépend de la disponibilité d'un certain nombre de groupements fonctionnels convenablement orientés (Van Acker *et al.*, 1996). Donc un échantillon riche en composés phénoliques ne pourrait pas chélater les métaux de transition si ses polyphénols ne disposent pas des groupements fonctionnels nécessaires pour l'activité chélatrice, de même la conjugaison d'un composé phénolique avec une partie glucidique entraîne la perte de l'activité chélatrice (Wong *et al.*, 2006).

L'inflammation est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire. La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus.

L'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris qui est un modèle de l'inflammation aiguë, a été utilisé pour évaluer l'effet anti œdémateux de l'extrait éthanolique des graines de *Peganum harmala*. L'œdème de l'oreille induit par le xylène est un modèle expérimental reproductible et concède une bonne valeur prédictive pour le criblage des agents anti-inflammatoires (Lu *et al.*, 2005).

L'application du xylène sur l'oreille induit une accumulation de liquide conduisant à la formation d'un œdème qui est caractéristique de l'inflammation aiguë (Okoli *et al.*, 2007).

L'épaisseur de l'œdème atteint son maximum 30 minutes après l'application du xylène (Lu *et al.*, 2006).

La différence du poids des oreilles gauche et droite des souris après l'application topique du xylène a été exploitée dans la présente étude pour évaluer l'effet anti œdémateux de l'extrait éthanolique des graines de *Peganum harmala*.

Le mécanisme moléculaire et cellulaire par lequel le xylène induit l'inflammation met en jeu les neurones sensoriels sensibles à la capsaïcine qui suite à une stimulation, libèrent un nombre de médiateurs qui peuvent initier la réaction inflammatoire (Rotelli *et al.*, 2003). Ce phénomène est connu sous le nom de l'inflammation neurogénique. La substance P et le peptide lié au gène de la calcitonine sont les principaux initiateurs de l'inflammation neurogénique. Ils induisent une vasodilatation et une exsudation plasmatique en agissant sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins et les cellules endothéliales (Rotelli *et al.*, 2003), comme ils peuvent activer directement les mastocytes et les autres cellules immunitaires.

Il est également admis que les neurones sensoriels contiennent des cyclooxygénase capables de synthétiser les prostaglandines pro inflammatoires (Richardson *et Vasko*, 2003).

Le traitement des souris par Diclofenac par voie orale provoque une diminution hautement significative de développement de l'œdème avec une inhibition de 54.13%. **Pradeep Kumar et al., (2015)** ont rapporté un effet presque similaire de 42% par rapport que nous avons trouvé 54.13%. Le mécanisme d'action de Diclofenac sur l'inflammation est basé sur l'inhibition de la synthèse de prostaglandines pro inflammatoires par les enzymes (COX1 et 2).

Le traitement des souris par l'extrait éthanolique par rapport au médicament de référence qui est le Diclofenac ne représente aucune différence, ces résultats confirmés les études précédentes menées par **Pradeep Kumar et al., (2015)** qui ont effectué l'évaluation de l'activité anti inflammatoire des graines de *Peganum harmala*, et ils ont trouvé que l'effet des extraits des graines de *Peganum harmala* est non significative à la même dose que on a utilisé 200 mg/Kg.



# Conclusion

### Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, notre intérêt s'est porté sur la plante *Peganum harmala* L, espèce végétale utilisée en phytothérapie pour traite plusieurs maladie tel que : l'hypertension artérielle, les douleurs, les hémorroïdes et les troubles digestifs. Afin de vérifier l'efficacité de cette plante sur les activités antioxydante, et anti-inflammatoire.

L'extraction des graines de la plante a permis d'obtenir des rendements qui augmente puis incliner a certain temps, alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes était conséquente.

L'activité antioxydante des différents extraits et d'huile de *Peganum harmala* L, a été évaluée par deux méthodes : la méthode de réduction de radical libre DPPH et le test de pouvoir réducteur. L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé que les différents extraits et l'huile ont montré une forte activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH, et un pouvoir réducteur important.

A travers l'étude de l'activité anti-inflammatoire, l'inhibition du développement de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la Souris permet de conclure que l'extrait éthanolique possède une activité anti-inflammatoire à une dose de 200 mg/kg lorsqu'ils sont administrés par voie orale. Cette activité est comparable à celle de Diclofenac qui est un anti inflammatoire de référence.

En perspective, les résultats obtenus dans cette étude sur les effets anti inflammatoires et antioxydants des extraits et d'huile des graines de *Peganum harmala* sont intéressant, mais des études complémentaires approfondies sont nécessaires pour comprendre leurs mécanismes moléculaires et cellulaires. Ces études doivent être focalisées sur la recherche des composés bioactifs dans ces extraits de *Peganum harmala* et l'évaluation de l'effet de ces composés sur les cellules inflammatoires et leurs voies de signalisations, les enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives et sur les systèmes antioxydants.

# Références bibliographique

## Références bibliographiques

- Adaay M. H., 1994** : Some observations on the reproduction toxicity of the aqueous extract of *Peganum harmala* seeds. *Fitoterapia* **LXV** (3), 214-218.
- Asmus K. D., Bonifacic M., 2000** : Handbook of Free radical chemistry Oxidants and Antioxidants in Exercise. Amsterdam : Elsevier ; 2000. p. 3–53.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., 2009** : Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* **112**, 303–9.
- 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.
- Barnes P. J., 1998** : Anti-inflammatory actions of glucocorticoids molecular mechanisms. *Clin Sci (Colch.)* **49**,557–572.
- Behidj-benyounes N., Thoraya D., Fadhila A., Kamilia D., 2015** : screening phytochimique et evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala*L. Sciences & Technologie C – N°42 Décembre 2.
- Bellakhdar J., 1997** : La pharmacopee marocaine (Medecine arabe et ancienne et savoirs populaires). Ibis Press, Saint Etienne, 746.
- Ben Salah N., Amamou N. M., Jerbi Z., Yacoub M., 1986** : Aspects cliniques, pharmacologiques et toxicologiques du surdosage par une plante médicinale : le Harmel. Essaydali scientifique, 13-18.
- Bendich A., 1991** : Exercise and free radicals : effects of antioxidants vitamins. *Med Sport Sci* **32**, 59-78.
- Benzie F. F. et Strain J. J., 2005** : Antioxidants Diet and Antioxidant Defense Encyclopedia of Human Nutrition (Second Edition). Pages 117-131.
- Bezanger-B., M. Pinkas., M. Trotin., 1980** : plante medcinals des regiois tomprées, Ed. Maloine SA-Paris.
- Blois M. S., 1958** : Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958. 1199–1200.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J., Durand G., Jardillier J. C., 2003** : Radicaux libres et antioxydants. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires : Médecine-sciences Flammarion Paris 9-81.
- Botting R. M., Botting J. H., 2000** : Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain : An over view. *Clinical Drug Investigation* **19**, 1-7.
- Bourzeikx M., 1976** : les composés phénoliques des Raisins et du Vin, leur effet sur la qualité. *Rev. France .Oneal* **63**, 53 -69.
- Brigita L., Mirko P., Alenka Golc W., 2005** : Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* **71**, 214–222.
- Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C., 1998** : Structural dependence of flavonoïdes interactions with Cu<sup>2+</sup>-ions : implication for their antioxidant properties. *The Biochemical journal* **330**, 1173-1178.
- Cadenas E et Sies H., 1998** : The lag phase, *Free. Radie. Res* **28**,601-609.
- Céline M et Johan W., 2015** : Les dérivés de l'harmine, nouvelles molécules aux propriétés anticancéreuses : de la conception aux études in vivo, *chimie nouvelle* **120**, 26-30.

- Chan E. W. C., Lim Y. Y., Mohammed O., 2007** : Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *etlingeraspecies* (Zingiberaceae) in peninsular Malaysia. *Food Chemistry* **104**, 1586-1593.
- Charles N. S., Peter A. W., Derek W. G., 2010** : Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology* **33**, 2-16.
- Cohen Y., Jacquot C., 2001** : abrégés pharmacologie ; 5eme édition 326-327.
- Cragg G. M, Newman D. J., Snader K. M., 1997** : Natural products in drugs discovery and development. *J. Nat. Prod***60**, 52-60.
- Curtin J. F., Donovan M., Cotter T. G., 2002** : Régulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods* **265(1-2)**, 49-72.
- De Grey A., 2002** : The forgotten radical, *DNA Cell Biol* **21**, 251-257.
- Di Carlo G., MascoJo N., Izzo A. A., Capasso F., 1999** : Flavonoids : olei and new aspects of a class of natura *J therapelltic drugs. Life Sci***65**, 337-353.
- Duke J. A., Bogenschultz-Godwin M. J., du Cellier J., Duke P. A. K., 2002** : Handbook of medicinal herbs, 2nd ed. CRC Press, New york.
- Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attonlou V., Avimadj M., 2008** : Oxidants, Antioxidants and oxidatives stress. *Mitochondrie medicine. Gvozdjakova* : 19-43.
- El-Haci I. A., Atik-Bekkara F., Didi A., 2012** : Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie* **10**, 280-5.
- Elqaj M., Ahami A., Belghyti D., 2007** : La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., 2008** : Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs and their biological activities *C. R.- Biologies* **331**, 372-379.
- Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D., Guo Z., 1986** : Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé* **64 (2)**, 159-164.
- Favier A., 2003** : Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* **21**:108-15.
- Gobec S., Brozica P., Riznerb T., 2005** : Nonsteroidal anti- inflammatory drugs and their analoguesas inhibitors of aldo-keto reductase AKR1C3 : New lead compounds for the development of anticancer agents ; *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* **15**, 5170- 5175.
- Grunfeld J. P., 2002** : Dictionnaire médecine Flammarion ; 7eme édition 66.
- Guingard., 1996** : Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p175-192.UE PHR.
- Gutteridge J. M. C., 1991** : Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* **41**, 19-28.
- Gutteridge J. M. C., 1992** : Ageing and free radicals. *Médical Laboratory Sciences* **49**, 313-318.
- Gutteridge J. M. C., 1995** : Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* **41**, 1919-28.
- Haliwell B., Gutteridge J. M. C., In Haliwell B., 1989** : eds. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford, 543.

- Halliwell B., 2006** : phagocyte-derived relative specie : salvation or suicide .T pends in biochemical sciences **3**, 509-15.
- Halliwell B., 1994** : Free radicals and antioxidants : à personal view. *Nutr Rev* **52**, 253-265.
- Halliwell B., 1996** : Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie* 1996 ; **44**, 6-13.
- Halliwell B., Gutteridge J. M. C., 2007** : Free Radicals in Biology and Medicine, (3rd éd., pp. 31-98). Oxford : Oxford University Press.
- Hip Seng Y., Fook Yee C., Vigneswara R., Jia Yin L., Patricia M., Siew Eng H., Chun Wai Ho., 2013** : *J Food Sci Technol* **50(2)**, 275–283.
- Hmamouchi I., Rachidi M., Abourazzak F. E., Khazzani H., Bennani L., Bzami F., El Mansouri L., Tahiri L., Harzy T., Abouqal R., Allali F., Hajjaj-Hassouni N., 2012** : Article originale : pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales en rhumatologie. *Revue Marocaine de Rhumatologie Rabat –Maroc* **22**, 52-6.
- <http://faculty.ksu.edu.sa/AIRowaily/Pictures%20Library/Rangeland%20Flora%20%20d9%867%d8%b9%d9%8a/Peganum%20harmala.bmp>
- [http://healthyhomegardening.com/images/gardengeek/syrian\\_rue.jpg](http://healthyhomegardening.com/images/gardengeek/syrian_rue.jpg)
- Huang D. J., Lin C. D., Chen H. J., Lin Y. H., 2004** : Antioxidant and anti proliferative activities of sweet potato (*Ipomoeabatatas*L. Lam 'Tainong 57') constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin* **45**, 179–186.
- Hubert A. J., 2006** : caractérisation biochimique et propriété biologique des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat Toulouse. INPT.
- Hyun Pyo K., Kun Ho S., Hyeun Wook C., Sam Sik K., 2004** : Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *J Pharmacol Sci* **96**, 229–245.
- Idrissi Hassani L. M., El Hadek M., 1999** : Analyse de la composition de l'huile de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae), *Acta Botanica Gallica* **4**, 353-359.
- Iserin P., 2001** : Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse-Bordas Paris, 14.
- Ivanovska N., Philipov S., 1996** : Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris*.
- Jovanovic S. V., Steenken S., Simic M. G., et Hara Y., 1997** : Antioxidant properties of flavonoids reduction potentials and election transfer reactions of flavonoids radicals. In Rice-Evans, C.A. & Packer, L. (Eds.) *Flavonoids in health and disease*, Marcel Dekker, Inc., New York, pages, 137-145.
- Khadhr M., Dalila B., El Hajaji H., El Mansouri L., Smahane B., Lachkar M., Jamoussi B., Sadok Boukhchina., 2016** : *American Journal of Therapeutics* **0**, 1–7.
- Kholkhal F., lazouni H. A., Bendahou M., Boublenza I., Chabane S. D., Chaouch T., 2013** : Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatuss* sp. Coloratus. *Afrique science* **9(1)**, 151 – 158.
- Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R., 2010** : A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing (In press)*.
- 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.

- Lu H. M., Liang Y. Z., YiL Z., Wu X. J., 2005** : Anti inflammatory effect of Houttuynia cordata injection. *Journal of Ethnopharmacology* **104**, 245–249.
- Lu H. M., Liang Y. Z., YiL Z., Wu X. J., 2006** : Anti inflammatory effect of Houttuynia cordata injection. *Journal of Ethnopharmacology* **104**, 245–249.
- Mansour S., 2015** : Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L. Artemisia herba alba Asso et Hypericum scaberrimum Boiss-Etude in vivo. Thèse de doctorat : Biologie. Oran : Université des sciences et de la technologie Med Boudiaf.
- Mariod A. A., Ibrahim R. M., Ismail M., Ismail N., 2009** : Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry* **116**, 306-312.
- Maurice Nicole., 1997** : De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle, Ed : Lavoisier, Paris, 12-14.
- Medzhitov R., 2008** : Origin and physiological roles of inflammation Nature **Vol. 454 7203**, 428-435.
- Meliani N., Dib M. E. A., Allali H., Tabti B., 2011** : Hypoglycaemic effect of *Berberis vulgaris* L. In normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *AsiPac J Trop Biomed* **1**, 468–71.
- Mokrani A., Khodir M., 2016** : Effect of solvent time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit Separation and Purification *Technology* **162**, 68–76.
- Montagnier L., Olivier R., Pasquier C., 1998** : Oxidative stress in cancer, AIDS and neuro degenerative diseases. Marcel Dekker, New York.
- Morena M., Martin-Mateo M., Cristol J. Canaud B., 2002** : Stress oxydant, hémocompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie* **5**, 201-208.
- Morris C. J., Earl J. R., Trenam C. W., Blake D. R., 1995** : Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. *The international journal of biochemistry & cell biology* **27**, 109-122.
- Narayana K. R., Reddy M. R., Chaluvadi M. R., et Krishna D. R., 2001** : Bioflavonoids Classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology* **33**: 2-16.
- Nath D., Sethi N., Srivastava R., Jain A. K., Singh R. K., 1993** : Study on the teratogenic and anti fertility activity of *Peganum harmala*. *Fitoterapia* **V (4)**, 321- 324.
- Neal M., 1999** : pharmacologie médicale ; 2eme édition française 70-71.
- Okoli C. O., Akah P. A., Nwafor S. V., Anisiobi A. I., Ibegbunam I. N., Erojikwe O., 2007** : Anti Inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C. D. Adams. *Journal of Ethnopharmacology* **109**, 219–225.
- Oyaizu M., 1986** : Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nutr* **44**, 307–315.
- Ozenda P., 1991** : Flore et végétation du Sahara. Paris, CNRS Editions, 660 p.
- Paris M et Hurbielle., 1981** : Abrégé de matière médicale-pharmacognosie. Tome1. Ed Masson –Paris, 2566.
- Paris M et Hurbielle., 1986** : Abrégé de matière médicale. Tome1. Ed Masson –Paris, 256-266.
- Payne D. N. R., Adcock I. M., 2001** : Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Pediatric Respiratory Reviews* **2**, 145–150.

- Pellegrini A., Proteggente A., Pannala M., Yang C., 1999** : Rice-Evans, Free Radic. Biol. Med **26**, 1231-1237. Inthèse de doctorat l'université Toulouse III- paul Sabatier.
- Pradeep Kumar M. R., Shrinivas D., Joshi V. H., Kulkarn., 2015** : Chetan Savant Phytochemical screening and evaluation of analgesic, anti-inflammatory activities of *Peganum harmala* L. seeds in rodents, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **05**, 52-55.
- Rashan I. J., Adaay M. H., 1989** : In vitro antiviral activity of the aqueous extract from the seeds of *Peganum harmala* L. *Fitoterapia* **4**, 365-367.
- Rayman M. P., 2000** : The importance of sélénium to human Health. *Lancet* **356**, 233-241.
- Rhazi N., Oumama M., Hannache H., Sesboue A., Charrier B., Pizzi A., Charrier-El Bouhtoury F., 2015** : Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan Acacia mollissimabark. *Industrial Crops and Products* **70**, 245–252.
- Richardson J. D., Vasko M. R., 2003** : Cellular Mechanisms of Neurogenic Inflammation. *Perspectives in Pharmacology* **302**, 839–845.
- Rotelli A. E., Guardia T., Juárez A. O., Rocha N. E., Pelzer L. E., 2003** : Comparative study Of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research* **48**, 601 606.
- Rousselet M. C., Vignaud J. M., Hofman P., Chatelet F. P., 2005** : Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP, 1-57.
- Sanago R., 2006** : Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali) 53.
- Setty A. R., Sigal L. H., 2005** : Herbal Medications Commonly Used in the Practice of Rheumatology Mechanisms of Action, Efficacy, and Side Effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* **34**, 773-784.
- Seyoum A., Asres K., El-Fiky F. K., 2006** : Structure-radical scavenging activity relation ships of flavonoids. *Journal of phytochemistr* **67**, 2058-2070.
- Shahinaz M., Mohammad A., Hilal Z., Basheer A. F., Feras A. B., Shiri Mashner et Bashar Saad., 2015** : *European Journal of Medicinal Plants* **5(2)**, 165-175.
- Shapira Z., Terkel J., Egozi Y., Nyska A., Friedman J., 1989** : Abortifacient potential for the epigeal parts of *Peganum harmala*. *J. of Ethnopharmacology* **27**, 319-325.
- Shu Y. Z., 1998** : Recent natural products based drugs development : apharmaceutical industry perspective. *J. Nat. prod* **61**, 1053-1071.
- Siddiqui S., Khan O. Y., Faizi S et Siddiqui B. S., 1988** : Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*. *Heterocycle* **27 (6)**, 1401-1410.
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M., 1999** : Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteure agent. *Methods Enzymol* **299**, 152-178.
- Sjodin B., Westing Y. H., 1990** : Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med* **10**, 236-54.
- Stevens A., Lowe J., Barbara Y., 2002** : Anatomie pathologique. Édition De Boeck. 4e Édition, P 10.
- Tang S. Y., Halliwell B., 2010** : Medicinal plants and antioxydants : What do welearn from cell. Culture and Caenorhabditis elegans studies ? *Biochemical and Biophysical Research Communications* **394**, 1-5.
- Tep B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M., 2005** : Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* **90**, 333-340.



- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T. D., Mazur M., Telser J., 2007** : Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* **3**, 44-84.
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006** : Free radicals metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* **16** ,1-40.
- Van Acker S. A. B. E., Van Den Berg D. J., Tromp M. N. L., Griffioen D. H., Bennis W. P. V., Van Der Vijgh W. J. F., Bast A., 1996** : Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free radical biology & medicine* **20**, 331-342.
- Walker J. E. M., Saraste M. J., Gay N. J., Embo J., 1982** : in thèse de doctorat Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
- Wiert C., 2006** : Ethnopharmacology of Medicinal Plants : Asia and the Pacific. Eds, Humana Press (Totowa), 1-20.
- Winter C. A., Risley E. A., Nuss G. W., 1962** : Carrageenan-induced oedema in the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity. *Proc Soc. Exp. Biol. Ther* **111**, 544-547.
- Wong S. P., Leong L. P., William Koh J. H., 2006** : Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry* **99**, 775-783.
- Yildirim Mavi A., Kara A., 2001** : Determination of Antioxidante and antimicrobiale activities of *remex crispus L.* Extracts. *Journal of Agriculture and fod chemistry* **49**, 4083-4089.
- Yin Yin T., Swee Kheng H., Jia Yun L., Chun W., Chin Ping T., 2009** : Effects of binary solvent extraction system extraction time and extraction Temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from Mengkudu (*Morindacitrifolia*), *Food Chemistry* **120**, 290–295.
- Yousefi R., Ghaffarifar F., Dalimi A. A., 2009** : The Effect of *Alkannatin cturia* and *Peganum harmala* Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) in vitro. *Iranian Journal of Parasitology* **4**, 40-47.