



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence /

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
ATALLAH Souhila

Le: mercredi 27 juin 2018

Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Peganum harmala L.*

Jury :

Mme. DENDOUGA Wassila	MCB	Université de biskra	Président
M. DERRADJI Yacine	MAA	Université de biskra	Rapporteur
Mlle. GUEROUI Mouna	MAB	Université de biskra	Examineur

Année universitaire : 2017 - 2018

Remerciement

Au premier lieu, je tiens à remercier Dieu qui m'a donnée le courage, la patience et la volonté pour terminer ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Mr DERRADJI Yacine pour avoir acceptée d'encadrer mon travail, pour ses conseils scientifiques et pour son aide.

Je tiens également à remercier les membres du jury MME DENDOUGA ET MLLLE GUEROUI pour l'honneur qu'ils m'ont accordé en acceptant de jurer mon travail.

Je veux remercier tous mes profs de primaire jusqu'à a ce niveaux.

De tout mon cœur je remercie tous les membres de ma famille.

ATALLAH SOUHILA

Sommaire

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Première partie: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. PRESENTATION DE LA PLANTE

1.1. Description botanique.....2

1.2. Répartition géographique.....2

1.3. Systématique de la plante.....3

1.4. Composition chimiques.....3

1.5. Usage traditionnel de la plante.....4

Chapitre 2: RADICAUX LIBRES, STRESS OXYDATIF

2.1. Stress oxydatif.....5

2.2. Qu'es ce qu'un radical libre ?.....6

2.3. Espèces réactives de l'oxygène.....6

2.3.1. Radical superoxyde (O_2^{\bullet}).....6

2.3.2. Peroxyde d'hydrogène H_2O_27

2.3.3. Radical hydroxyle.....7

2.3.4. Oxygène singulet (1O_2).....8

2.3.5. Oxyde nitrique.....8

2.4. Sources des espèces réactives de l'oxygène ERO.....8

2.4.1. Sources endogènes.....8

2.4.2. Sources exogènes.....8

2.5. Antioxydants.....9

2.5.1. Antioxydants endogènes.....9

2.5.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	9
2.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	9
2.5.2. Antioxydants exogènes.....	10
2.5.2.1. Antioxydants apporté par l'alimentation.....	10
2.6. Conséquences du stress oxydatif.....	11

Deuxième partie:PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel biologique.....	12
3.1.1. Matériel végétal.....	12
3.1.2. Animaux.....	12
3.2. Produits chimique.....	12
3.3. Méthodes.....	13
3.3.1. Préparation de l'Extrait brut.....	13
3.3.2. Dosage des Polyphénols totaux.....	14
3.3.3. Etude de l'activité antioxydante d'extraits de <i>P. harmala L</i>	15
3.3.4. Evaluation activité antioxydante <i>in vivo</i>	17
3.3.5. Etude statistique.....	18

Chapitre 4. RESULTATST ET DISCUSSION

4.1. Rendement de l'extraction.....	19
4.2. Teneur en polyphénols totaux.....	20
4.3. Activité antioxydante in vitro.....	21
4. 4. Activité antioxydante in vivo.....	22
Conclusion.....	24
Bibliographie.....	25

Résumé

Liste des Tableaux

Tableau 1. Systématique de la plante.....	02
Tableau 2. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	06
Tableau 3. Rendement des différents extraits de la plante.....	19
Tableau 4. Valeurs d'IC50 des extraits de <i>Peganum harmala L.</i> dans le test de DPPH.....	21

Liste des abréviations

¹O₂. L'oxygène singulier

A. As. Acide ascorbique

ADN. Acide désoxyribonucléique

ANOVA. Analyse de la variance

DMSO. Diméthylsulfoxyde

DPPH. 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAG . Equivalent acide gallique

EF. Extraite des feuilles

EG. Extraite des graines

ERO. Espèces réactives d'oxygène

ETI. Extrait des tiges

GPX. Gluthathion peroxydase

H₂O₂. Peroxyde d'hydrogène

H₂O₂. Peroxyde d'hydrogène

MeOH. Méthanol

MS. Matière sèche

NADH. Nicotinamide adénine di- nucléotide

O₂⁻. Anion superoxyde

PI. Pourcentage d'inhibition

PI. Pourcentage d'inhibitio

Rpm. Rotation par minute

SEM. Standard error of the mean

SOD. Superoxyde dismutase

UV. Ultra violet

Liste des Figures

Figure 1. Aspect morphologique de la plante <i>Peganum harmale L</i> (Originale).....	02
Figure 2. Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.....	05
Figure 3. Le piégeage des ERO par les flavonoïdes.....	10
Figure 4. Souris utilisées dans l'expérience.....	12
Figure 5. Poudre des trois parties de <i>Peganum harmala L</i>	13
Figure 6. Extraits des trois parties de <i>Peganum harmala L</i>	14
Figure 7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	15
Figure 8. Equation du radical DPPH transformé en DPPHH.....	16
Figure 9. Administration de l'extrait et récupération du sang des souris.....	17
Figure 10. Teneur en polyphénols totaux des extraits.....	20
Figure 11. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des trois extraits de <i>P. harmala L</i>	21
Figure 12. Activité antioxydante in vivo.....	23

Introduction

L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. Aujourd'hui, et lorsqu'on commence à prendre conscience de nos corps, on rejette certains médicaments modernes à cause de leurs effets secondaires puissants, et on les remplace par la médecine traditionnelle, qui est réponde partout dans le monde, non seulement chez les populations en développement, mais aussi dans les pays très développés.

Les plantes médicinales forment une source riche d'une variété de composés biologiquement actifs. Ces composés possèdent des activités biologiques diverses, notamment l'activité antioxydante. Cette dernière est très utile dans la thérapie du fait que le stress oxydant est impliqué dans un grand nombre de maladies humaines et dans le vieillissement.

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal Algérien, se trouve le genre *Peganum* qui appartient à la famille des zygophyllacées. Ce genre est largement distribué, surtout dans les zones arides et sèches méditerranéennes, sur les sols sableux et légèrement nitrés (Iserin, 2001). L'harmel est parmi les espèces qui appartiennent au genre *Peganum*. Cette plante est très utilisée en médecine traditionnelle Algérienne et maghrébine pour traiter différents troubles comme narcotiques, spasmodiques, est l'asthme... (Hamliche et Merad, 1997). Plusieurs effets biologiques ont été rapportés pour le genre *Peganum* : anti-inflammatoire, analgésique, anti-tumorale, vasodilatatrice, antispasmodique, antidépressive, et surtout des effets antioxydants.

L'objectif de la présente étude est l'évaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité antioxydante des extraits méthanolique, préparés à partir des graines, feuilles et tiges de *Peganum harmala L.* Pour cela nous avons suivi différentes étapes :

- Préparation des extraits méthanoliques des différents parties de *Peganum harmala L.*
- Détermination de la teneur en polyphénols des extraits de la plante.
- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par les le test de DPPH *in vitro* et *in vivo*

1. 1. Description botanique

Le harmale est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte désagréable qui rappelle celle de la rue. Les tiges dressées, très rameuses disparaissent l'hiver ; les feuilles divisées en lanières étroites.

Les fleurs grande (02 cm) sont formé de :

- Pétales blanc-jaunâtres
- Dix à quinze étamines à filets très élargis dans leur partie inférieure.
- Ovaire globuleux à trois ou quatre loges, donnant une capsule sphérique, entourée. par les sépales persistants, et s'ouvrant en trois ou quatre valves (Ozenda, 1991).



Figure 1. Aspect morphologique de la plante *Peganum harmale* L (Originale).

1. 2. Répartition géographique

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 de l'Afrique du Nord, la région méditerranéenne, le Moyen Orient, l'Inde et le Pakistan (Yousefi et al., 2009).

1. 3. Systématique de la plante

Selon Ozenda (1991), la classification de la plante de *Peganum harmala L.* Est comme suivant :

Tableau 1. Systématique de la plante

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Zygophyllacées
Genre	<i>Peganum L.</i>
Espèce	<i>Peganum harmala L</i>

1.4. Composition chimique

Les études photochimiques ont permis d'identifier différents constituants chimiques dans la plante :

- **Acides aminés** : phénylalanine, valine, proline, thréonine, histidine, acides glutamique et carbo-hydrates.
- **Flavonoïdes** : coumarines, bases volatiles, tanins, stérols.
- **Pigment** : le tégument externe de la graine renferme un pigment rouge dit « Turkey Red » et un composé fluorescent
- **Des alcaloïdes** : qui ont un noyau indole: harmane, harmine, harmaline, harmalol (harmol) qui représentent les principales toxines. Le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine que la racine, la tige, et la feuille, cette teneur s'élève en été durant la maturité du fruit (Kartal *et al.*, 2003).

1. 5. Usage traditionnel de la plante

Le harmel est très utilisé en médecine traditionnelle pour traiter différents troubles :

➤ Le Harmel est connu pour ses propriétés emménagogues, abortives et est utilisé contre la stérilité féminine et l'impuissance sexuelle.

➤ Il est également utilisé comme sédatif, hypnotique, soporifique (il est notamment donné aux nourrissons agités et insomniaques) et utilisé comme antipyrétique, antalgique et antitussif.

➤ Sur le plan digestif il agirait contre les coliques et autres troubles digestifs (diarrhée du nourrisson)

➤ Le Harmel est utilisé comme antiseptique et cicatrisant, pour traiter des dermatoses (eczémas) et des brûlures.

➤ Il est également conseillé pour les conjonctivites purulentes, les blépharites, l'alopecie, le tétanos néonatal, les parasitoses (ascaris, tænia), le paludisme, les oreillons, les hémorroïdes, le diabète, l'hypertension artérielle .²

Une enquête réalisée par Bakiri et ces collaborateurs en 2016 a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par *Peganum harmala L.* Les résultats obtenus montrent que cette plante intervient dans le traitement des affections suivantes :

- Affections ostéo-articulaires (22,85 %).
- Maladie du kyste (17,14%).
- Troubles digestives (16,19 %).
- Troubles respiratoires (11,42 %).
- Affections dermatologique (8,57 %).
- Affections génito-urinaires (10,47 %).
- Troubles métaboliques (4,76 %).
- Maladies rénales (3,80 %).
- Le reste englobe les autres maladies avec un taux de 4,76 %.

2.1. Stress oxydatif

Des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Christophe *et al.*, 2011 ; Papazian *et al.*, 2008).

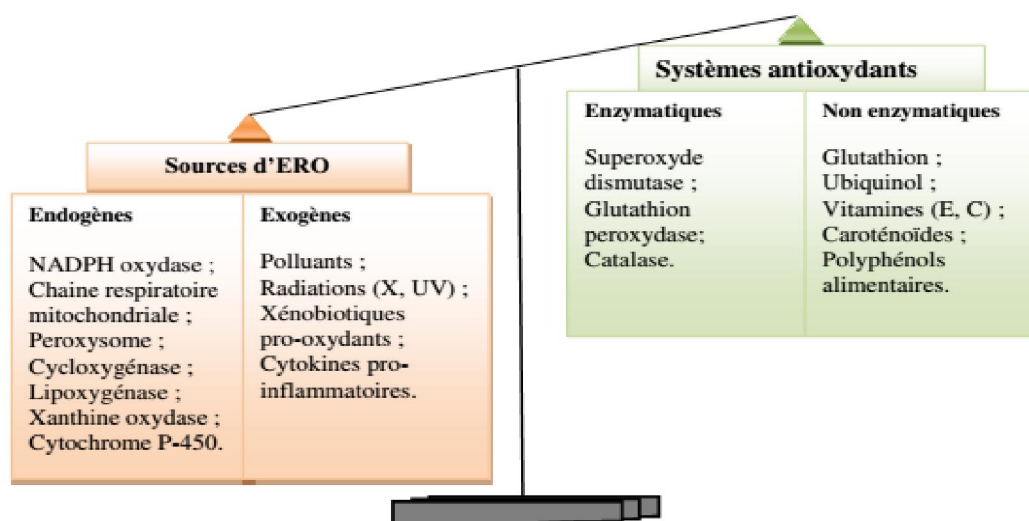


Figure 2. Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (Poirier, 2004 et Médart, 2009).

2.2. Qu'es ce qu'un radical libre ?

Les radicaux libres sont des atomes, molécules ou des partis de molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbite externe tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), et le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) (Wu et Cederbaum, 2003).

Du fait de leur instabilité chimique, les radicaux libres ont une tendance à revenir vers un état plus stable en donnant un électron ou en prenant un autre à partir d'une autre molécule. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour des radicaux libres et initient ainsi une chaîne de réaction (Lev et *al.*, 2007).

Tableau 2. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Valko et *al.*, 2007).

Radicaux libres	Non radicaux libres
Superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	Oxygène singulet (1O_2)
Radical Hydroxyle (OH^{\bullet})	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Monoxyde d'azote (NO^{\bullet})	Ozone (O_3)
Dioxyde d'azote (NO_2^{\bullet})	Acide hypochloreux (HOCl)
Peroxyde, alkoxyde (ROO^{\bullet} , RO^{\bullet})	Peroxynitrite ($ONOO^{\bullet}$)
Peroxyde lipidique (LOO^{\bullet})	Peroxyde lipidique (LOOH)

2.3. Espèces réactives de l'oxygène

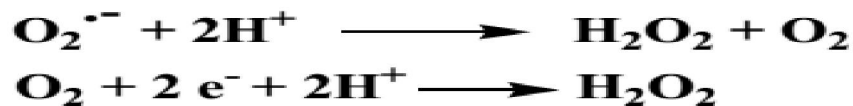
Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (Edeas, 2005). L'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (Ichai et *al.*, 2011).

2.3.1. Radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

Dans l'organisme une partie de l'oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la formation du chef de file des espèces oxygénées réactives : l'anion superoxyde ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$) (Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Al-Mamun et *al.* 2007).

2.3.2. Peroxyde d'hydrogène(H₂O₂)

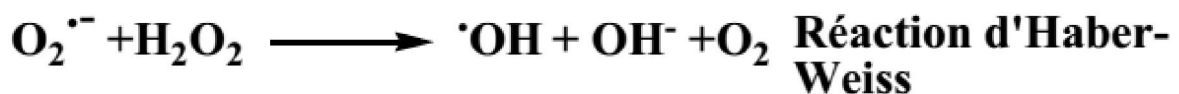
Le Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ qui n'est pas un radical libre peut être formé secondairement à la dismutation de (O₂^{•-}) par la superoxyde-dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acétyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase...etc (Jadot et *al.*,1994).



Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, 2010).

2.3.3. Radical hydroxyle

Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques, au cours de la réaction d'Haber-Weiss :



Le radical hydroxyle possède une très grande réactivité dans les milieux biologiques, pouvant se « combiner » avec de nombreuses molécules avec une constante de vitesse de l'ordre de 10⁹ à 10¹⁰ M⁻¹s⁻¹. Il est capable de réagir avec presque tous les composants cellulaires par échange d'électron, addition sur les doubles liaisons ou arrachement d'un atome d'hydrogène. Le radical hydroxyle est donc un oxydant très puissant, constituant certainement le radical libre le plus toxique en biologie et serait à l'origine de la production des radicaux libres « secondaires », suite à sa réaction avec différents composés cellulaires (Lacolley, 2007).

2.3.4. Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O_2 , il possède la même structure électronique que l'oxygène, mais «agencée» différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état «excité» lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonnefont Rousselot et *al.*, 2003).

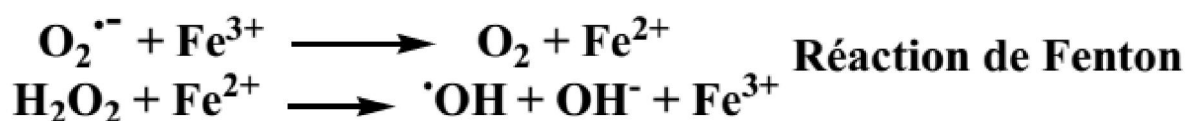
2.3.5. Oxyde nitrique

L'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote peut être produit par les macrophages et par l'endothélium vasculaire. C'est l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ qui interagit avec le $\text{NO}\cdot$ et abouti au ONOO^- qui peut endommager les molécules biologiques (Howes, 2006).

2.4. Sources des espèces réactives de l'oxygène ERO

2.4.1. Sources endogènes

L'activité mono-oxygénase du cytochrome P450 dans la membrane du réticulum endoplasmique, la NADH-déshydrogénase du transport électronique dans la membrane mitochondriale interne, l'hème de l'hémoglobine et de la myoglobine peuvent oxyder le Fe^{+2} en Fe^{+3} pour donner naissance aux formes hydroxyles réactives ces radicaux hydroxyles proviennent essentiellement de la réaction de Fenton qui implique le peroxyde d'hydrogène et des métaux réducteurs libres de complexes protéiques précédemment cités (Baudin, 2006).



2.4.2. Sources exogènes

Plusieurs facteurs environnementaux exogènes peuvent induire la production de radical hydroxyle parmi lesquels les radiations ionisantes X ou γ et les rayonnements ultraviolets, soit en scindant la molécule d'eau ou en activant des molécules photo sensibilisantes. Dans ce contexte, ces facteurs peuvent également générer des anions superoxydes et l'oxygène singulet (Baudin, 2006). De plus, la pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante et la pratique du sport de haut niveau sont autant de sources de production des ERO (Defraigne et Pincemail, 2007).

2.5. Antioxydants

On désigne par antioxydant toute substance, qui lorsqu'elle est présente en faible concentration dans la cellule, est capable de retarder, de neutraliser ou de réduire l'oxydation et les dommages causés par les radicaux libres sur le composé cellulaire (Rahman, 2007).

2.5.1. Antioxydants endogènes

2.5.1.1. Antioxydants enzymatiques

Pour faire face aux attaques de radicaux libres, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :

1. A éliminé les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.
2. A induire la synthèse des antioxydants.
3. A augmenté l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène (Pelletier et *al.*, 2004).

- Les superoxydes dismutases (SOD) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Droillard et Paulin, 1990 ; Arisi et al., 1998).
- La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci (Yoshimoto et *al.*, 2007 ; Nicholls, 2012).
- La glutathion peroxydase (GPX) qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène (Bédane, 2008).

2.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, l'ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine etc..... (Pham-Huy et al., 2008). De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le

glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes et le monoxyde d'azote (Favier, 2003).

2.5.2. Antioxydants exogènes

2.5.2.1. Antioxydants apporté par l'alimentation

➤ les composés phénoliques

Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins, et les acides phénoliques présents dans tous les fruits, les légumes, le thé, les céréales complètes, les raisins, les Lentilles...etc. (Kochlin-Ramonatxo, 2006) sont aussi des puissants antioxydants nutritionnelles capables de chélater les métaux de transition et d'inhiber la propagation de la réaction radicalaire en piégeant les différentes espèces réactives (Cemeli et *al.*, 2009 ; Valko et *al.*, 2006).

En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Niki, 2010).

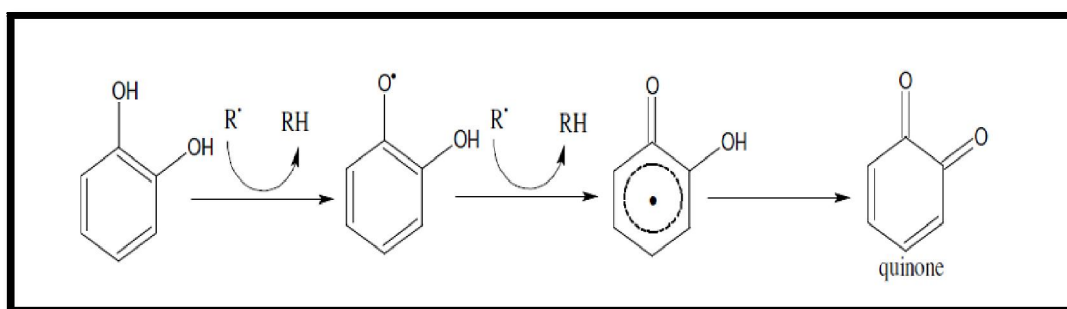


Figure 3. Le piégeage des ERO par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

➤ Acide ascorbique (vitamine C)

La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine. La plupart des plantes et des animaux peuvent synthétiser l'acide ascorbique sauf les singes et les humains en raison du manque de l'enzyme gulonolactone oxydase (Naidu, 2003).

Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger / neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (Carr et *al.*, 1999 ; Césarini, 2004). Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans

la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophérol (Greff, 2011 ; Halliwell et *al.*, 1986).

➤ **Tocophérols (dont la vitamine E)**

Les tocophérols sont des composés liposoluble, ils regroupent quatre substance dont l'alpha-tocophérol aussi appelé vitamine E. ce dernier l'antioxydant majeur, le plus active biologiquement (Wang et *al.* , 2006).

Il est présent dans les membranes des cellules et les organites cellulaires, où il joue un rôle important dans la suppression de la peroxydation des lipides et il s'accumule sur ces sites au sein des cellules dans lesquelles la production des radicaux d'oxygène est plus grande (Dutta-Roy, 1999). Il neutralise les radicaux peroxyde (Lecerf et *al.*, 1994), alkyle et alcoxyle (Herrera et *al.*, 2001).

➤ **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante (Causse, 2005). Comme ils le font pour les plantes, ils ont des effets bénéfiques sur notre santé (Rodriguez-Amaya et *al.*, 2004).

2.6. Conséquences du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (Hadj Salem, 2009), les lipides (peroxydation), les protéines (Jacob, 2007).etc.

Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète...) (Pincemail et *al.*, 2003) et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet et *al.*, 2010).

3.1. Matériel biologique

3. 1. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de la plante *Peganum harmala* (feuilles, tiges, graines). Les feuilles et les tiges du Harmal ont été cueillies en novembre 2017 dans la région Sidi Okba (wilaya biskra) tandis que les graines du Harmal ont été achetées chez un herboriste.

Les feuilles et les tiges ont été séchés dans l'étuve (40°C) pendant une semaine et stockés ensuite à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation. Les graines ont été nettoyées des impuretés, lavées avec de l'eau distillée, séchées dans l'étuve (40°C, pendant 24 heures) et stockées ensuite à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

3.1.2. Animaux

L'étude de l'activité antioxydants in vivo a été réalisée sur 14 souris Swiss albinos (femelles). Agé de 8 à 10 semaines.



Figure 4. Souris utilisées dans l'expérience

3.2. Produits chimiques

Méthanol, Eau distillée, DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), Acide gallique, Réactif de Folin – Ciocalteu, carbonate de sodium (NaCO_3), Acide ascorbique, DMSO.

3.3. Méthodes

3.3.1. Préparation de l'Extrait brut

Le matériel végétal a été finement broyé dans un moulin électrique (figure 5). 100 g du broyat ont été soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol / eau (70/30 : v/v) pendant 5 heures avec agitation. Les étapes restantes sont les suivantes :

- Récupération du surnageant et filtration.
- Renouvellement du solvant est agitation pendant 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Récupération du surnageant et filtration.
- Elimination du solvant par évaporation rotative à pression réduite. La dessiccation totale a été obtenue après séchage dans l'étuve pendant 15 jours. La poudre obtenue est conservée dans des flacons hermétiques à l'abri de la lumière (figure 6).

Le rendement d'extraction a été estimé par rapport à la masse de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$RE(\%) = \frac{PBE - PBV}{PP} \times 100$$

RE : rendement d'extraction en pourcentage.

PBE : poids des boîtes pleines après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.

PBV : poids des boîtes vides en gramme.

PP : poids de la partie de la plante séchée en gramme (feuille, grains, tige).



Feuille

graine

Tige

Figure 5. Poudre des trois parties de *Peganum harmala* L.



Figure 6. Extraites des trois partis des *Peganum harmala L*

3.3.2. Dosage des Polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de *Peganum harmala* a été estimée par la méthode de Folin –Ciocalteu selon Singleton et Rossi (1965) qui est basée sur la réduction, en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) du réactif de Folin par le groupement 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.

➤ Protocole expérimentale

Un volume de 200 μ l des différentes concentrations des extraits est ajouté à 1ml de réactif de Folin- Ciocalteu (10 %). Après 4 min, 800 μ l de carbonates de sodium ($NaCO_3$) 7 % sont additionnés et le volume est complété avec l'eau distillé jusqu'à 4 ml. Le mélange est laissé réagir 2 h à température ambiante et à l'obscurité, puis la lecture est faite à 765 nm, contre un blanc contenant le solvant au lieu de la substance testée.

L'acide gallique (0-300 μ g/ml) est utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est

calculée (Figure7). Le résultat est exprimé en μg d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

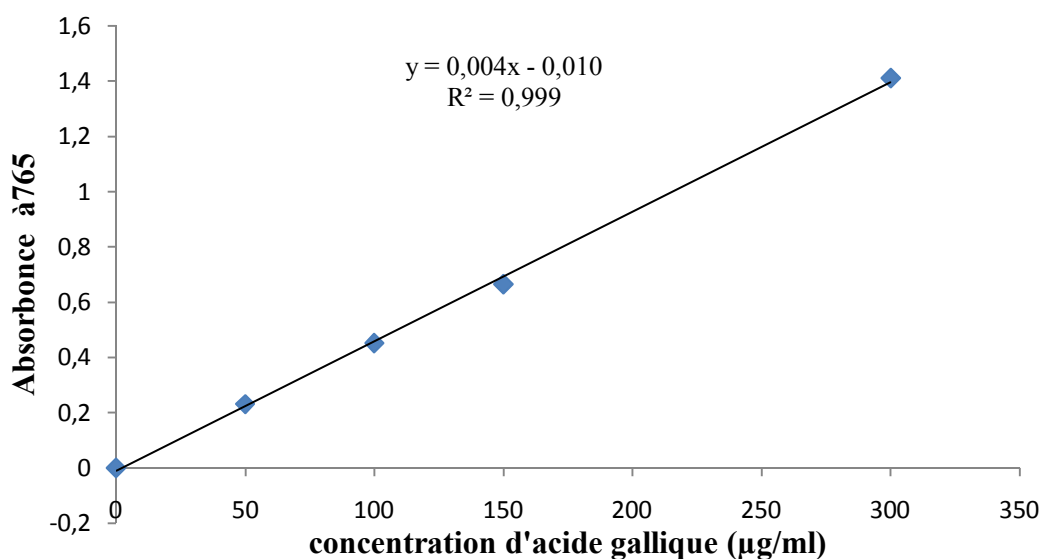


Figure 7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

3.3.3. Etude de l'activité antioxydante des extraits de *P. harmala L*

Nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des extrais. La plupart des ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé un teste chimique à savoir : l'effet d'un antioxydant sur le radical DPPH.

➤ Principe

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir de *Peganum harmala L* est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical DPPH. La réduction du radical DPPH, ayant une couleur violette foncée, par les groupements hydroxyles des antioxydants présents dans les extraits, conduit à la formation d'un composé stable d'une couleur jaune (Figure 8). La couleur violette foncée, mesurable à 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire de l'extrait (Locatelli *et al.*, 2010).

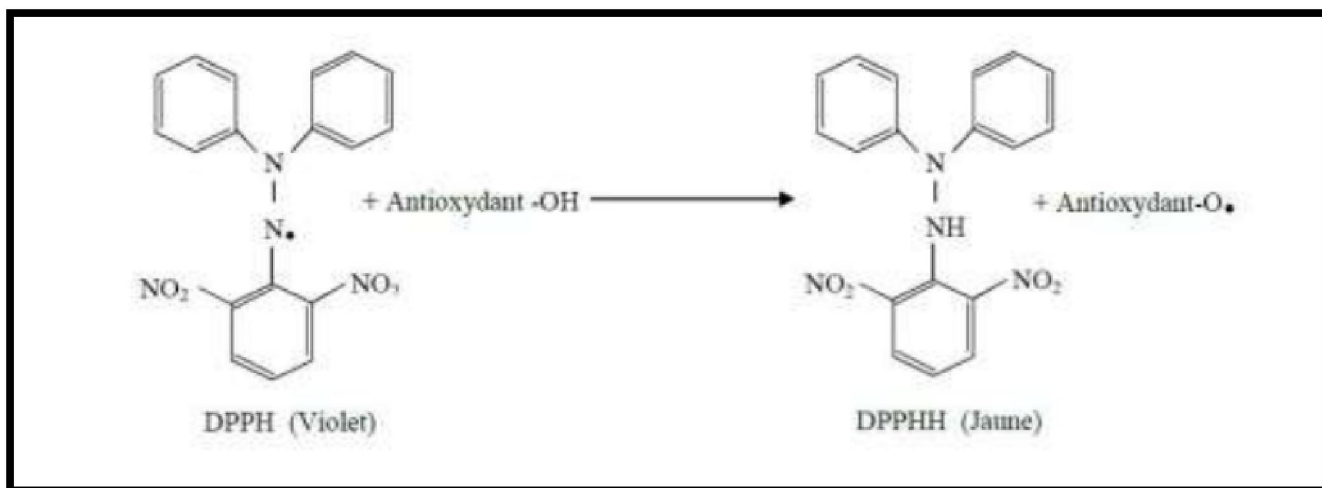


Figure 8. Equation du radical DPPH transformé en DPPHH (Talbi *et al.*, 2015)

➤ Procédure expérimentale

1,3 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,06 mM) a été mélangé avec 0.2 ml de L'échantillon. Le mélange réactionnel est maintenu à l'obscurité pendant 30 min à 37°C. L'absorbance (Abs) du milieu réactionnel est ensuite mesurée à 517 nm contre le méthanol comme blanc. Tous les tests sont réalisés en duplicata.

Le pourcentage d'inhibition (PI) est calculé en appliquant la formule suivante :

$$PI(\%) = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

Où : AC : Abs du control négatif.

AE : Abs du radical après 30min de contact avec l'antioxydant à l'obscurité.

3.3.4. Evaluation d'activité antioxydante *in vivo*

Pour l'évaluation de l'effet de la consommation des différents extraits de *P. harmala* (graine, feuille, tige) sur la capacité antioxydante du sérum, chaque extrait, solubilisé dans l'eau distillée avec 2 % DMSO, a été administré avec une dose de 100 mg/Kg par gavage à un groupe de souris (Figure 9). Quatre groupes ont été utilisés en total :

Groupe témoin 01 : 4 souris administré avec l'eau distillée avec 2 % DMSO (10 ml/Kg)

Groupe teste 02 : 3 souris administré avec l'extrait des graines.

Groupe teste 03 : 4 souris administré avec l'extrait des feuilles.

Groupe teste 04 : 3 souris administré avec l'extrait des tiges.

Le sang a été récupéré par décapitation après 3 h (Figure 9). Le sérum a été obtenu après coagulation et centrifugation (Eppendorf minispin, 14500rpm).

La capacité antioxydante des sérums récupérés a été évaluée avec le test de DPPH en ajoutant une étape de centrifugation avant la lecture des absorbances pour éliminer le précipité protéique.

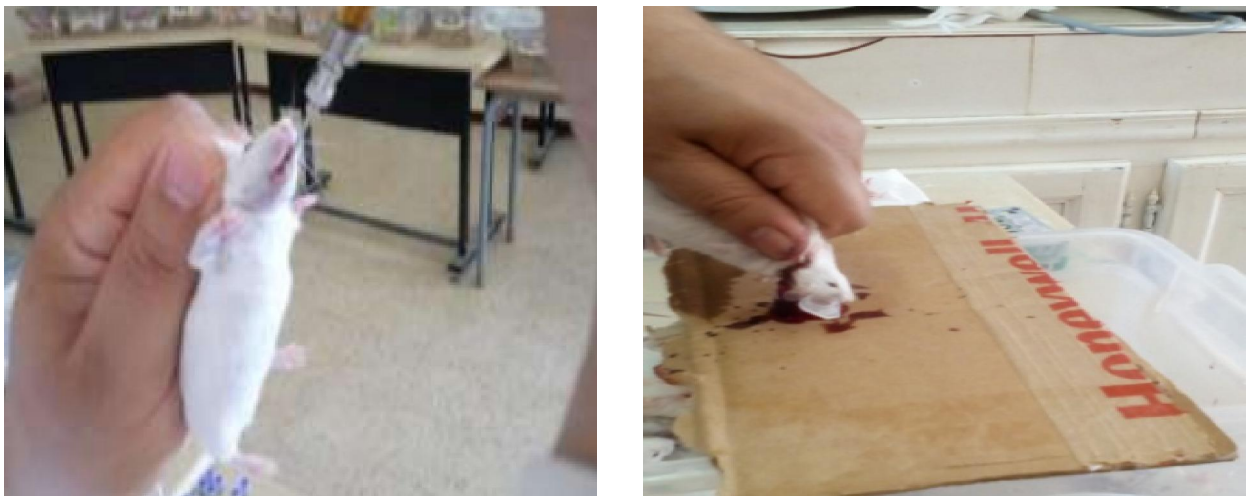


Figure 9. Administration de l'extrait et récupération du sang des souris.

3.3.5. Etude statistique

Les tests statistiques ont été réalisés en utilisant le logiciel GraphPad Prisme.

Pour l'étude *in vitro*, les IC50 : concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH dans les milieux réactionnels ont été déterminés en utilisant l'équation logistique à cinq paramètres.

Pour l'étude *in vivo* les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. L'analyse de la variance ANOVA 1 Facteur a été utilisée pour ce test. Le test de comparaison multiple de Bonferroni a été utilisé pour comparer les moyennes. Une différence avec un $P \leq 0.05$ est considérée comme significative.

Bibliographie

Résultats et discussion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a occupé une place importante dans la recherche biomédicale. Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. La capacité antioxydante des plantes a été attribuée principalement à leur richesse en composés phénoliques, capables de donner des atomes d'hydrogènes pour inhiber la peroxydation lipidique (Amić et *al.*, 2003). La présence et le nombre de groupements OH libres sont des facteurs déterminants de l'activité antioxydante des polyphénols (Sharififar et *al.*, 2008).

4.1. Rendement de l'extraction

La teneur en composés extractibles (TCE) à partir de la graine, des feuilles et des tiges de *Peganum harmala L.* est respectivement de 18,47%, 27,47% et 10%. Nos résultats sont proches à ceux affirmés par Rezzagui (2012) qui a obtenu un rendement de 20,18 % des graines de la même espèce végétale. Edziri et ses collaborateurs (2010), qui ont étudié la partie aérienne de *Peganum harmala L.* (feuilles et tige) en utilisant le même solvant d'extraction que le nôtre ont obtenu un rendement de 17,75 % ce qui représente la moyenne des rendements que nous avons obtenus avec les feuilles et les tiges séparément.

Tableau 3. Rendement de différents extraits de la plante

Extrait	Rendement%
Feuille	27.47%
Graine	18.47%
Tige	10%

4. 2. Teneur en polyphénols totaux

En se basant sur la courbe d'étalonnage préparée avec l'acide gallique, la teneur en polyphénols a été déterminée (figure10). L'extrait de la graine a une teneur en polyphénols plus élevée que les extraits des feuilles et des tiges, respectivement 108,13 $\mu\text{g EAC/mg}$, 24,73 $\mu\text{g EAC/mg}$ et 23,44 $\mu\text{g EAC/mg}$.

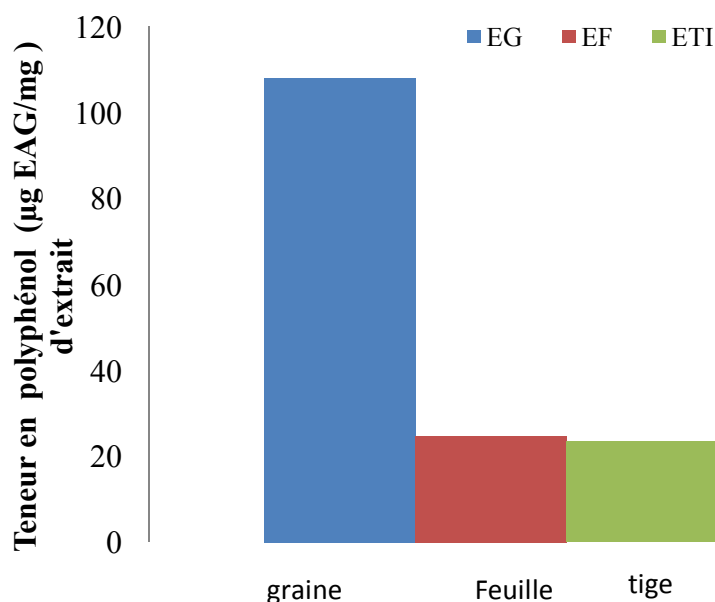


Figure 10. Teneur en des polyphénols totaux des extraits

La comparaison de nos résultats avec Rezzagui (2012) confirme la richesse de l'extrait méthanolique en composés polyphénoliques. Ce chercheur a trouvé que la teneur de l'extrait méthanolique des grains de *Peganum harmala L.* en polyphénols est de 79,73 $\mu\text{g EAG/mg}$. Ce qui confirme la richesse des graines malgré que sa valeur est plus faible que la notre. Par contre, Edziri et *al.* (2010) ont rapporté une teneur de la partie aérienne de *Peganum harmala L.* (feuilles et tige) en polyphénols de 117,45 $\mu\text{g EAG/mg}$. Ce qui est 5 fois supérieurs à ce que nous avons trouvé. L'origine de cette différence peut résider dans la différence dans le climat de notre région d'étude et celle de ces auteurs.

4.3. Activité antioxydante in vitro

Les résultats du test de réduction du radical DPPH (figure 11) montrent que l'extrait de la graine est plus actif que celui des tiges et des feuilles. Pour obtenir une inhibition avoisinant les 80%, le premier extrait a nécessité une concentration de 2 mg/ml alors que la concentration des deux autres été de 10 mg/ml et 15 mg/ml, respectivement.

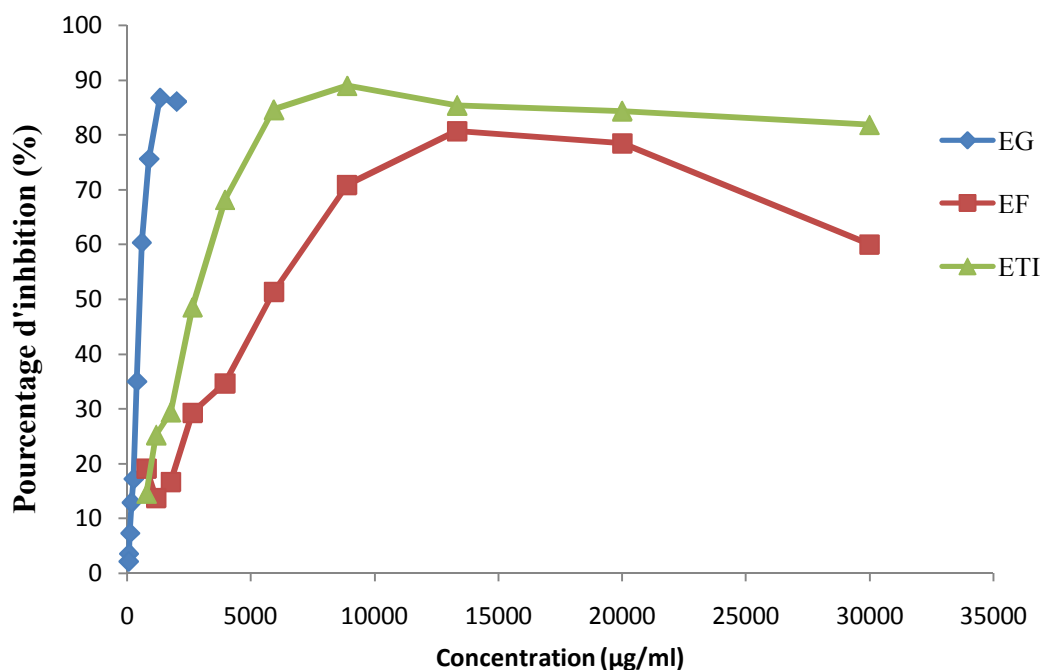


Figure 11. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des trois extraits de *P. harmala L.*

A partir des équations de régression linéaire des graphes représentés dans les (Figures 11), nous avons calculé les IC₅₀ des extraits de *Peganum harmala L.* Et de l'acide ascorbique comme standard (Tableau 4).

Tableau 4. Valeurs des IC₅₀ des extraits de *Peganum harmala L.* dans le test de DPPH

Les extraits	EG	EF	ETI	A .As
IC ₅₀ (µg/ml)	466,7 µg/ml	5351 µg/ml	2387 µg/ml	1,454 µg/ml

Les IC50 obtenus confirment l'activité élevée de l'extrait de la graine (466,7 µg/ml). Les extraits des feuilles et des tiges qui possèdent une teneur en polyphénols très proche ($\approx 24 \mu\text{gEAC/mg}$) ont montré une différence dans l'activité réductrice du DPPH. En effet l'extrait des tiges est 2,5 fois plus actif que l'extrait des feuilles ce qui montre que les polyphénols ne sont pas les seuls constituants à pouvoir antioxydant dans les tiges de *Peganum harmala L.*, d'autres composants non phénoliques participent aussi à cet effet.

L'activité élevée de l'extrait de la graine est confirmée dans la bibliographie: Rezzagui (2012), Baghiani et ses collaborateurs (2012) et Khelifi et ses collaborateurs (2003) et ont obtenu des IC50 meilleurs que le notre, respectivement $181 \pm 1.73 \mu\text{g/ml}$, $100 \pm 6.9 \mu\text{g/ml}$ et ($\text{IC}_{50} = 70,16 \pm 3.30 \mu\text{g/ml}$).

L'extrait des feuilles étudié par Y. Ouzid (2017) en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant a donné une IC50 proche de la notre ($6150 \mu\text{g/ml}$). Nous n'avons pas trouvé de référence concernant l'activité antioxydante des tiges.

Les différences dans l'activité antioxydante de certains extraits que nous avons obtenus par rapport à ceux obtenus par dans d'autres travaux peuvent être expliquées par la méthode d'extraction et conservation en plus des conditions climatiques et géographiques.

4. 4. Activité antioxydante *in vivo*

Les trois extraits administrés aux souris ont donné une amélioration de l'activité antioxydante de leur sérum (figure 12). Malheureusement nous n'avons pas pu exploiter les résultats du test *in vivo* à cause du faible nombre de souris dans chaque groupe et le faible volume du sérum récupéré. Ce qui nous a empêché de faire des répétitions et a donné des écarts très grands rendant les différences statistiquement non significatives.

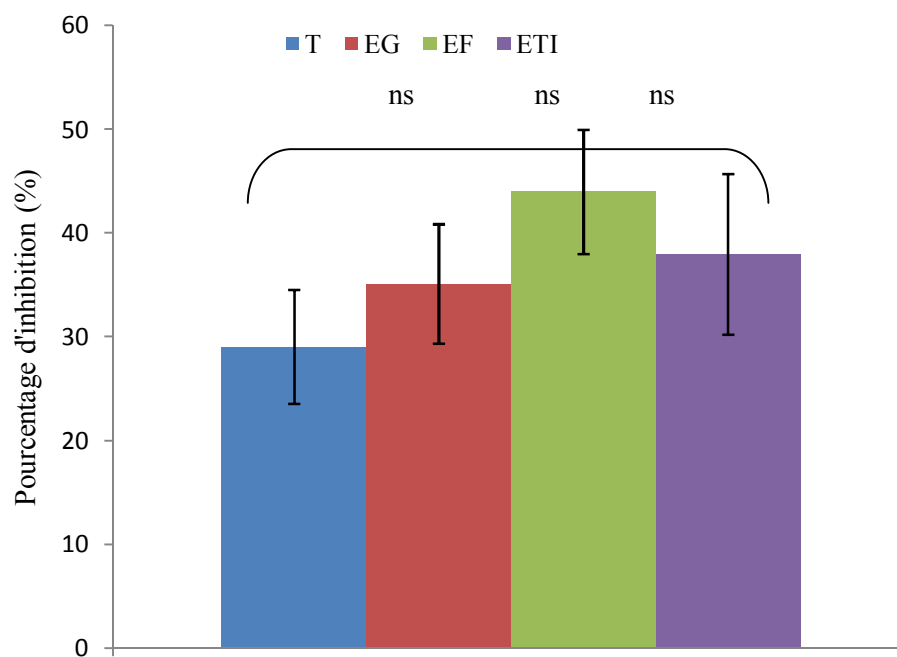


Figure 12. Activité antioxydante *in vivo*.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'objectif général de notre travail été la recherche d'éventuelles activités antioxydantes des différents extraits de la plante *Peganum harmala L.* En passant par l'extraction méthanolique l'étude des pouvoir antioxydante en plus du dosage des polyphénols.

Les résultats obtenus à l'issue de ce travail montrent que les extraits préparés ont un pouvoir réducteur intéressant. Cette activité est principalement concentrée dans l'extrait méthanolique des graines. L'activité des l'extraits des graines et des feuilles est probablement liée à leur teneur en polyphénols. L'activité antioxydante de l'extrait des tiges pourrait être attribuée aux composés phénoliques et aussi à d'autres composés non phénoliques.

Les résultats de l'étude de la capacité antioxydante in vivo n'étaient pas concluantes malgré l'apparente amélioration du pouvoir réducteur des sérums.

Les résultats obtenus restent préliminaires et nécessitent d'autres travaux surtout sur l'étude in vivo. L'isolement des composants actifs de chaque extrait et l'étude de leurs propriétés individuelle permettent l'identification de nouvelles molécules qui peuvent être utilisé dans la thérapie contre les maladies lié au stress oxydatif.

- Alexandrova ML. and Bochev PG. 2007. Oxidative Stress in Stroke. In: Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. 1 st ed. Elsevier BV. (Amsterdam), 313-368.
- Al-Mamun M., Yamaki K., Masumizu T., Nakai Y., Saito K., Sano H. and Tamura Y. 2007. Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in northern japan determined using electron spin resonance spectrometry. *Int. J. Biol. Sci.* 3 : 349-355.
- Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D. and Trinajstić N. 2003. Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatica Chemica Acta.* 76 : 55-61.
- Arisi A.C. M., Cornic G., Jouanin L. and Foyer C. H.1998. Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology* 117 (2) : 565-574.
- Baghiani A., Djarmouni M., Boumerfeg S., Trabsa H., Charef N., Khennouf S. and Arrar L.2012. Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Effects of *Peganum harmala* Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants* 1: 42-56.
- Bakiri N., Bezzi M., Khelifi L. et Khelifi-Slaoui M. 2016. Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. dans la région de M'sila 1 : 38 – 42.
- Baudin B. 2006. Stress Oxydant Et Pathologies Cardiovasculaires. *Mtcardio* 2 (1) : 43-52.
- Bédane C. 2008. Photodermatologie : Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie. Edition, Wolters Kluwer, France, p. 20.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P. et Delattre J. 2003. Radicaux libre et antioxydant dans : Delattre J., Durand G., Jardillier J. C. *Biochimie pathologique.* Flammarion, Pris, p.317.
- Bonnet C., Alamigeon F. et Micheels P. 2010. Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. Edition, Eyrolles, p. 14.12.
- Causse C. 2005. Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. Alpen éditions . s.a.m, p. 30.

- Carr A., Frei B. 1999. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *FASEBJ*13(9) :1007-1024.
- Césarini J.-P. 2004. Le sélénium : actualités. John Libbey Eurotext . Edition, p. 14.
- Cemeli E., Baumgartner A., Anderson D. 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research* 681: 51–67.
- Christophe P. et Christophe S. 2011. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Edition Springer, p. 84.
- Defraigne Jo., Pincemail J. 2007. Stress Oxydant Et Antioxydants:Mythes Et Réalités.*Rev Med Liege* 62 (4).
- Droillard M.-J. et Paulin A. 1990. Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3) :1187-1192.
- Dutta-Roy A. K., 1999. Molecular Mechanism of Cellular Uptake and Intracellular Translocation of α -Tocopherol: Role of Tocopherol-binding Proteins. *Food and Chemical Toxicology* 37 : 967-971.
- Edeas M. 2005. Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. Alpen, Editions s.a.m , p. 18.
- Edziri H., Mastouri M., Mahjoub M. A., Patrich G., Matieu M., Ammar S., Ali S. M., Laurent G., Zine M. and Aouni M. 2010. Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala* L. grown in Tunisia, *Toxicological & Environmental Chemistry* 92 (7) :1283 -1292.
- Favier A. 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Greff M. 2011. Post'U FMC-HGE: Paris, du 24 au 27 mars 2011. Springer Edition, p 39.
- Hadj Salem J. 2009. Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE.

- Halliwell B. and Gutteridge J. M. C. 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problem and concepts. *Arch. Biochem. Biophys* 246 : 501-51.
- Hammiche V., Merad R. 1997. Laboratoire de botanique médicale, INESSM d'Alger, Ed MO Rambourg Schepens. in memo ire de magister Université des Sciences de la Nature et de la Vie -Ferhat Abbes-(Sétif). 2012.
- Herrera E. et Barbas C. 2001. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J. Physiol. Biochem* 57 : 43-56.
- Ichai C., Quintard H., and Orban J.-C. 2011. Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement. Edition, Springer, p. 427.
- Jacob L. 2007. L'insuffisance rénale aiguë. Edition Springer, p. 88.
- Jadot G. 1994. Antioxydants et vieillissement. Edition John Libbey Eurotext, p. 35.
- Karp G. 2010. Biologie cellulaire et moléculaire: Concepts and experiments. Edition De Boeck Supérieur, p. 35.
- Kartal M., Altun ML, and Kurucu S. 2003. HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis* 31: 263-269.
- Khelifi D., Sghaeir R.M., Amouri D., Hamdi M., Bouagila J. 2013. Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba -alba* , *Rutachalpensis* L . and *Peganum harmala*. *Food and chemical toxicology* 55 : 202-208.
- Koechlin-Ramonatxo C. 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et metabolism* 20: 165-177.
- Lacolley P. 2007. Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Edition, John Libbey Eurotext, p. 312.
- Lecerf J. M., Luc G., et Fruchart J. C. 1994. Vitamine E, antioxydants et athérosclérose, *Rev. Mid. Interne* 15 : 641-649.

- Lev N., Gilgun-Sherki Y., Offen D. and Melamed E. 2007. The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis: Current State. In: Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. 1 st ed. Elsevier BV. (Amsterdam) : 283-295.
- Locatelli M., Travaglia F., Coisson JD., Martelli A., Stevigny C., and Arlorio M. 2010. Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. Food Chemistry 119: 1647-1655.
- Marfak A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes: étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools (Formation des depsides). Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie, Université de Limoges (France).
- Médart J. 2009. Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. Editions De Boeck Supérieur, p. 49.
- Naidu K. A. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An Overview. Nutrition Journal 2 (7) : 1-10.
- Nicholls P. 2012. Classical catalase: Ancient and modern. Archives of Biochemistry and Biophysics 525 : 95–101.
- Niki E. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. Free Radical Biology and Medicine 49: 503-515.
- Ouzid Y., Smail Saadoun N and Houali K. 2018. Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of peganum harmala of dayate Aiat (Laghouat, Algeria). J. Fundam. Appl. Sci 10(1): 147-157.
- Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, paris, p. 622.
- Pandey KB and Rizvi SI. 2011. Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. Biomedical paper of medicine faculty- University Palacky Olomouc-Czech Republic 155:131-136.
- Pham-Huy LA, He H, and Pham-Huy C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. International Journal of Biomedical Medicine 4: 89-96.
- Papazian L. et Roch A. 2008. Le syndrome de détresse respiratoire aiguë. Edition Springer, p. 153.

Pelletier E. Campbell P. G. C. et Denizeau F. 2004. Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. Edition, PUQ, p. 182.

Pincemail J. and Defraigne J.-O. 2003. Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 18 (2) : 55-60.

Poirier J. 2004. L'indispensable pour vivre en santé, Edition Merlin, p. 72.

Rahman K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging* 2: 219-236.

Rezzagui A. 2012. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala* L. Thèse de Magister en biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif, 77page.

Rodriguez-Amaya D. B. and Kimura M. 2004. Harvestplus handbook for carotenoid analysis. Technical Monograph Series, p.3.

Sharififar F., Dehghan-Nudeh G. and Mirtajaldini M. 2008. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*. 1-19.

Singleton V L et Rossi J A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16 : 144 -153.

Talbi H., Boumaza A., El-mostafa k., Talbi J., Hilali A. 2015. Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci* 6 (4) :1111-1117.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J, Cronin MT, Mazur M. and Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39: 44-84.

Wang X. and Quinn P. J. 2006. The structure and phase behaviour of α -tocopherol-rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. *Biochimie* 88 : 1883-1888.

Wu D and Cederbaum A. 2003. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health* 27: 277-284.

Yoshimoto M., Sakamoto H., Yoshimoto N., Kuboi R. and Nakao K. 2007. Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41: 849–858.

Yousefi R., Ghaffarifar F., and Dalimi AA. 2009. The Effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) in vitro. *Iranian Journal of Parasitology* 4: 40-47.

ملخص

في دراستنا قمنا بتقييم نشاط مضادات الأكسدة لمستخلصات نبات *Peganum harmala L* الذي ينمو في سيدي عقبة في خطوة أولى توصلنا إلى استخراج مختلف المستخلصات النباتية مع عائدات : (EG) 18.47%، (EF) 27.47% و (ET) 10% بعد ذلك تركيز المركبات الفينولية لمختلف المستخلصات اعطى محتوى: (ET) 23,44 µg EAC/mg, (EF) 24,73 µg EAC/mg, (EG) 108.13 µg EAC/mg. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبار DPPH في المختبر وفي الجسم الحي ، قيم IC50 التي تم الحصول عليها في المختبر هي كما يلي: 466.7 ميكروغرام/مل (EG) ، 5351 ميكروغرام / مل (EF) و 2387 ميكروغرام / مل (ET). كان الاختبار في الجسم الحي غير حاسم.

كلمات البحث : الأكسدة ، *P. harmala L* ، البوليفينول، الفعل المضاد للأكسدة *in vivo* و *in vitro* ، تأثير خفض من جذر DPPH

Résumé

Dans notre étude nous avons évalué l'activité antioxydant des extraits des la plante *Peganum harmala L* qui pousse à Sidi Okba. Dans une première étape nous avons obtenu différents extraits de la plante avec les rendements de : 18.47% (EG), 27,47% (EF) et 10% (ET). Le dosage des composés phénolique dans les différents extraits a donné les teneurs de 108,13µg EAC/mg (EG), 24,73 µg EAC/mg (EF) 23,44 µg EAC/mg (ET). L'activité antioxydante a été évaluée par le test de DPPH *in vitro* et *in vivo*. Les IC50 obtenus *in vitro* sont les suivant : 466,7 µg/ml(EG), 5351 µg/ml (EF) et 2387 µg/ml (ET). Le test *in vivo* n'était pas concluant.

Mots clés : stress oxydatant , *P. harmala L*, polyphénols, effet antioxydant *in vivo* et *in vitro*, L'effet réducteur du radical DPPH.

Summary

In our study we evaluated the antioxidant activity of extracts of the plant *Peganum harmala L* growing in Sidi Okba. In a first step we obtained different plant extracts with yields of: 18.47% (EG), 27.47% (EF) and 10% (ET). The determination of the phenolic compounds in the various extracts gave the contents of 108.13 µg EAC / mg (EG), 24.73 µg EAC / mg (EF) 23.44 µg EAC / mg (ET). The antioxidant activity was evaluated by the DPPH test *in vitro* and *in vivo*. The IC50 values obtained *in vitro* are as follows: 466.7 µg / ml (EG), 5351 µg / ml (EF) and 2387 µg / ml (ET). The *in vivo* test was not conclusive

Keywords : oxydatant stress, *P.harmala*, polyphénols , antioxidant effect *in vivo* and *in vitro*, reducing effet of DPPH radical