

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER**

En : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : -M^{lle}. BAHAZ Karima
-M^{lle}. MEHAYA Djihad

Thème

Contribution à la valorisation d'une espèce végétale saharienne
***Peganum harmala* : Aspect phytochimique et activité antioxydante**

Soutenu publiquement, le : 03/10/2020 , devant le jury composé de :

M. KRAIMAT M.	Maître de Conférence B	Univ. Ghardaia	Président
M. BENKHERARA S.	Maître de Conférence B	Univ. Ghardaia	Encadreur
M. BELHACHEMI MH.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaia	Examineur

Année universitaire : 2019/ 2020

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la volonté et surtout la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous exprimons nos remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

*Nous désirons exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à notre encadreur, **M. Benkherara Salah** Maître de Conférence au département de Biologie, Université de Ghardaïa, d'avoir accepté de diriger ce travail. Nous le remercions aussi pour sa gentillesse, ces directives et conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.*

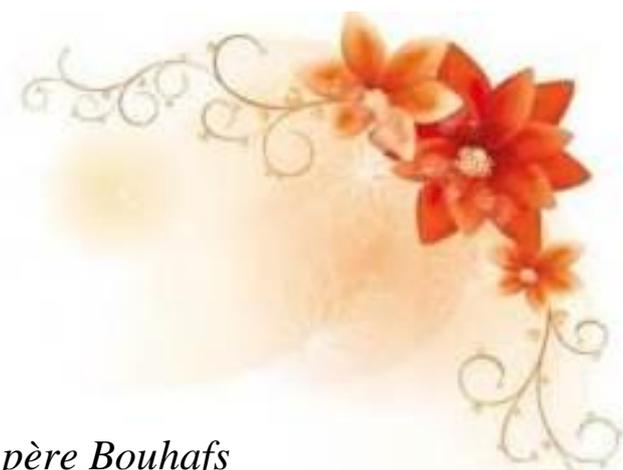
Nos remerciements s'adressent à Monsieur KRAIMAT Mohamed d'avoir accepté de présider le jury et Monsieur BELHACHEMI Mohamed Habib pour avoir accepté d'examiner Notre travail.

Nous remercions aussi tous les ingénieurs, techniciens et administrateurs du département de Biologie, Université de Ghardaïa qui nous ont aidé dans ce travail ; et tous les membres du laboratoire de biochimie de l'Université de Ghardaïa pour nous avoir permis d'effectuer les différents tests et analyses et pour avoir mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires à la réalisation de notre travail.

Nous voudrions aussi exprimer notre gratitude et nos remerciements à Monsieur Bachir Ben Salah Existé pendant le travail en laboratoire de biochimie, département de Biologie, Université de Ghardaïa et mes collègues doctorants : Darem Sabrina et Araba Fatna .Pour leurs orientations, leurs conseils et leurs disponibilités tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail





Dédicaces

*Merci ALLAH...
Je dédie ce travail*

*A ma mère Bakhta et à mon père Bouhafs
Depuis mes premiers pas à l'école, vous ne vous êtes jamais laissé de
me relater l'importance des études. Votre affection et votre amour
sans limite m'ont accompagnée tout au long de la réalisation de ce
travail. Vos sacrifices consentis m'ont permis d'atteindre cette étape
de ma vie.*

*Que Dieu vous garde longtemps près de nous
Mes frères Saddek et Yassine, auxquels je souhaite une très bonne
continuité et réussite dans la vie.*

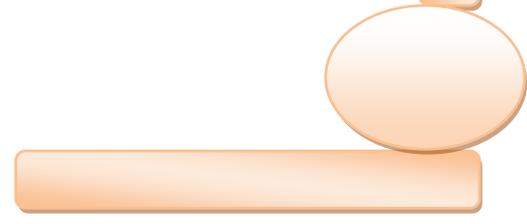
*A la mémoire de mes grands-parents.
A mes chères grandes mères, pour l'amour qu'elles m'apportent et
leur soutien.*

*A tous mes oncles et tantes, cousins et cousines, à toute la famille
Bahaz*

*A Ma chère binôme en mémoire djihad et mes chères amies Samira et
Sabrine.*

*A tous mes amies et mes collègues de la promotion 2019/2020...
A tous qui me connaisse de près ou de loin.*

KARIMA





Dédicaces

Merci ALLAH...

Je dédie ce travail

Je dédie ce travail

A mes chers parents, de leur confiance, encouragement et de leur sacrifice durant toute ma vie je souhaite que ce travail soit le fruit de leurs efforts... que Dieu le tout puissant vous accorde son paradis éternel (amin).

A ma grand-père et grand-mère

À mes frères Abdelhadi, Abdeljalil, Anass Abdelmoumen.

À mes sœurs Zineb, Naceira, Halima et Hayat

À tous les membres de ma famille MEHAYA et MEZZI

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Aux personnes qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mes études à l'université, mon binôme

KARIMA

À mes chères amies, Assia, Iman, Mariem, Samira, Lamia ...

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

A toute la promotion de biochimie 2019/2020.

Et enfin A tous ceux qui aiment de près ou de loin

Djihad



Table des matières

Résumé

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	5
2.1. Matériel végétal.....	5
2.1.1. Site de prélèvement.....	5
2.1.2. Echantillonnage.....	7
2.1.3. Séchage.....	7
2.2. Méthodes d'analyses.....	8
2.2.1. Tests biochimiques préliminaires.....	8
2.2.1.1. Recherche des Tanins.....	8
2.2.1.2. Recherche des Flavonoïdes.....	8
2.2.1.3. Recherche des Saponosides.....	9
2.2.1.4. Recherche des Anthocyanes.....	9
2.2.1.5. Recherche des Leuco anthocyanes.....	9
2.2.1.6. Recherche des Alcaloïdes.....	9
2.2.1.7. Recherche des Terpènes.....	9
2.2.1.8. Recherche des Stérols.....	9
2.2.2. Préparation des extraits bruts de l'espèce <i>Peganum harmala</i>	10
2.2.3. Dosage des polyphénols totaux.....	10
2.2.4. Pouvoir antioxydant.....	10
2.2.4.1. Test de DPPH : Piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	11
2.2.4.2. Test de l'ABTS : Capacité antioxydante en équivalent trolox ou activité antioxydante totale AAT.....	11
3. RESULTATS ET DISCUSSION.....	14
3.1. Tests biochimiques préliminaires.....	14
3.2. Rendements en extraits bruts aqueux.....	15
3.3. Teneur en polyphénols totaux.....	16
3.4. Pouvoir antioxydant.....	18

3.4.1. Test de DPPH : Effet inhibiteur du radical libre stable DPPH (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle).....	18
3.4.2. Test de l'ABTS.....	20
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	25
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	27

RÉSUMÉ

Cette étude porte sur la valorisation d'une espèce végétale saharienne : *Peganum harmala* L. ou Harmel, très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques traditionnelles au Sahara septentrional algérien et cela à travers l'étude de l'aspect phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique antioxydante des extraits bruts aqueux de la partie aérienne et souterraine. Tout d'abord, nous avons procédé à un criblage phytochimique des principaux composés du métabolisme secondaire de la plante qui pousse spontanément dans deux sites différents Metlili et Dhayet Bendhahoua de la région de Ghardaia. Des extraits bruts aqueux sont obtenus par macération à froid et leurs rendements sont déterminés. Les teneurs en polyphénols totaux dans ses extraits bruts et leur potentiel antioxydant vis-à-vis des radicaux libres sont ensuite évalués.

Les résultats obtenus montrent que l'espèce végétale de Metlili est riche en extrait brut aqueux avec 44.6 % dans sa partie aérienne et 38.54 % dans sa partie souterraine. En plus, les extraits bruts de l'espèce de ce site s'avèrent les plus riches en composés polyphénoliques notamment dans la partie souterraine avec une teneur maximale de l'ordre de 175.05 ± 1.20 mg EAG/g MVS.

D'autre part, les extraits bruts de la partie souterraine de cette espèce des deux sites étudiés de la région de Ghardaia présentent les plus forts pouvoirs inhibiteurs du radical libre DPPH avec des valeurs moyennes d'IC50 faibles et un peu proches variant entre 1.3 et 1.4 mg/ mL. Quant à l'ABTS, des résultats différents par rapport au DPPH sont enregistrés. Les extraits bruts de la partie aérienne de l'espèce des sites concernés présentent les meilleurs pouvoirs inhibiteurs avec des valeurs d'IC50 plus faibles. Cependant, ces pouvoirs inhibiteurs des extraits bruts isolés s'avèrent quand même inférieurs par rapport à celui du trolox qui s'est montré très efficace et ayant une très grande capacité dans le piégeage et la réduction des radicaux libres.

En bref, l'espèce *Peganum harmala* de Metlili est meilleure que celle de Dhayet Bendhahoua du point de vue biochimique et biologique et plus particulièrement dans sa partie souterraine.

Mots clés : *Peganum harmala*, Ghardaia, Phytochimie, Extrait brut, Pouvoir antioxydant.

Liste des tableaux

Tableau n°	Titre	Page
Tableau 01	Tableau récapitulatif des principaux métabolites secondaires de l'espèce <i>Peganum harmala</i> .	16
Tableau 02	Rendement (%) en extraits bruts et teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g MVS) de l'espèce <i>Peganum harmala</i> de la région de Ghardaia.	17
Tableau 03	Résultats globaux du pouvoir antioxydant (test de DPPH) des extraits bruts aqueux de l'espèce <i>Peganum harmala</i> .	23
Tableau 04	Résultats globaux du pouvoir antioxydant (test de l'ABTS) des extraits bruts aqueux de l'espèce <i>Peganum harmala</i> .	25

Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
Figure 01	Situation géographique des sites de prélèvement et limites administratives de la région de Ghardaïa.	05
Figure 02	Vue générale de l'espèce <i>Peganum harmala</i> L. des régions Metlili (A) et Dhayet Bendhahoua (B).	08
Figure 03	Vue générale des parties aériennes (A, B) et parties souterraines (A', B') broyées de <i>Peganum harmala</i> des régions Metlili et Dhayet Bendhahoua.	09
Figure 04	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	19
Figure 05	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse Trolox (pour DPPH).	21
Figure 06	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts de l'espèce <i>Peganum harmala</i> de la région de Ghardaïa.	22
Figure 07	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour ABTS).	23
Figure 08	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de l'ABTS) des extraits bruts de l'espèce <i>Peganum harmala</i> de la région de Ghardaïa.	24

Liste des abréviations

AAT	Activité Antioxydante Totale.
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6 sulphonique).
CAET	Capacité Antioxydante en Equivalent Trolox.
DPPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl.
EBA	Extrait Brut Aqueux.
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
FeCl ₃	Chlorure Ferrique.
H ₂ SO ₄	Acide Sulfurique.
H ₃ PMO ₁₂ O ₄	Acide Phosphomolybdique.
HCl	Acide Chlorhydrique.
IC50	Concentration inhibitrice de 50%
MO ₈ O ₃	Molybdène.
MVS	Matière végétal sèche
Na ₂ CO ₃	Carbonate de Sodium.
NH	Groupement Amine.
OH	Groupement hydroxyle.
W ₈ O ₂₃	Bleu de tungstène.

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'origine du temps, l'homme s'est tourné vers les plantes pour diverses fins, notamment pour ses ressources alimentaires et pour traiter certaines maladies (Fuinel, 2002).

À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour prévenir les maladies ou pour les guérir. Du fait que dans chaque village quelqu'un possédait ses propres méthodes pour l'utilisation des plantes. Sélectionnées et testées, des plantes locales servaient à soigner des maux bénins, sous forme de tisane, de lotion ou d'onguent selon leur usage.

Aujourd'hui, on trouve plusieurs milliers de plantes qui sont utilisées à travers le monde. Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (Iserin, 2001). Les propriétés thérapeutiques que possèdent ces plantes sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de molécules biologiquement actives appelées métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins, saponosides, alcaloïdes, terpènes et stérols ...etc.). Ces molécules possèdent des activités biologiques diverses et sont utilisées comme des agents préventifs ou curatifs ou à effets anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, anti-carcinogènes, mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (Bruneton, 2009). Ceci, vient du fait que le stress oxydatif est impliqué dans un grand nombre de maladies humaines allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et même le diabète (Gardes-Albert *et al.*, 2003 ; Lacolley *et al.*, 2008 ; Rezzagui, 2012).

Ce stress oxydatif est dû probablement à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, ou à une production excessive de radicaux dérivés de l'oxygène. Il reflète un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et ce qu'on appelle oxydants, et leur élimination par les antioxydants cellulaires (Goudable et Favier, 1997 ; Gardes-Albert *et al.*, 2003 ; Saadoun et Bellar, 2018).

Actuellement, les scientifiques favorisent le développement d'une nouvelle génération de substances antioxydantes d'origine végétale pour remplacer celles de synthèse. De même, un certain nombre de secteurs industriels se tournent de nouveau vers l'incorporation de ces molécules aux caractéristiques biologiques intéressantes dans leurs formulations. A cet effet, dans de nombreux pays, des études scientifiques s'intéressent à la phytochimie et aux activités des extraits de plantes, dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des produits naturels (Taviano *et al.*, 2013).

Dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore comme l'Algérie, la valorisation de la filière des plantes aromatiques et médicinales est devenue indispensable. Le Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, possède dans sa partie Nord, le Sahara septentrional, une végétation diffuse et clairsemée (Beddou, 2015). L'état de la flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'homme et les plantes méritent une attention particulière. Certaines plantes possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal (Jean et Jiri, 1983).

Dans ce contexte-là, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale très répandue dans les régions arides et semi arides du territoire algérien et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques. Il s'agit de *Peganum harmala* L.

Peganum harmala L. est une plante de la famille des Zygophyllaceae (Ozenda, 1991). Cette famille comprend près de 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous-familles et 27 genres. Elles sont largement distribuées surtout dans les zones arides et sèches méditerranéennes et largement utilisées en médecine traditionnelle (Tahrouch *et al*, 1998 ; Asgarpanah *et Ramezanloo*, 2012).

En Algérie, cette espèce est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central. Elle est réputée pour les terrains sableux, dans les lits d'oueds et à l'intérieur des agglomérations (Ozenda, 1991). Le genre *Peganum* tient son nom du grec et est attribué aux espèces de la Rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel (Guergour, 2018).

Du point de vue botanique, *Peganum harmala* est une plante vivace, herbacée, glabre, buissonnante qui pousse à une hauteur maximale d'un mètre, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la Rue (Iserin, 2001). Elle est caractérisée par des tiges vertes rampantes et veules, dressées, très rameuses disparaissent en hiver, des feuilles alternes, découpées en lanières étroites (Braz et Hanchour, 2018). Les fleurs solitaires sont isolées aux aisselles des feuilles, de 1-2 cm, de couleur vert blanchâtre et sont formées de cinq sépales verts, linéaires, persistants qui dépassent la corolle, cinq pétales elliptiques, dix à quinze étamines à filet très élargi dans leur partie inférieure, l'ovaire, globuleux, repose sur un disque charnu et aboutit à un fruit qui est une capsule sphérique, à trois loges, de 6 à 8 mm déprimée au sommet, entourée de sépales persistants et s'ouvrant par 3 ou 4 valves pour libérer les graines (Narayana *et al.*, 2001).

Notre objectif est de vérifier la spécificité de cette espèce végétale et cela à travers une investigation phytochimique et une évaluation de l'activité biologique notamment l'activité antioxydante des extraits bruts aqueux de sa partie aérienne et souterraine au niveau des sites Metlili et Dhayet Bendhahoua de la région de Ghardaia au sud algérien.

L'utilisation massive de cette espèce par les populations est-elle justifiée ?

Est-elle riche en substances naturelles phytothérapeutiques ?

Pourrait-elle être un antioxydant naturel efficace vis-à-vis des maladies dues à certains radicaux libres et que la médecine moderne malgré son large panel de produits chimiques synthétiques (antioxydants) ne peut pas guérir ?

C'est ce que nous efforcerons de démontrer à travers cette étude dans le cadre de ce mémoire.

Cette étude consistera en un ensemble de tests expérimentaux portant sur les deux parties aérienne et souterraine de l'espèce *Peganum harmala*. Elle est initiée par un criblage phytochimique pour la mise en évidence des principales substances bioactives de cette espèce. Des extractions aqueuses seront faites par la suite. Nous déterminerons ensuite les rendements des extraits bruts aqueux puis nous procéderons aux dosages des polyphénols totaux. Ensuite, nous essayerons d'évaluer le pouvoir antioxydant *in vitro* de ces extraits bruts face aux radicaux libres DPPH et ABTS et nous terminerons enfin par la discussion, la conclusion et les perspectives.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans la réalisation de ce travail est une espèce végétale spontanée, de la famille des Zygophyllacées : Harmal ou *Peganum harmala*. Les parties aériennes et souterraines de cette espèce sont mises à macérer pour la préparation des extraits bruts aqueux. Les extraits obtenus sont utilisés pour l'évaluation *in vitro* de leur pouvoir thérapeutique antioxydant.

2.1.1. Site de prélèvement

Les échantillons des parties aériennes et souterraines de notre espèce végétale *Peganum harmala* L. sont prélevés à partir de deux sites différents de la région de Ghardaïa. Le premier est Metlili, situé à 40 km au sud de Ghardaïa, l'autre est DhayetBendhahoua, se trouve à 10 km au nord-ouest de la région de Ghardaïa.

Ces échantillons sont déposés, séchés à l'air libre puis broyés au sein du Laboratoire de Recherche du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre à l'Université de Ghardaïa (fig 01).

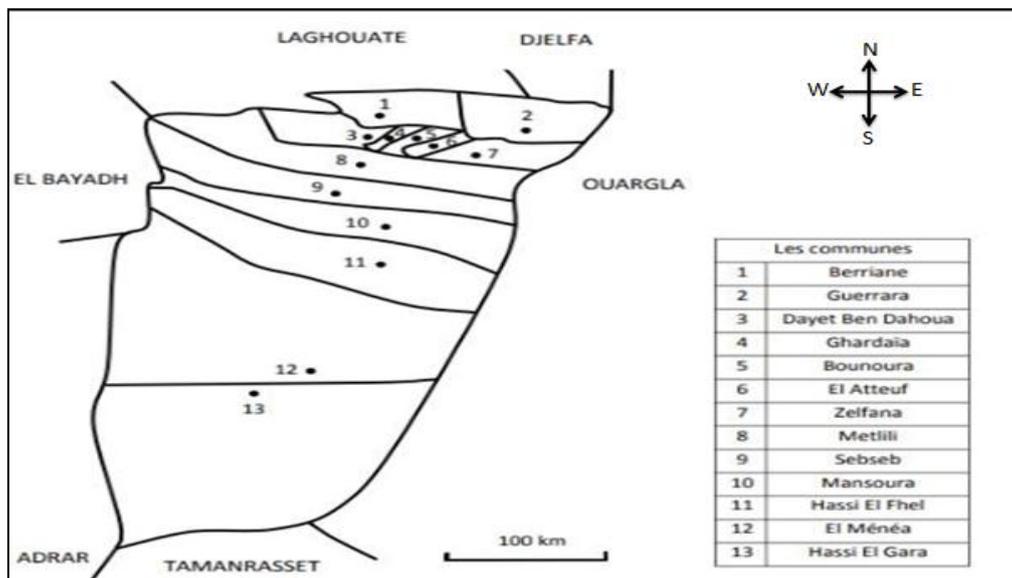


Figure 01 : Situation géographique des sites de prélèvement et limites administratives de la région de Ghardaïa (Tahraoui, 2011).

La région de Ghardaïa est située au centre de la région nord du Sahara algérien et au sud de la ville d'Alger, à une distance d'environ 620 km. Elle occupe une superficie de 84660 km².

Géographiquement, ce site est limité ; au nord par la région de Laghouat, au sud par Tamanrasset, à l'est par la région d'Ouargla et à l'ouest par la région d'El-Bayadh (ANDI, 2013 ; ANIRF, 2011). Ses coordonnées sont : 32° 26' de latitude Nord et 3° 46' de longitude Est (Adouane *et al.*, 2014).

Le climat de la région de Ghardaïa est typiquement Saharien, se caractérise par une saison chaude et sèche avec une grande différence entre les températures estivales et hivernales. Nous enregistrons une moyenne annuelle de 25°C avec une moyenne de précipitations de 60 mm/an (Chenini et Chabou, 2012).

Cette wilaya a une série de couches aquifères exploitée par pompage à des profondeurs importantes, dépassant parfois les 120 m selon la région (Chenini et Chabou, 2012 ; ANDI, 2013).

La flore saharienne apparait comme très pauvre si l'on compare le petit nombre des espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre, et la wilaya de Ghardaia fait partie du Sahara septentrional mais elle n'est pas dépourvue de végétation car elle se caractérise par la présence des oasis sur ses principaux oueds, y compris la vallée du M'Zab, qui comprend en elle-même un groupe de cinq oasis. Bien que la culture du palmier dattier soit dominante, l'agriculture à Ghardaia est relativement diversifiée. Il y a la culture des légumes, arbres fruitiers, céréales (orge et blé dur), en plus de la culture de l'arachide. Cette région contient également des plantes spontanées à caractère médicinal appartenant à diverses familles telles que les Lamiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Chenopodiaceae, etc... (Ozenda, 1977 ; Kemassi *et al.*, 2014 ; Bensaha et Arbouch, 2016).

Quant aux sites de prélèvement Metlili et Dhayet Bendhahoua, la ville de Metlili, qui se situe à 40 km au sud de la région de Ghardaïa, elle se localise à 32° 16 de latitude Nord et de 03° 38 de longitude Est. Cette ville couvre une superficie de 7300 km² et se caractérise par un climat désertique sec et chaud avec une pluviométrie faible et irrégulière (70 mm). La température maximale peut atteindre 50°C pendant l'été avec une moyenne annuelle de l'ordre de 22°C. Elle est limitée au nord par la commune de Dhayet Bendhahoua, Bounoura, El-Atteuf et Zelfana, au sud par la commune de Sebseb, à l'Est par la région d'Ouargla et à l'ouest par la région d'El-Bayadh (Benesseddik, 2018).

Pour ce qui est des ressources en eaux, le bassin de Metlili se caractérise comme étant le pays du sud le plus pauvre en eaux superficielles à l'exception des crues d'Oued Metlili.

Les eaux souterraines ; les principales ressources en eau de la commune sont d'origine souterraine. Elles sont contenues dans deux types d'aquifères ; les nappes phréatiques superficielles d'inféro-flux et la nappe profonde captive du Continental Intercalaire dite albienne (Dahou, 2013). La région de Metlili connue par sa palmeraie, qui couvre une grande partie de la superficie de la région. Le couvert végétal est pauvre. La structure et la nature du sol ne sont pas favorables à l'existence d'une flore naturelle riche. La diversité importante de la végétation existante dans la région est concentrée dans les lits des oueds (DPAT, 2009).

Concernant Dhayet Bendhahoua qui se trouve à 10 km au Nord-ouest de la région de Ghardaia, elle se localise à 32° 32 de latitude Nord et de 03° 36 de longitude Est. Cette région couvre une superficie égale à 1880 km² et se caractérise par un climat désertique aussi, sec et chaud, avec une pluviométrie plus ou moins faible et irrégulière. Elle est limitée au nord par la commune de Hassi R'mel et Bounoura, au sud par Ghardaia, à l'Est par la commune de Berriane et à l'ouest par la commune de Metlili.

Les principales ressources en eau de la commune de Dhayet Bendhahoua sont d'origine souterraine et superficielle qui sont représentés dans les oueds Elabiad, Eladira et Aregdan. Cette région se caractérise par la prédominance des champs de cultures à savoir la culture des légumes, arbres fruitiers et la culture du palmier dattier.

2.1.2. Echantillonnage

Pour la réalisation de ce travail, nous avons basé sur une méthode d'échantillonnage simple, qui consiste à prélever d'une manière aléatoire de divers points du même pied de la plante considérée des feuilles, fruits, fleurs saines, graines ou même des tiges ne présentant aucune lésion de même forme et de tailles différentes en fonction bien sûr de leurs âges. Autrement dit, et dans notre étude, nous avons procédé à l'échantillonnage de quelque pied de notre espèce *Peganum harmala* L. (parties aériennes et parties souterraines) jeunes et adultes afin d'éviter les risques de disparition de l'espèce végétale.

Une vue générale des échantillons des deux régions étudiées sont présentées dans la (fig. 02).



Figure 02: Vue générale de l'espèce *Peganum harmala* des régions Metlili (A)
Et Dhayet Bendhahoua (B) (Originale, 2020).

Les prélèvements sont réalisés tôt le matin et au moment de la Floraison de la plante à la fin du mois de mai et par temps sec pour éviter toutes altérations des huiles ou tout autre produit du métabolisme secondaire. Le matériel végétal est placé dans des étuis en papier stérile puis transporté immédiatement au laboratoire en vue de l'analyse. Les parties prélevées sont mises à sécher pour servir aux analyses biochimiques et l'extraction des principes actifs (préparation des extraits bruts aqueux).

2.1.3. Séchage et broyage

Sécher une plante n'est en fait rien d'autre que lui retirer progressivement son humidité. Il sera souvent nécessaire, avant de procéder à ce séchage, de passer les parties récoltées rapidement sous un filet d'eau, pour éliminer la poussière, les impuretés, les particules de terre, etc. Les parties aériennes et souterraines récoltées sont étendues en couches minces, à bonne aération (température ambiante), en courant d'air, sur une toile blanche pendant trois semaines et en les retournant de temps à autre. Le séchage doit se prolonger jusqu'à l'obtention d'une consistance tout à fait friable, facile à briser lorsqu'on les courbe. Une dessiccation excessive fait cependant tomber les plantes ou les organes en poussière et entraîne la perte de leurs matières actives. Dans le cas contraire, si l'humidité résiduelle reste élevée, on court toujours le risque de les voir pourrir ou moisir lors de la conservation.

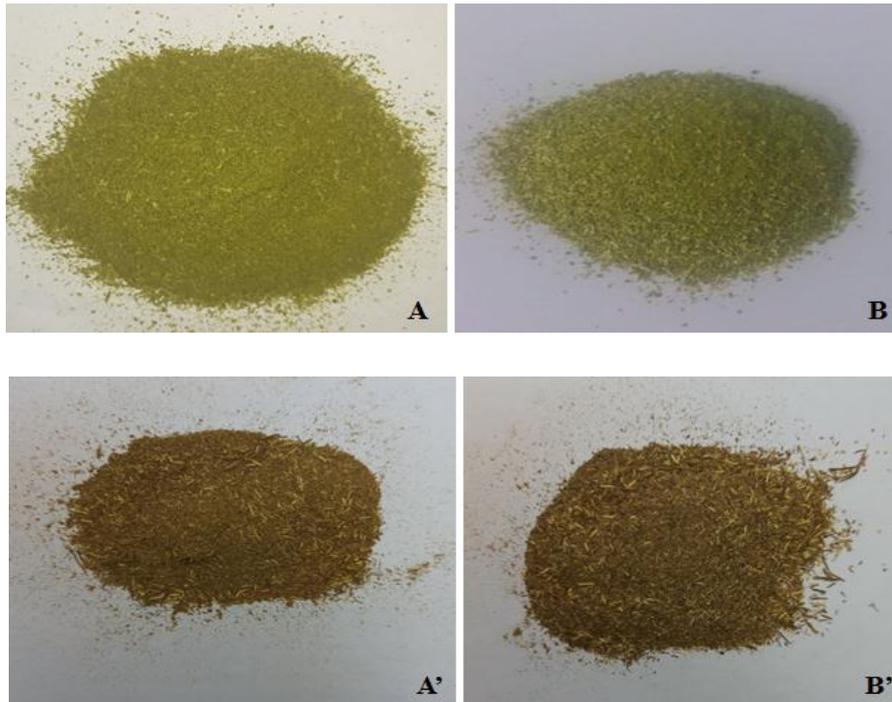


Figure 03: Vue générale des parties aériennes (A, B) et parties souterraines (A', B') broyées de *Peganum harmala* des régions Metlili et Dhayet Bendhahoua (Originale, 2020).

2.2. Méthodes d'analyses

2.2.1. Tests biochimiques préliminaires

Nous avons réalisé un screening phytochimique dans le but de connaître les constituants majeurs de l'espèce végétale *Peganum harmala*. Les tests sont effectués uniquement sur la partie aérienne.

2.2.1.1. Recherche des Tanins :

Selon Solfo, 1973 on prend 5 mL de l'infusé auxquels on ajoute 1 mL de la solution de Chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% par goutte à goutte. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et bleu noirâtre pour les tanins galliques.

2.2.1.2. Recherche des Flavonoïdes :

La mise en évidence de la présence des flavonoïdes est effectuée en suivant la méthode de Harborne, 1973 par la réaction à la cyanidine avec de légères modifications à propos des volumes des solutions de révélation ajoutées. 10 g de drogue végétale sont macérés dans 150 mL d'HCl à 1 % pendant 24 Heures, après filtration de la solution obtenue ; 3mL d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, acide chlorhydrique concentré (V/V/V) sont mis dans un tube à essai avec 1mL d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium.

L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

2.2.1.3. Recherche des Saponosides :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec et broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 mL d'eau. On porte à ébullition pendant 30 mn. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 mL. A partir de cette solution, on prépare dix tubes dans lesquels on met 1, 2, 3, ... 10 mL. Le volume final étant de nouveau réajusté à 10 mL avec de l'eau distillée. Les tubes sont agités fortement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le X^e tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm) dans le X}^{\text{e}} \text{ tube} \times 5}{X/100}$$

X : C'est l'ordre de tube qui présente une mousse de l'ordre de 1 cm de hauteur.

La présence des saponosides dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dohou *et al.*, 2003).

2.2.1.4. Recherche des Anthocyanes :

D'après Solfo (1973), la recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH : on ajoute quelques gouttes d'HCl puis quelques gouttes de NH₄OH, le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.

2.2.1.5. Recherche des Leuco anthocyanes :

A 5 mL de l'infusé, sont mélangés 4 mL d'alcool chlorhydrique (éthanol/ HCl pur 3/1 V/V). Après chauffage au bain marie à 50° C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leuco anthocyanes (Solfo, 1973).

2.2.1.6. Recherche des Alcaloïdes :

Après une macération de 5 g de la partie aérienne de notre plante dans 50 mL d'HCl à 1%, le mélange est filtré puis soumis à l'action du réactif de Mayer ou Dragendorff (quelques gouttes). L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (Bouquet, 1972).

2.2.1.7. Recherche des Terpènes :

La recherche des terpènes est effectuée par le test Salkowski : A 5 mL d'infusé, 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré sont soigneusement ajoutés. L'apparition d'un anneau brun rougeâtre à l'interphase indique la présence des terpènes (Rimjhim *et al.*, 2014).

2.2.1.8. Recherche des Stéroïdes :

Les stéroïdes sont mis en évidence par le test Liebermann-Burchard : un volume de 2 mL de l'infusé est mélangé avec 2 mL de chloroforme et 1 mL d'anhydride acétique. Ensuite 2 gouttes d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré sont ajoutées. L'apparition d'une coloration rouge, qui vire en bleue et qui devient par la suite verte indique la présence des stéroïdes (Rimjhim *et al.*, 2014).

2.2.2. Préparation des extraits bruts de l'espèce *Peganum harmala*

Cette étude est réalisée uniquement avec des extraits bruts aqueux de la partie aérienne et la partie souterraine de notre espèce végétale *Peganum harmala* des régions Metlili et Dhayet Bendhahoua.

L'extrait brut aqueux est préparé selon la méthode de Majhenic *et al.*, 2007 avec de légères modifications concernant le volume de solvant utilisé. 5g de poudre végétale sont dissous dans 50 mL au lieu de 75 mL d'eau distillée, sous agitation mécanique pendant 2 à 3 heures à une température ambiante. Après filtration et pour un meilleur épuisement de la plante, quatre autres extractions sont faites avec le même marc en utilisant le même volume d'eau distillée. Les filtrats ainsi obtenus sont évaporés à sec sous pression réduite à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est récupéré avec du méthanol et la solution de l'extrait est ensuite conservée à 4°C.

2.2.3. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits bruts obtenus des différentes parties utilisées est déterminée par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide

phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui est réduit, lors de l'oxydation des composés phénoliques en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_3).

L'absorption maximale est comprise entre 700 et 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006). Le dosage de ces polyphénols est effectué selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) avec de légères modifications concernant les volumes : 100 μ L de l'extrait végétal est mélangé avec 400 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après agitation puis incubation de 05 min, 500 μ l de solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5 %) est ajouté. Le mélange a été laissé au repos à l'obscurité et à température ambiante pendant 90 min avec agitation intermittente. L'absorbance de la solution résultante est mesurée à 765 nm contre un blanc.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/ g MVS). Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme étalon ou contrôle positif (Li *et al.*, 2007).

2.2.4. Pouvoir antioxydant

La capacité antioxydante des substances ou principes actifs des extraits de plante peut être évaluée soit *in vivo*, sur des organismes vivants, soit *in vitro* en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels *in vitro*, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux libres. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs : soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron (Prior *et al.*, 2005).

Dans notre cas, les tests d'évaluation du pouvoir antioxydant ont porté sur le piégeage du radical libre stable DPPH ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante totale AAT ou piégeage des radicaux libres ABTS.

2.2.4.1. Test de DPPH : Piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence des composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le

pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Parejo *et al.*, 2003).

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant des groupements SH, NH et OH (Salah *et al.*, 1995). Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong *et al.*, 2006 ; Hatzidimitriou *et al.*, 2007). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical libre DPPH.

Le pouvoir de piégeage ou d'inhibition des extraits obtenus de notre espèce végétale sur le radical libre DPPH est mesuré selon la méthode de Sanchez-Moreno *et al.*, 1998 et de Anton *et al.*, 2008 : Un volume de 50 µL de différentes concentrations de la solution de chaque extrait est ajouté à 950 µL de la solution méthanolique du DPPH 60 µM (0,025 g/L) fraîchement préparée. Des solutions d'un antioxydant de référence trolox sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes, la lecture des absorbances (DO) est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm contre un blanc (50 µL du méthanol avec 950 µL d'une solution méthanolique du DPPH).

Le pourcentage du piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A₁ : Absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait végétal).

A₂ : Absorbance en présence de l'extrait végétal.

2.2.4.2. Test de l'ABTS : Activité antioxydante totale AAT

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est un composé chimique utilisé notamment en biochimie dans l'étude de la cinétique de certaines enzymes. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes :

Au cours de la première étape, le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron (e⁻) à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence d'un antioxydant donneur

de H^\bullet , le radical d'azote concerné piège un H^\bullet , conduisant à l'ABTS- H^+ , ce qui entraîne la décoloration de la solution.

L'activité antioxydante totale (AAT) des extraits obtenus est évaluée selon la méthode de Re *et al.*, (1999) avec de légères modifications à propos des volumes. Selon Schlesier *et al.* (2002), Cette activité est exprimée par la Capacité Antioxydante en Equivalent Trolox (CAET) qui correspond à la capacité antioxydante d'une solution en unités d'équivalent trolox. Ainsi, plus la valeur de CAET est grande, plus l'activité antioxydante (AAT) est forte.

Le cation radical ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) a été produit en réagissant une solution mère d'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium (2,45 mM). Le mélange est laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 12 à 16 heures avant utilisation. Le radical était stable sous cette forme pendant plus de 2 jours lorsqu'il était protégé de la lumière et stocké à une température ambiante.

Pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale, la solution stock de l'ABTS $^{\bullet+}$ a été diluée avec de l'éthanol à une absorbance de 0.70 (± 0.02) à une longueur d'onde de 734 nm et équilibré à 30°C. Ensuite, un volume de 10 μ L des différentes concentrations des solutions à tester (extraits de la plante) a été mélangé avec 990 μ L de la solution stock de l'ABTS $^{\bullet+}$ diluée. Le blanc est obtenu en mélangeant 10 μ L d'éthanol absolu avec 990 μ L de la solution stock de l'ABTS $^{\bullet+}$. Le pouvoir inhibiteur ou de piégeage du radical ABTS $^{\bullet+}$ (% Inhibition) est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{734} \text{ blanc} - A_{734} \text{ extrait}) / A_{734} \text{ blanc}] \times 100$$

Où $A_{734} \text{ blanc}$ et $A_{734} \text{ extrait}$ sont les absorbances de la solution ABTS $^{\bullet+}$ à 734 nm avant et après addition des échantillons ou extraits de plante.

L'étalonnage est effectué avec des solutions stocks de trolox. Les valeurs enregistrées des concentrations inhibitrices (IC50), qui correspondent à la concentration de l'extrait végétal nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres DPPH et ABTS, sont exprimées en mg ou en μ g/ mL.

RESULTATS ET DISCUSSION

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Les analyses biochimiques et les tests biologiques effectués dans cette étude nous ont permis d'aboutir aux résultats suivants :

3.1. Tests biochimiques préliminaires

Les résultats obtenus des différents tests biochimiques préliminaires réalisés sur l'espèce végétale *Peganum harmala* sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 01: Tableau récapitulatif des principaux métabolites secondaires de l'espèce *Peganum harmala*.

Métabolite \ Région	Metlili	Dhayet Bendhahoua
Tanins catéchiques	(-)	(-)
Flavonoïdes	(+)	(+)
Saponosides	(+)	(+)
Anthocyanes	(+)	(+)
Leucoanthocyanes	(-)	(-)
Alcaloïdes	(+)	(+)
Terpènes	(+)	(+)
Stérols	(+)	(+)

(+) détecté, (-) non détecté.

De l'ensemble des résultats obtenus à travers les tests biochimiques préliminaires des principaux composés du métabolisme secondaire de la plante *Peganum harmala* (tab. 01), nous avons pu mettre en évidence la présence de six composés du métabolisme secondaire (flavonoïdes, saponosides, anthocyanes, alcaloïdes, terpènes et stérols) et l'absence de deux autres composés très importants : tanins catéchiques et leucoanthocyanes. La présence de ces composés du métabolisme secondaire plus particulièrement les composés phénoliques et les alcaloïdes pourrait d'une part, nous informer de la qualité biochimique supérieure de l'espèce *Peganum harmala* et d'autre part, justifier l'usage traditionnel massif de cette espèce par la population de Metlili et Dhayet Bendhahoua au niveau de la région de Ghardaia dans la partie Nord du Sahara septentrional Algérien.

Ces résultats sont en parfaite concordance avec ceux obtenus par (Kartal *et al.*, 2003; Agedilova *et al.*, 2006 ; Asilbekova, 2006 ; El Allagui *et al.*, 2006 ; Farouk *et al.*, 2009). Cependant, une différence est enregistrée par comparaison avec les résultats de (Guergour, 2018 ; Saadoun et Bellar, 2018 et Benbott *et al.*, 2013) qui ont démontré la présence des tanins catéchiques dans la partie aérienne de la même espèce de la région de Bordj BouArreridj, Biskra, Ain M'lila respectivement.

3.2. Rendements en extraits bruts aqueux

A partir des différentes extractions aqueuses de la poudre des différentes parties aérienne et souterraine de l'espèce étudiée des deux sites concernés de la région de Ghardaia, les rendements des différents extraits aqueux sont évalués en mg/ g de matière végétale sèche. Ces rendements sont par la suite exprimés en pourcentage selon la formule suivante :

$$R (\%) = (PEB / PMV) \times 100 \text{ où :}$$

R (%) : rendement en %.

PEB : poids de l'extrait brut.

PMV : poids de matière végétale sèche.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant (tab. 02) :

Tableau 02: Rendement (%) en extraits bruts et teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g MVS) de l'espèce *Peganum harmala* de la région de Ghardaia.

	Metlili		Dhayet Bendhahoua	
	EAq.PA	EAq.PS	EAq.PA	EAq.PS
Rendement	44.6	38.54	42	20.7
Polyphénols Totaux	149.04 ±1.37	175.05 ±1.20	174.11± 0.86	86.92 ±1.13

A partir de ces résultats (tab. 02), l'espèce *Peganum harmala* de Metlili semble être plus riche en extrait brut aqueux avec 44.6 % dans sa partie aérienne et 38.54 % dans sa partie souterraine. Concernant l'espèce de Dhayet Bendhahoua, un rendement plus ou moins similaire de l'ordre de 42 % en extrait brut est enregistré de sa partie aérienne. Cependant, la partie souterraine de la même espèce de Dhayet Bendhahoua n'a pu enregistrer qu'un rendement moyennement faible de l'ordre de 20.7 % en extrait brut aqueux. Cette différence dans les rendements en extraits bruts est liée probablement à la distribution inégale des

métabolites secondaires entre les différentes parties de la plante étudiée (Benhammou *et al.*, 2009).

D'une manière générale, la variabilité des résultats peuvent être liée aux solvants d'extraction, aux conditions environnementaux de la région, aux conditions de stockage, date de récolte, la variété et le degré de maturité et même la partie de la plante utilisée qui peut influencer le rendement (Stalikas, 2007 ; Abiazar, 2007).

Par ailleurs et en se référant aux résultats de Ghedadba *et al.*, (2014), les rendements des extraits bruts varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais aussi en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant ou mélange de solvants d'extraction. En effet, les solvants ou mélanges de solvants de polarité élevée tels que l'eau, le méthanol et le mélange hydrométhanolique sont dans la plupart des cas considérés comme des meilleures solutions d'extraction des composés naturels et surtout les polyphénols (Bekro *et al.*, 2007; Mohammedi et Atik, 2011). En plus de ces aspects quantitatifs, quelle que soit la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs. Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

3.3. Teneur en polyphénols totaux

A partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, établie avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.991$ (fig. 04), nous avons déterminé les valeurs des teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits bruts de notre plante *Peganum harmala* de Metlili et Dhayet Bendhahoua au niveau de la région de Ghardaia au Sahara septentrional Algérien. Ces valeurs sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/ g MVS). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau précédent (tab. 02).

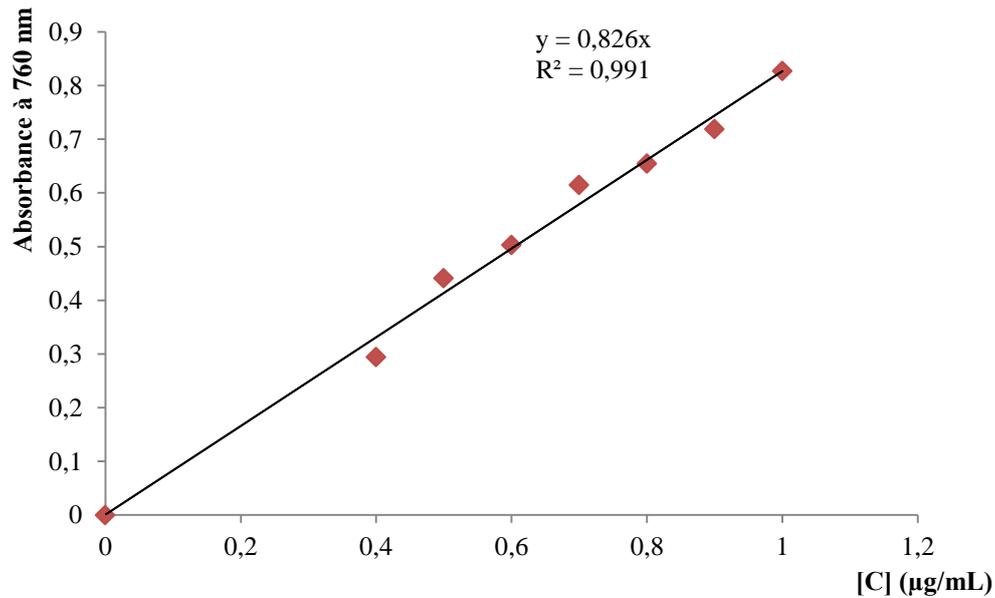


Figure 04: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

De l'ensemble des résultats obtenus, les extraits bruts aqueux de l'espèce végétale *Peganum harmala* de Metlili s'avèrent les plus riches en composés polyphénoliques notamment dans la partie souterraine avec une teneur maximale de l'ordre de 175.05 ± 1.20 mg EAG/g MVS. Les parties aériennes de notre espèce végétale des deux sites étudiés viennent en deuxième position avec des teneurs élevées en polyphénols totaux et plus ou moins similaires variant entre 149 et 174 mg EAG/ g MVS. Cependant, la partie souterraine de l'espèce de Dhayet Bendhahoua s'est avérée moins riche en polyphénols totaux avec une teneur plus ou moins faible de l'ordre de 86.92 ± 1.13 mg EAG/g MVS. De ce fait, les teneurs élevées que nous avons enregistrés en polyphénols totaux dans les parties aérienne et souterraine de l'espèce *Peganum harmala* des deux sites concernés pourraient justifier l'utilisation massive de cette espèce végétale par la population de la région de Ghardaia au Sahara septentrional Algérien.

En bref, l'espèce *Peganum harmala* de Metlili est meilleure que celle de Dhayet Bendhahoua du point de vue richesse en composés polyphénoliques et plus particulièrement dans sa partie souterraine.

Par comparaison avec le peu des résultats des travaux antérieurs que nous avons trouvé, les valeurs enregistrées sont meilleures que celles obtenues par Saadoun et Bellar, (2018) dont la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de la partie aérienne de l'espèce *Peganum harmala* de la région de Biskra varie entre $7,7 \pm 0,45$ et $71,62 \pm 9,96$ mg EAG/g MVS. De même, Akhtar, (2018) et dans ses travaux de recherche sur la même espèce végétale qui a fait l'objet de notre étude, a montré une faible teneur en polyphénols totaux ne dépassant pas 32.4

mg EAG/g MVS dans les extraits bruts de la partie aérienne de l'espèce de la région de Pakistan (Mainwali).

En bref, Très peu de recherches ont été publiées sur la teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits de l'espèce en question. De ce fait, il est devenu difficile, voire impossible de faire une large comparaison avec des travaux antérieurs.

En effet, et à partir des valeurs des teneurs enregistrées, nous pouvons conclure qu'une teneur élevée en polyphénols totaux est certainement liée à la grande solubilité des composés phénoliques dans les solvants polaires (Ghedadba *et al.*, 2014).

En général, cette différence dans les résultats obtenus peut être liée d'une part, aux diverses conditions expérimentales (polarité des solvants d'extraction, quantité de matière végétale, techniques d'extraction) (Green, 2004 ; Colin-henrion, 2008 ; El Hadrami et Al-khayri, 2012 ; Benkherara et Bordjiba, 2018) et à la composition en fractions phénoliques (Hayouni *et al.*, 2007) et d'autre part aux variations environnementales édaphoclimatiques (Ksouri *et al.*, 2008 ; Park et Cha, 2003 ; Belyagoubi-Benhammou, 2014).

3.4. Pouvoir antioxydant

Les valeurs moyennes des concentrations inhibitrices (IC50) des extraits bruts aqueux de la partie aérienne et souterraine de l'espèce végétale *Peganum harmala* de Metlili et Dhayet Bendhahoua de la région de Ghardaia au Sahara septentrional Algérien, sont mesurées afin d'évaluer leur pouvoir inhibiteur face aux divers radicaux libres.

Les valeurs des IC50 sont inversement proportionnelles au pouvoir antioxydant (taux d'inhibition I%) d'un extrait végétal, car elle reflète la concentration d'un antioxydant exprimée en $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou en mg/mL nécessaire pour piéger ou neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre existant dans le milieu réactionnel. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un extrait est forte. Les valeurs d'IC50 du trolox utilisé comme antioxydant de synthèse (référence) dans cette étude sont également évaluées.

3.4.1. Test de DPPH : Effet inhibiteur du radical libre DPPH

De l'ensemble des courbes des extraits bruts aqueux de notre espèce végétale (fig. 06) et de la courbe d'étalonnage du produit de référence (trolox) (fig. 05) et à partir des équations de régression linéaire, nous avons pu calculer les différentes valeurs moyennes d'IC50 du pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical libre stable DPPH. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tab. 03).

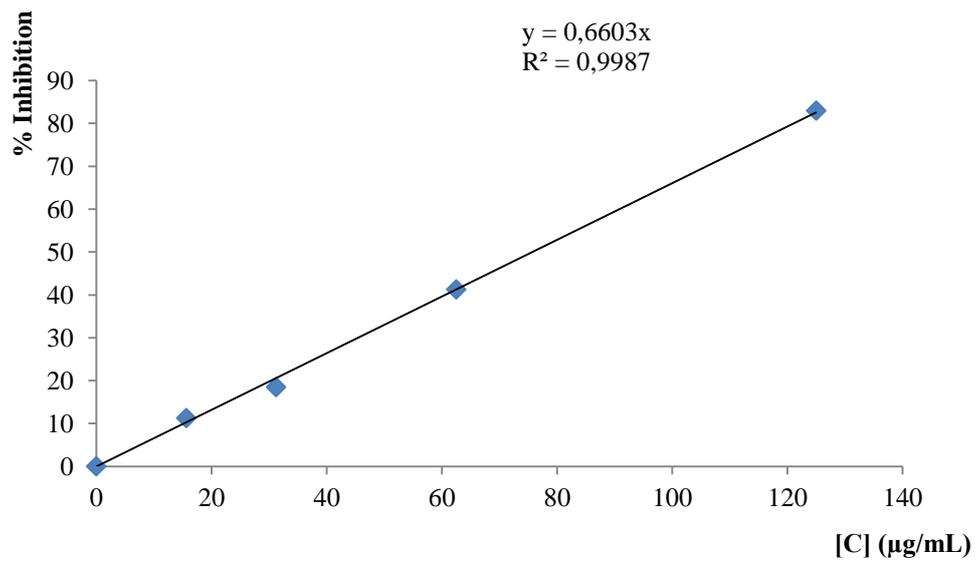


Figure 05: Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse Trolox (pour DPPH).

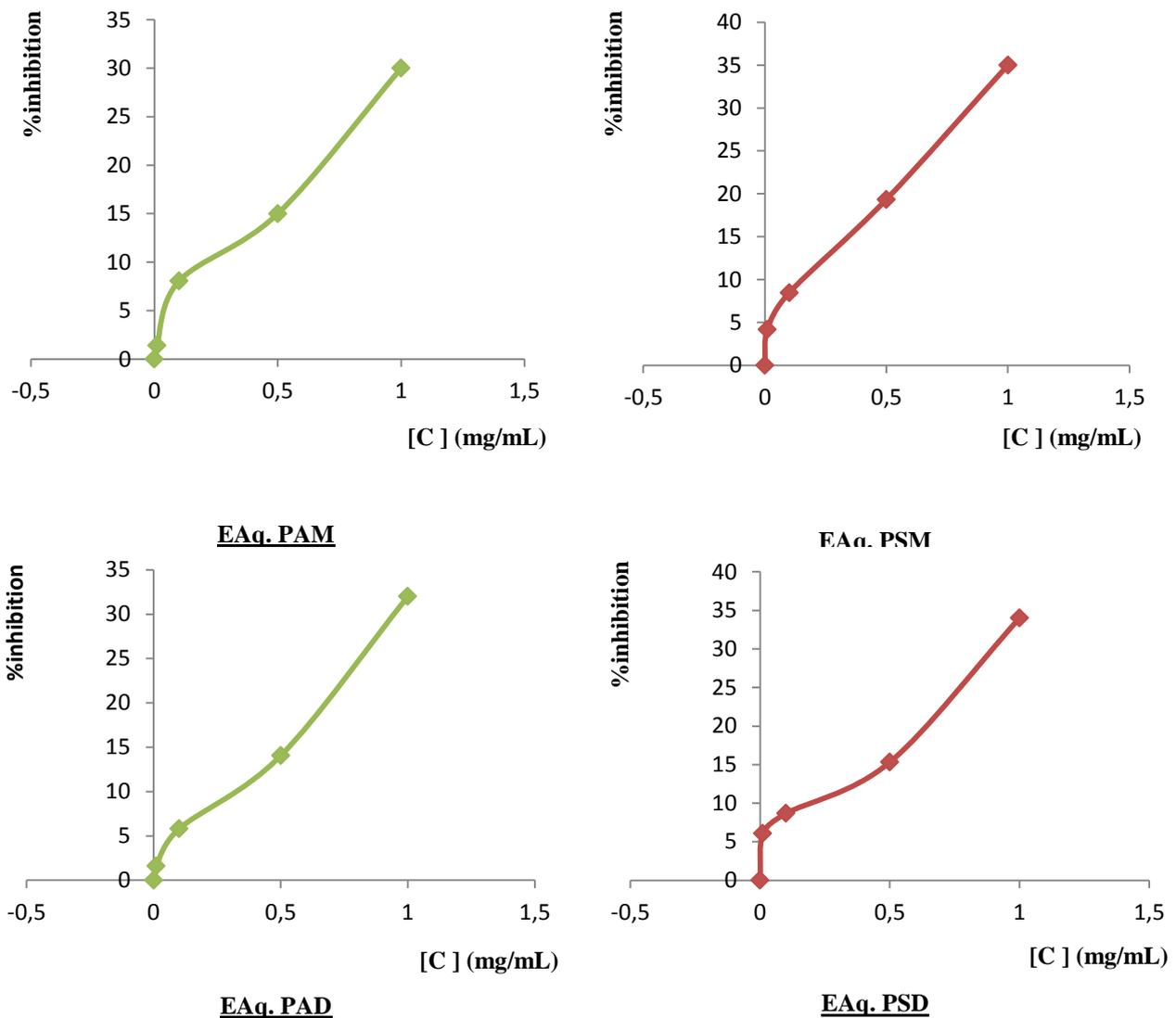


Figure 06: Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts de l'espèce *Pegalum harmala* de la région de Ghardaia.

(EAq: extrait aqueux, PA: Partie aérienne, PS: Partie souterraine, M: Metlili, D: Dhayet Bendhahoua)

D'une manière générale, les extraits bruts aqueux de la partie souterraine de l'espèce *Pegalum harmala* des deux sites étudiés de la région de Ghardaia présentent les plus forts pouvoirs inhibiteurs du radical libre DPPH avec des valeurs moyennes d'IC50 plus ou moins faibles et un peu proches variant entre 1.3 et 1.4 mg/ mL. Quant à la partie aérienne, les extraits bruts de l'espèce des deux sites étudiés présentent une similitude dans les résultats obtenus. Autrement dit, la même valeur moyenne d'IC50 est enregistrée vis-à-vis du radical libre DPPH en présence des extraits bruts de la partie aérienne de notre espèce végétale et par conséquent des pouvoirs inhibiteurs identiques sont obtenus. Cependant, ces pouvoirs inhibiteurs des extraits bruts isolés s'avèrent quand même inférieurs par rapport à celui du

trolox qui s'est montré très efficace (0.075 ± 0.001 mg/ mL) et ayant une très grande capacité dans la réduction du radical libre DPPH.

Tableau 03: Résultats globaux du pouvoir antioxydant (test de DPPH) des extraits bruts aqueux de l'espèce *Peganum harmala*.

	Metlili		Dhayet Bendhahoua		Trolox
	EAq.PA	EAq.PS	EAq.PA	EAq.PS	
IC50 (mg/ mL)	1.66 ± 0.022	1.386 ± 0.004	1.635 ± 0.063	1.469 ± 0.015	0.075 ± 0.001

3.4.2. Test de l'ABTS

De même, et à partir des équations de régression de la courbe d'étalonnage du trolox (fig. 07) et celles des courbes des extraits bruts des parties aérienne et souterraine de l'espèce végétale étudiée des deux sites concernées de la région de Ghardaia (fig. 08), les différentes valeurs moyennes d'IC50 de la capacité antioxydante face aux radicaux libres ABTS ou activité antioxydante totale AAT, sont déterminées. Les résultats globaux sont représentés dans le tableau ci-dessous (tab. 04).

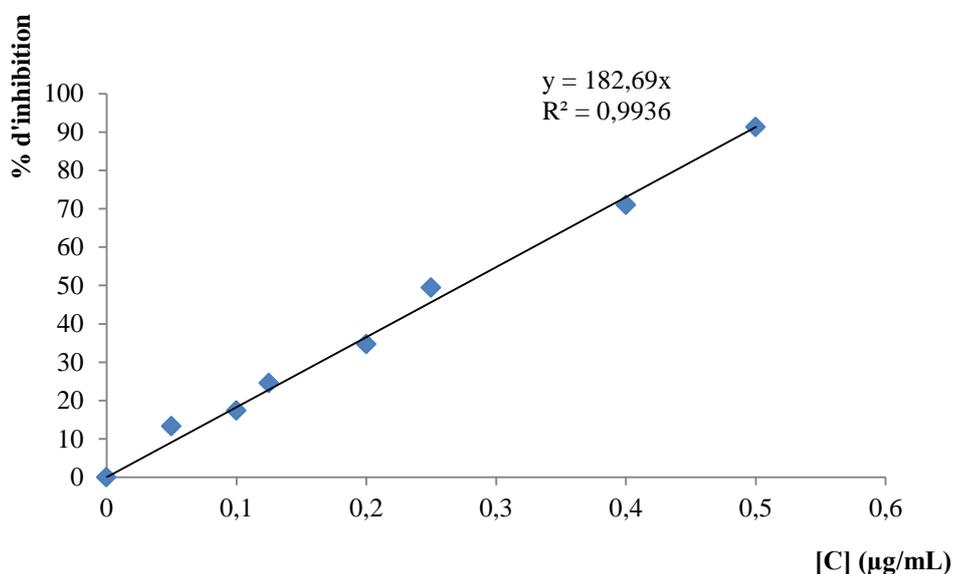


Figure 07: Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour ABTS).

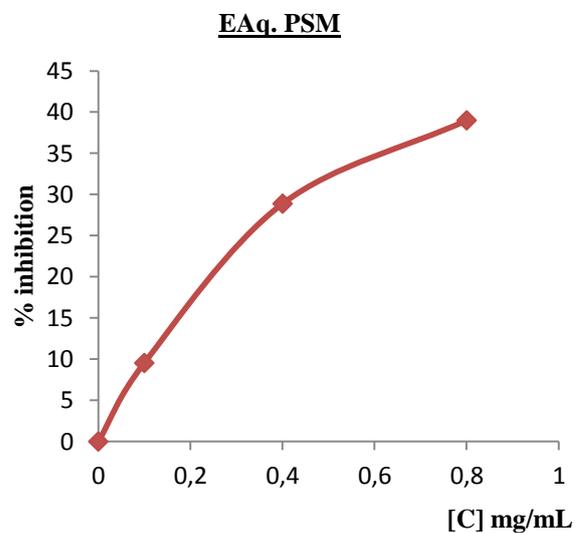
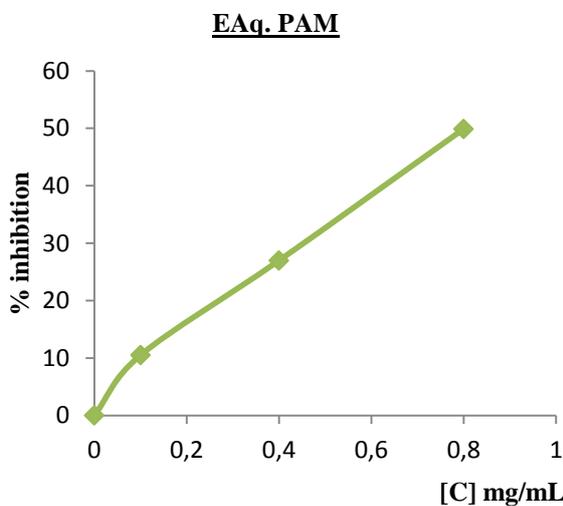
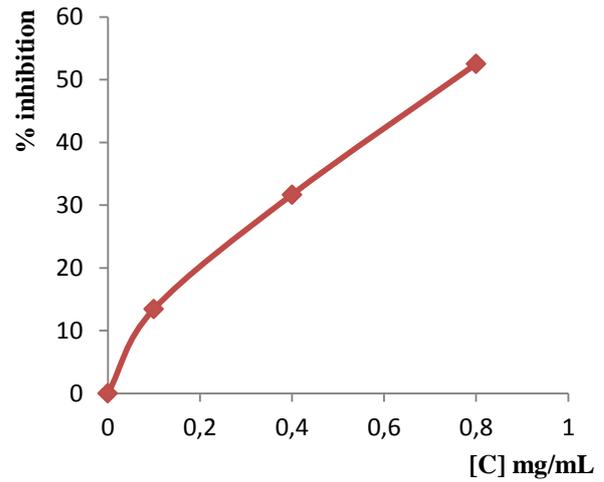
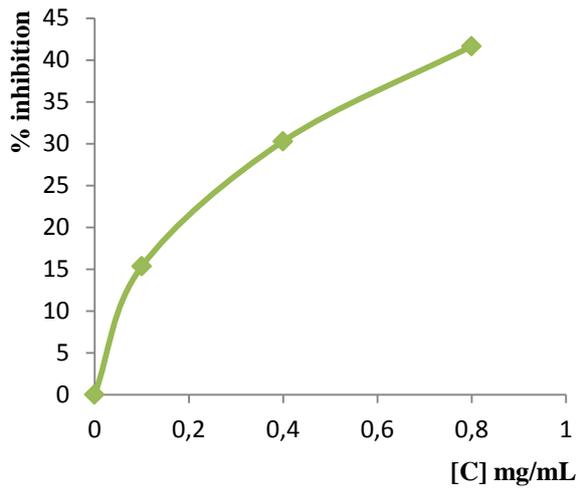


Figure 08: Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de l'ABTS) des extraits bruts de l'espèce *Peganum harmala* de la région de Ghardaia.

(EAq: extrait aqueux, PA: Partie aérienne, PS: Partie souterraine, M: Metlili, D: Dhayet Bendhahoua)

En général, et à partir du tableau ci-dessous (tab. 04), des résultats plus ou moins différents par rapport à ceux du pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical libre DPPH sont obtenus. Autrement dit ; les extraits bruts aqueux de la partie aérienne de l'espèce *Peganum harmala* des deux sites concernés présentent presque les meilleurs pouvoirs inhibiteurs face aux radicaux libres ABTS avec des valeurs d'IC50 faibles et un peu proches. De même, l'espèce de Metlili et avec ses extraits bruts de la partie souterraine a pu également présenter un effet inhibiteur plus ou moins similaire. Cependant, une faible capacité de réduction est hélas enregistrée en présence des extraits isolés de la partie souterraine de l'espèce de l'autre site

Dhayet Bendhahoua de la région de Ghardaia avec une valeur d'IC50 moyennement élevée de l'ordre de 0.911 ± 0.023 mg/ mL.

Tableau 04: Résultats globaux du pouvoir antioxydant (test de l'ABTS) des extraits bruts aqueux de l'espèce *Peganum harmala*.

	Metlili		Dhayet Bendhahoua		Trolox
	EAq.PA	EAq.PS	EAq.PA	EAq.PS	
IC50 (mg/ mL)	0.817 ± 0.012	0.736 ± 0.019	0.768 ± 0.021	0.911 ± 0.023	0.274 ± 0.005

En bref, et à propos du pouvoir inhibiteur du radical libre DPPH, les résultats obtenus révèlent que les extraits bruts isolés de l'espèce *peganum harmala* des deux sites concernés de la région de Ghardaia sont très actifs et présentent en général des activités antioxydantes supérieures. Cela est probablement lié à la complexité de ces extraits bruts en substances polyphénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (Vermerris et Nocholson, 2006).

Par comparaison avec de nombreuses études récemment publiées sur l'évaluation du potentiel antioxydant des extraits de l'espèce *Peganum harmala* qui a fait l'objet de notre étude, des résultats meilleurs que ceux obtenus avec les extraits bruts aqueux de notre plante sont publiés par plusieurs auteurs (Edziri *et al.*, 2002 ; Abidi et Nahal, 2016 et Akhtar, 2018) avec des valeurs d'IC50 très faibles. De même, un effet inhibiteur meilleur que celui enregistré avec nos extraits bruts est obtenu par Saadoun et Bellar, (2018) vis-à-vis du radical DPPH et en présence des extraits de la partie aérienne de la même espèce végétale de la région de Biskra dont la valeur d'IC50 est inférieure à 0.5 mg/ mL.

Quant à la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux libres ABTS (test de l'ABTS), diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule.

Les extraits bruts aqueux de notre plante ont pu présenter un pouvoir antioxydant plus ou moins appréciable face aux radicaux libres ABTS. Cela s'explique probablement par la richesse de l'extrait brut aqueux en composés, ayant une forte activité d'élimination des radicaux libres, qui sont plus solubles et plus extractibles avec de l'eau que dans d'autres solvants qui sont certainement moins polaires.

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physicochimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010 ; Mahmoudi *et al.*, 2013). Entre outre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Garcia-Salas *et al.*, 2010 ; Jokic *et al.*, 2010).

Les solvants apolaires ou faiblement polaire sont par contre recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire (Tian *et al.*, 2011). Les arômes dérivés des acides hydroxycinnamiques sont quant à eux habituellement extraits par des solvants apolaires tels que le chloroforme et la diéthyléther (Collin et Crouzet, 2011).

Cet effet antiradicalaire pourrait devenir potentiellement intéressant après optimisation des conditions d'extraction, séparation et d'augmentation de la concentration. En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Javanovic *et al.*, 1994). L'effet scavenger des flavonoïdes est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyles (Siddhuraju et Becker, 2007). En outre, dans le but d'identifier les sites potentiels au sein des flavonoïdes qui sont responsables sur l'effet antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH, plusieurs travaux ont étudié la cinétique et le mécanisme réactionnel des flavonoïdes avec ce radical stable. De plus, Amic *et al.*, (2003) ont mis en évidence la relation structure fonction de 29 flavonoïdes (flavones, flavonols et flavanones) et leurs capacités de piéger le radical DPPH et par conséquent, la variabilité structurale de ces même flavonoïdes affecte de façon non négligeable cette activité.

La configuration et le nombre total de groupements hydroxyles ont une influence sur le mécanisme de l'activité antioxydante (Heim *et al.*, 2002) et à titre indicatif, les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

Une structure ortho-dihydroxy (groupement catéchol) dans le cycle B qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.

Une double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo dans le cycle C fournissant une délocalisation des électrons à partir du cycle B.

La présence des groupements hydroxyle en position C3 et C5 fournissant une liaison hydrogène au groupe oxo (Croft, 2006).

Cette différence dans les résultats obtenus s'explique probablement par l'influence de plusieurs facteurs sur la qualité et la quantité des composés du métabolisme secondaire de la plante et par conséquent leur potentiel antioxydant. Ces facteurs sont en principe climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, type de microclimat et aussi l'étage bioclimatique, etc. (Atmani *et al.*, 2009), patrimoine génétique (El-Waziry *et al.*, 2007), période et moment de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004) et même aux conditions opératoires de l'expérimentation (solvant d'extraction polaire ou apolaire, quantité de matière végétale, sèche ou fraîche, température et temps d'extraction, et même aux techniques d'extraction) (Lee *et al.*, 2003).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et Perspectives

En guise de conclusion, il semble important d'évoquer les principaux résultats auxquels nous sommes parvenus. Les tests biochimiques préliminaires nous ont permis de mettre en évidence la présence de six composés du métabolisme secondaire (flavonoïdes, saponosides, anthocyanes, alcaloïdes, terpènes et stérols) et l'absence de deux autres composés très importants : tanins catéchiques et leucoanthocyanes dans la partie aérienne de l'espèce *Peganum harmala* L. des deux sites Metlili et Dhayet Bendhahoua de la région de Ghardaia. Quant aux rendements, l'espèce de Metlili semble être plus riche en extrait brut aqueux avec 44.6 % dans sa partie aérienne et 38.54 % dans sa partie souterraine. Concernant l'espèce de Dhayet Bendhahoua, un rendement plus ou moins similaire de l'ordre de 42 % est enregistré de sa partie aérienne alors qu'un rendement moyennement faible de l'ordre de 20.7 % est enregistré dans sa partie souterraine.

En général, les extraits bruts de l'espèce de Metlili s'avèrent les plus riches en polyphénols totaux notamment dans la partie souterraine (175.05 ± 1.20 mg EAG/g MVS). Des teneurs plus ou moins élevées et un peu similaires sont également enregistrées dans les extraits des parties aériennes de l'espèce des deux sites choisis (de 149 et 174 mg EAG/ g MVS), contrairement à la partie souterraine de l'espèce de Dhayet Bendhahoua qui s'est montrée moins riche en polyphénols totaux (86.92 ± 1.13 mg EAG/g MVS). De ce fait, les teneurs élevées que nous avons enregistrées en polyphénols totaux dans les parties aérienne et souterraine de l'espèce *Peganum harmala* des deux sites concernés justifient probablement l'utilisation massive de cette espèce végétale par la population de la région de Ghardaia au Sahara septentrional Algérien.

Quant à l'activité antioxydante, les extraits bruts de la partie souterraine de l'espèce des deux sites étudiés présentent les plus forts pouvoirs inhibiteurs du radical libre DPPH avec des valeurs d'IC₅₀ plus ou moins faibles et un peu proches variant entre 1.3 et 1.4 mg/ mL. Pour ce qui est des radicaux libres ABTS, les extraits de la partie aérienne de notre espèce des deux sites présentent les meilleurs pouvoirs inhibiteurs. Cela est probablement lié à la richesse des extraits bruts en composés polyphénoliques ayant une forte activité de piégeage et d'élimination des radicaux libres. Ces résultats indiquent que les extraits de l'espèce *Peganum harmala* sont assez prometteurs quant à leur pouvoir antioxydant. Des applications *in situ* dans le traitement des maladies dues à certains radicaux libres peuvent être envisagées.

Conclusion et Perspectives

Nos perspectives pour l'avenir se résument en ce qui suit :

Approfondir les études concernant la séparation, purification, identification et la caractérisation de ces principes actifs du point de vue qualitatif et quantitatif.

Déterminer leurs Chémotypes exacts et complets par HPLC/ MS et RMN.

Evaluer *in vitro* d'autres activités biologiques de sa partie aérienne et même souterraine telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antidiabétique...etc.

Envisager des expériences *in situ* en testant ces principes actifs sur des cas pathologiques.

Il serait également intéressant d'extraire les autres principes actifs de la plante et de tester leur pouvoir antioxydant.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abidi K. et Nahal Gh. Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des plantes médicinales : cas de *Peganum harmala* L. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi, Tébessa. 2016 ; 16p.
- Adouane M., Haddadi M., Benamrane N., Touafek K, Khelifa A., Tabet I. Evaluation de l'influence de l'inclinaison des modules photovoltaïques sur la production d'énergie d'un système hybride. Revue des Energies Renouvelables SIENR Ghardaia. 2014 ; 14: 87-92.
- Agedilova M., Turmukhambetov A., Schultz E., Shakirov., Adekenov S. Components of the aerial part of *Peganum harmala*. Chemistry of Natural Compounds. 2006 ; 42: 226-227.
- Akhtar N et Mirza B. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. Arabian Journal of Chemistry. 2018 ; 11.8: 1223-1235.
- Amic D., Davidovic-Amic D., Beslo D., Trinajstic N. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. 2003 ; 76: 55-61.
- ANDI, 2013a. Agence Nationale de Développement de l'investissement. Wilaya de Ghardaia.
- ANIRF, 2011. Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière. Rubrique Monographie Wilaya (Wilaya Ghardaia).
- Anton A. A., Ross K. A., Lukow O. M., Fulcher R. G., Arntfield S. D. Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. Food Chemistry. 2008 ; 109: 33-41.
- Asgarpanah J. et Ramezanloo F. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2012 ; 6: 1573-1580.
- Asilbekova D. Lipids from the aerial part of *Peganum harmala*. Chemistry of Natural Compound. 2006 ; 42: 223-225.
- Atmani D.,Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry. 2009 ; 112: 303-309.
- Beddou F. Etude phytochimique et activités biologiques de plantes médicinales Sahariennes *Anvillea radiata*, *Rumex vesicarius*, *Pituranthos scoparius* & *Duri*. Thèse de Doctorat. Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen. 2015 ; 2p.
- Bekro Y. A., Mamyrbekova J. A., Boua B., Fezan H., Ehouan E. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinibenthamiana (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences and nature. 2007 ; 4: 217- 225.

- Belyagoubi B. N., Belyagoubi L., Bekkara F. A. Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants. *Journal of medicinal plant research*. 2014; 8: 1198-1207.
- Benbott L, Bahri L, Boubendir A, Yahia A. Study of the chemical components of *Peganum harmala* and evaluation of acute toxicity of alkaloids extracted in the Wistar albino mice. *Journal of Material and Environmental Science*. 2013 ; 4: 558-565.
- Benesseddik A. Etude hydrogéologique de La région de Metlili (Ghardaia).Mémoire de Master. Université de Kasdi Merbah, Ouargla. 2018 ; P4-5.
- Benhammou N., Bekkara F. A., Panovska T. K. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplexhalimus*. *Comptes Rendus Chimie*. 2009; 12: 1259-1266.
- Benkherara S. et Bordjiba O. Phytochemical study and *in vitro* antioxidant activities of *Hammada scoparia* extracts from southeastern Algeria. *Asian journal of pharmaceutical and clinicalresearch*. 2018 ; 11: 187-192.
- Bensaha H. et Arbouch R. Impact de la dynamique de l'agriculture et ses conséquences sur la durabilité de l'écosystème saharien : cas de la vallée de M'zab (Sahara septentrional). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 2016 ; 4: 31-36.
- Boizot N. et Charpentier J. P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques. *Cahier des Techniques de l'INRA*. Institut national de la recherche agronomique Science et Impact. 2006 ; 79-82.
- Bouquet A. Plantes médicinales du Congo-Brazzaville. Edition de l'office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, paris. 1972; 110 p.
- Braz I. et Mohamed Hanchour F. Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artemisa herba helba*, *Haloxylon scoparium*, *Peganum harmala* et *Zygophyllum album*). Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis , Mostaganem. 2018 ; 31p.
- Bruneton J. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Edition de Tec & DocLavoisier, Paris. 2009 ; 259-935 p.
- Chenini N. et Chabou S. Evaluation du potentiel géothermique dans la région de Ghardaia. *Revue des Energies Renouvelables SIENR*. 2012 ; 12 : 307-312.
- Collin S. et Crouzet J. Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier. 2011.
- Croft K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006 ; 854: 435-442.

- DPAT. Direction planning d'aménagement territoire. Wilaya de Ghardaia . Atlas Ghardaia. 2009 ; 165p.
- Dahou F. Etude des sols Alluvionnaires de Oued Metlili. Thèse de Magister. Université De Kasdi Merbah, Ouargla. 2013 ; P9-10.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., IdrissiHassani L. M., Bodoc A., Gmira N. Screening phytochimique d'une endémique Ibero-marocain, Thymelaealytroides, Bull. Société de Pharmacie de Bordeaux. 2003 ; 142: 61- 78.
- Edziri H., Mastouri M., Mahjoub M.A., Patrich G., Matieu M., Ammar S., Ali S.M., Laurent G., Zine M., Aouni M. Toxicological & Environmental Chemistry. 2010.
- El Allagui N., Bourijate M., Tahrouch S., Hatimi A. (2006). Effet de cinq extraits végétaux sur meloidogynespp de la tomate. Congrès International de Biochimie (Agadir). 2006 ; 357-360.
- El-Waziry A. M. Nutritive value assessment of ensiling or mixing .Acacia and Atriplex using in vitro gas production technique. Research journal of agriculture and biological sciences. 2007, 3.6: 605-614.
- Farouk L., Laroubi A., Aboufatima R., Benharref A., Chait A. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.: possible mechanisms involved. Journal of Ethnopharmacology. 2008 ; 115: 449-454.
- Fuinel G. Arbres et plantes médicinales du jardin. Edition de Fernand Lanore. 2002 ; 9p.
- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernandez –Gutiérrez A. Phenolic-Compound-Extraction systems for fruit and vegetable samples. Molecules. 2010; 28: 206-212.
- Gardes-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. Mécanisme biochimique. 2003 ; 91-96.
- Ghedadba N., Hambaba L., Aberkane M. C., Oueld-Mokhtar S. M., Fercha N., Bousselsela H. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. Algerian Journal of Natural Products. 2014; 2: 64-74.
- Goudable J. et Favier A. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. 1997; 11: 115-20.
- Green R. J. Antioxydant activity of peanut plant tissues. Mémoire de master. Faculty of north california state university (USA) .2004; 23p.

- Guergour H. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala*. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abas, Setif. 2018 ; 4-22p.
- Harborne J. B. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. Chapman and Hall Ltd, London. 1973; 278p.
- Hatzidimitriou E., Nenadis N., Tsimidou M. Z. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. Food Chemistry. 2007; 105: 1504-1511.
- Hayouni E., Abedrabba M., Bouix, M., Hamdi M. The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food chemistry. 2007 ; 105.3: 1126-1134.
- Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of nutritional biochemistry. 2002; 13: 572-584.
- Iserin G. Encyclopedia of Médicinal Plants. Edition de La Rousse. 2001; 9-19-244-245p.
- Javanovic S. V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M. J. Flavonoids as antioxidants. Journal of the American Chemical Society. 1994; 116:4846-4851.
- Jean V. et Jiri S. "Plantes médicinales. 250 illustrations en couleurs. Larousse, Paris. 1983 ; 319p.
- Jokic S., Velic D., Bilic M., Bucic-Kojic A., Planinic M., Tomas S. Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from Soybeans. Czech journal of food sciences. 2010; 28: 206-212.
- Kartal M., Altun ML., Kurucu S. HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis. 2003 ; 31: 263-269.
- Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S., Aggoune M. S., Ould el hadj-khelil A., Ouldelhadj M. D. Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). Journal of Advanced Research in Science and Technology. 2014; 1: 1-5.
- Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three ivoirian plants. Journal of animal and plant sciences. 2010; 5: 550-558.

- Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*. 2008 ; 331.11 : 865-873.
- Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F., Samuel J.L. *Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux*. Edition de John Libbey Eurotext, Paris. 2008; 318p.
- Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C.Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51: 7292-7295.
- Li Y., Lopez P., Durand P., Ouazzani J., Badet B., Badet-Denisot M. A. An enzyme-coupled assay for amidotransferase activity of glucosamine-6-phosphate synthase. *Analytical Biochemistry*. 2007 ; 370.2: 142-146.
- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'Artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Revue «Nature and technologie»*. B-Science agronomiques et biologiques. 2013 ; 9 : 35-40.
- Majhenic L., Skerget M., Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 2007 ; 104: 1258-1268.
- Miliauskas G., Venskutonis P. R., Van Beek T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food Chemistry*. 2004; 85: 231-237.
- Mohammedi Z. et Atik F. Impact of Solvent Extraction Type on Total Polyphenols Content and Biological Activity from *Tamarixaphylla (L.) Karst*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2011 ; 2: 609-615.
- Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., Krishna D. R. Bioflavonoids Classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal pharmacology*. 2001 ; 33 : 2-16.
- Ozenda P. *Flore du Sahara*. Edition du centre national de la recherche scientifique 15, quai Anatole, Paris. 1977; 598 p.
- Ozenda P. *Flore et végétation du Sahara*. Edition CNRS, Paris. 1991 ; 662 p.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Saavedra G., Murcia G. S., Jiménez A. M., Codina C. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*. 2003; 73: 1667-1681.
- Park H.J., Cha H.C. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean. journal of biological society*. 2003; 7:327-330.

Prior R. L., Wu X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Agricultural and foodchemistry*. 2005 ; 53: 4290-4302.

[Quattrocchi](#) U. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants. Edition de CRC Press. 2016 ; 2817p.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology et Medicine*. 1999; 26: 1231-1237.

Rimjhim S., Kumari N., Jainendra K. Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*. *International organization of scientific research*. 2014; 7: 10-13.

Saadoun H. et Bellar k. Comparaison des activités biologiques de *Peganum harmala* de Biskra et El Harmilia. Mémoire de master. Université L'Arbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi. 2018 ; 13-51p.

Salah N., Miller N. J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G. P., Rice-Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1995 ; 322: 339-460.

Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F. A. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the science of food and agriculture*. 1998; 76: 270-276.

Schlesier K., Harwat M., Böhm V., Bitsch R. Assessment of antioxidant activity by using different *in Vitro* methods. *Free radical research*. 2002; 36: 177-187.

Siddhuraju P; et Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*. 2007; 101:10-19.

Solfo R. Etude d'une plante médicinale malgache *Buxus Madagascarica* Baill. Edition de l'office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, Paris. 1973 ; 90 p.

Stalikas C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 2007, 30.18: 3268-3295.

Tahrouch S., Rapiet S., Belahsen Y., Bessiere JM., Andary C. Volatile constituents of *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*). *Acta Botanica Gallica*. 1998 ; 145 (2): 121-124.

Taviano MF., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Guvenc A., De-Pasquale R., Miceli N. *Juniperus oxycedrus* L. *subsp. oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. *subsp. macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. "berries" from

Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and Chemical Toxicology*. 2013 ; 58: 22-29.

Tian F., Li B., Zhang G., Luo Y. Identification and structure-activityrelationship of gallotannis separated from *Galla chinensis*. *Lebensmittel-Wissenschaft& Technologie (LWT) – Food Science and Technology*. 2011; 42: 1289-1295.

Vermerris W. et Nicholson R. Phenolic compound chemistry. Springer, Allemand. 2006; 1-70 pp.

Yi-Zhong C., Mei S., Jie X., Qiong L., Harold C. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*. 2006; 78: 2872- 2888.

ABSTRACT

This study focuses on the valuation of a Saharan plant species: *Peganum harmala* L; or Harmel, widely used for its countless traditional therapeutic virtues in the Algerian northern Sahara and this through the study of the phytochemical aspect and the evaluation of the antioxidant biological activity of the watery crude extracts of the aerial and root part. First, we conducted a phytochemical screening of the main compounds of the secondary metabolism of the plant that grows spontaneously in two different sites Metlili and Dhayet Bendhahoua of Ghardaia region. Aqueous crude extracts are obtained by cold maceration and their yields are determined. The total polyphenol levels in its crude extracts and their antioxidant potential towards free radicals are then assessed.

The results show that Metlili's plant species is rich in watery crude extract with 44.6% in its aerial part and 38.54% in its root part. In addition, the crude extracts of the species from this site are found to be the richest in polyphenolic compounds especially in the root part with a maximum content of around 175.05 ± 1.20 mg GAE/g DPM.

On the other hand, the crude extracts of the root part of this species from the two sites studied in Ghardaia region have the strongest inhibitory powers of the free radical DPPH with low average values of IC50 and a little close between 1.3 and 1.4 mg/ mL. As for ABTS, different results from the DPPH are recorded. crude extracts from the aerial part of the species of the affected sites have the best inhibitory powers with lower IC50 values. However, these inhibitory powers of isolated crude extracts are still inferior to that of the trolox, which has been very efficient and have a very high capacity in trapping and reducing free radicals.

In short, Metlili's *Peganum harmala* species is better than Dhayet Bendhahoua's from a biochemical and biological point of view, particularly in its root part.

Keywords: : *Peganum harmala*, Ghardaia, Phytochemistry, Crude Extract, Antioxidant Power.

ملخص

تركز هذه الدراسة على تعزيز الأنواع النباتية الصحراوية *Peganum harmala* L او الحرمل، التي تستخدم على نطاق واسع لمزاياها العلاجية التقليدية التي لا حصر لها في شمال الصحراء الجزائرية وهذا من خلال دراسة الجانب الكيميائي النباتي وتقييم النشاط البيولوجي المضاد للأكسدة للمستخلصات المائية الخام من الجزء الخضري و الجذري أولاً ، أجرينا فحصاً فيتوكيميائياً مختلفين متليلي و ضاية بن ظحوة غارداية المستخلصات نباتياً لمركبات الايض الثانوي الرئيسية للنبته والتي تنمو تلقائياً في منطقتين المائية المحصل عليها عن طريق النقع بالماء في درجة حرارة الغرفة ثم يتم تحديد عوائده يتم تقييم إجمالي محتويات البوليفينول في الحرة أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الأنواع النباتية من مستخلصاته الخام وإمكاناتها المضادة للأكسدة مقابل الجذور الجزء الخضري في متليلي غنية بالمستخلص المائي الخام بنسبة 44.6% و 38.54% في الجزء الجذري بالإضافة إلى ذلك ، المستخلصات الخام للأنواع النباتية من هذه المنطقة

هي الاغنى في مركبات البوليفينول خاصة في الجزء الجذري مع اقصى قيمة حوالي 175.05 ± 1.20 mg EAG / g MVS من ناحية أخرى ، فإن المستخلصات الخام من الجزء الجذري من هذا النوع من المنطقتين المدروستين في منطقة غرداية يظهر انه أقوى القوى المثبته للجذور الحرة DPPH لمتوسط القيم IC50 ضعيفة ومتقاربة الى حد ما يتراوح بين $1.4-1.3$ mg/ml بالنسبة ل ABTS تم تسجيل نتائج مختلفة مقارنة ب DPPH أظهرت المستخلصات الخام للجزء الخضري من الانواع من المنطقتين المعينتين اعلى قدرة مثبته مع قيم IC50 اقل ومع ذلك فان القوى المثبته للمستخلصات الخام المعزولة لا تزال اقل شانا مقارنة بمستخلصات ال TROLOX التي ثبت انها فعالة للغاية ولديها قدرة عالية جدا في التقاط الجذور الحرة وارجاعها تعد انواع ضاية بن ظحوة من *Peganum harmala* في منطقة متليلي افضل من تلك الموجودة في الناحية بيوكيميائية والبيولوجية خصوصا في الجزء الجذري

الكلمات الدالة: الحرمل، غارداية، فيتوكيمياء، مستخلص خام، قوة مضادات الأكسدة

