



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen-
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers
Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique (LAPSAB)

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle
En Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Présentée par : BENRAMDANE Hanane

Sous le thème

**Contribution à l'étude phytochimique et évaluation des activités
biologiques des extraits de graines de *Peganum harmala***

Le jury de soutenance ;

Présidente : Mme Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen
Examineurs : M. Azzi Rachid	Professeur	Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen
M. Hariri Ahmed	Professeur	Université Mustapha Stambouli- Mascara
M. Yazit Sidi Mohammed	MCA	Université Belhadj Bouchaib- Ain Temouchent
Directrice de thèse : Mme Benariba Nabila	Professeur	Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen

Année universitaire 2025-2026

Remerciements

C'est avec une profonde reconnaissance que je remercie "Allah" pour ses bénédictions et pour avoir placé sur ma route des personnes bienveillantes qui ont contribué à la réussite de ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à ma directrice de thèse Mme Benariba Nabila, Professeur au département de Biologie, faculté des Science de la Nature et de la Vie, des Science de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. J'aimerais aussi la remercier pour ses précieux conseils et ses orientations qui m'ont permis de mener à bien ce travail. Je tiens à lui exprimer ma plus haute considération.

Mes vifs remerciements vont également à Mme Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université de Tlemcen, pour son aide, sa disponibilité, et ses encouragements. Je la remercie pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider cette soutenance. Je lui exprime ma reconnaissance et mon profond respect.

Mes remerciements à M. Azzi Rachid, Professeur au Département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université de Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'il trouve l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements à M. Hariri Ahmed, Professeur à la Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Mustapha Stambouli- Mascara d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'il trouve l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements à M. Yazit Sidi Mohammed, Docteur à la Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Belhadj Bouchaib- Ain Temouchent d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'il trouve l'expression de mon profond respect.

Je remercie énormément Pr. Diana Pinto, Directrice de laboratoire LAQAV-REQUIMTES, au département de chimie, Université d'Aveiro, pour leur collaboration, leur rigueur scientifique et la qualité des échanges que nous avons partagés tout au long de ce travail.

Mes sincères remerciements à notre Université "Abou Bekr Belkaid-Tlemcen", pour la bourse ERASMUS+ qui m'a été octroyée, et qui m'a permis de finaliser mon travail de thèse, cette expérience m'a permis également d'enrichir ma formation au laboratoire.

Mes chaleureux remerciements à Mme Mokhtari-Soulmane Nassima, Doyenne de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université de Tlemcen, de m'avoir autorisée et facilité l'accès au laboratoire de pédagogie de Biochimie de la faculté SNV-STU, pour réaliser ce travail. Je lui exprime ma gratitude et mon profond respect.

Mes profonds remerciements à Mme Zazoua Lila et M. Ferouani Miloud, ingénieurs de laboratoire de pédagogie de Biochimie, de la faculté SNV-STU, pour leur accueil et leur assistance durant la réalisation de ce travail.

Mes remerciements les plus respectueuses s'adressent également aux membres et personnels du laboratoire LAPSAB, pour leur bienveillance, disponibilité et professionnalisme tout au long de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à nos enseignants, qui par leurs savoir et leur accompagnement, nous ont guidés et inspirés tout au long de notre parcours universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, pour leur amour, prière et encouragement qui m'ont apporté l'espoir, la force et la gratitude pour achever ce travail, c'est un plaisir pour moi de réaliser l'un de leur rêves, qu'Allah, le tout puissant, vous bénisse et vous donne une longue vie pleine de bonheur et de bonne santé In Ch'aa Allah.

Mes chers frère et sœur, pour leur accompagnement formidable et leur conseils précieux, qu'Allah vous protège.

Mes cousines, pour les meilleurs moments de joie partagés, à mes adorables amies et à mes collègues, pour leur respect, leur enthousiasme et leur facilité de communication, qu'Allah éclaire vos chemins vers vos objectifs.

Liste des abréviations

Aq : Aqueux

E-Ac : Eau-Acétone

Hm : Hydrométhanol

Ae : Acétate d'éthyle

1 B : 1-butanol

µg EAG/mg E : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg EC/mg E : Microgramme équivalent de Catéchine par milligramme d'extrait sec

DPPH• : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

AAPH• : 2,2'-azobis(2-aminodipropane) dihydrochloride

ABTS•+ : 2,2'-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)

•NO : Oxyde nitrique

O₂•- : Anion superoxyde

AChE : Acétylcholinestérase

BChE : Butyrylcholinestérase

ACh : Acétylcholine

AChE-Is : Acétylcholinestérase inhibitors

α-Glc : α-glucosidase

Cox : Cyclooxygenase

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BHA : Hydroxyanisole Butylé

BHT : Hydroxytoluène Butylé

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

FeCl₃ : Trichlorure de fer

PBS : Phosphate-buffered saline

NBT : nitro-blue- tetrazolium

p-NPG : p-nitrophenyl-α -D-glucopyranoside

DNSA : Acide 3,5 dinitrisalicylique

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

Liste des figures

Figure 1: Le mécanisme d'action proposé pour la metformine (Pryor et Cabreiro., 2015).....	6
Figure 2: Le mécanisme d'action des inhibiteurs SGLT2 (Heerspink et., 2016).....	7
Figure 3: Les cibles d'inhibition de certains produits naturels contre la maladie d'Alzheimer (Roy et al., 2024).....	13
Figure 4: La structure de base des flavonoides ; le noyau flavanique (Catarino et al., 2016).....	16
Figure 5: Principales classes des flavonoides (Catarino et al., 2016).....	17
Figure 6: Structure hétérocyclique du squelette constituant le groupe des alcaloides (Bribi, 2018)...	18
Figure 7: Une photo des différentes parties de <i>Peganum harmala L.</i> partie aérienne (a), fleur (b), fruits (c) et graines (d).	20
Figure 8: Les graines de <i>Peganum harmala</i> utilisés dans notre travail.	26
Figure 9: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	47
Figure 10: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	48
Figure 11: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols totaux.	48
Figure 12: Les chromatogrammes UHPLC-MS des extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> enregistrés à 280 nm.....	53
Figure 13: Les chromatogrammes UHPLC-MS des extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> enregistrés à 280 nm.....	54
Figure 14: Effets des extraits graines de <i>Peganum harmala</i> sur le piégeage du DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.	56
Figure 15: Effet d'acide ascorbique sur le piégeage du DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.	56
Figure 16: Pouvoir réducteur de Fer (FRAP) des extraits de graine de <i>Peganum harmala</i>	57
Figure 17: Pouvoir réducteur du Fer (FRAP) de la catéchine.	57
Figure 18: Effet des extraits de <i>P.harmala</i> sur le piégeage du radical ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.	58
Figure 19: Effet de la quercétine sur le piégeage du radical ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.	58
Figure 20: Effet des extraits de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition du Blanchiment du β -carotène.....	59
Figure 21: Effet de l'acide ascorbique sur l'inhibition du Blanchiment du β -carotène.....	59
Figure 22: Effet des extraits de graines de <i>P. harmala</i> sur l'inhibition de l'hémolyse induite par AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition.	60
Figure 23: Effet des extraits de graines de <i>P. harmala</i> sur le piégeage du radical oxyde nitrique exprimé en pourcentage d'inhibition.	61
Figure 24: Effet des extraits de <i>P.harmala</i> sur le piégeage du radical superoxyde exprimé en pourcentage d'inhibition.	62
Figure 25: Effet d'acide ascorbique sur le piégeage du radical superoxyde exprimé en pourcentage d'inhibition.	63
Figure 26: Effet de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase.....	64
Figure 27: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.	65
Figure 28: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition de l'AChE exprimé en pourcentage d'inhibition.	66
Figure 29: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition de la BChE exprimé en pourcentage d'inhibition.	68
Figure 30: Effet de donépézil sur l'inhibition de l'AChE (a) et la BChE (b) exprimé en pourcentage d'inhibition.	69
Figure 31: Courbe d'étalonnage pour l'inhibition de la Cox1 et la Cox-2.....	71
Figure 32: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur le taux de prostaglandine libéré par la Cox 1.....	71
Figure 33: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition de Cox 1 exprimé en pourcentage d'inhibition.	72

Figure 34: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur le taux de prostaglandine libéré par la Cox 2.....	73
Figure 35: Effet des extraits de graines de <i>P.harmala</i> sur l'inhibition de la Cox 2 exprimé en pourcentage d'inhibition.....	73
Figure 36: Taux des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des flavonols dans les extraits de graines de <i>P. harmala</i>	74
Figure 37: Taux en pourcentage de la quercétine diméthyl éther, queréctine tetraméthyl éther, la narirutine, l'harmine, l'harmaline et le dipeginol dans les extraits brutes de graines de <i>P. harmala</i> et leurs fractions Ae et 1-B.....	75
Figure 38A : CI ₅₀ des activités inhibitrices incluant DPPH, FRAP, l'α-glucosidase, l'oxyde nitrique et le superoxyde.	76
Figure 39.A : Matrice de corrélation entre les variables mesurées, les activités biologiques (CI ₅₀) et les principaux composés phytochimiques.....	78
Figure 40: Matrice de corrélation entre les variables mesurées, les inhibitions de Cox 1 et Cox 2 (%) et les principaux composés.	81
Figure 41: Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) des données multidimensionnelles des différents extraits de graines de <i>P. harmala</i>	82

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Les médicaments récemment approuvés (Dahlen et al., 2022).....	5
Tableau n°2 : Effets inhibiteurs de certains produits naturels sur l'activité α -glucosidase.....	9
Tableau n°3 : Mécanisme d'action des agents thérapeutiques antidiabétiques en cours du développement clinique	10
Tableau n°4 : Structure chimique de quelques composants phytochimiques des graines de <i>P. harmala</i> (Marwat et Rehman., 2011)	21
Tableau n°5 : Les rendements et les caractéristiques des extraits de <i>Peganum harmala</i>	46
Tableau n°6 : Taux de polyphénols, flavonoïdes, et flavonols totaux dans les extraits de <i>Peganum harmala</i>	47
Tableau n°7 : Les composés phytochimiques identifiés par analyse UHPLC-DAD-ESI/MS dans extraits des graines de <i>P. harmala</i> de la région de Ouargla	50
Tableau n°8 : Les structures chimiques des composés phytochimiques identifiés par analyse UHPLC-DAD-ESI-MS dans les graines de <i>P. harmala</i> de la région de Ouargla	51
Tableau n°9 : Les valeurs de CI_{50} des activités anti-radicalaires des extraits de <i>Peganum harmala</i>	55
Tableau n°10 : Les résultats des CI_{50} de l'effet piègeur des radicaux libre de l'oxyde nitrique et le superoxyde par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	62
Tableau n°11 : Les résultats en pourcentages de l'activité inhibitrice de l' α -amylase par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	64
Tableau n°12 : Les résultats des CI_{50} des activités inhibitrices des enzymes par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	67
Tableau n°13 : Les résultats en pourcentages (%) de l'effet inhibiteurs des enzymes Cox 1 par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	70
Tableau n°14 : Les résultats en pourcentages (%) de l'effet inhibiteurs des enzymes Cox 2 par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	72

الملخص

Peganum harmala، المعروف باسم harmal ، هو نبات طبي من عائلة Zygophyllaceae ، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. تهدف الدراسة المقدمة إلى إجراء تحليل كيميائي نباتي وتقييم مختبري لنشاط مضادات الأكسدة ومضادات السكري ومضادات الالتهاب في مستخلصات بذور *Peganum harmala* من منطقة ورقلة؛ المائية، والماء-الأسيتون، والهيدروميثانول وأجزائها من أسيتات الإيثيل و-إبوتانول. أظهرت قياس مركبات الفينول محتوى متوسطاً من البوليفينول في جميع المستخلصات، لا سيما مستخلص الماء والأسيتون ، والجزء B-1 من مستخلص الهيدروميثانول ملغ من المستخلص. وبالمثل، فإن محتوى الفلافونويدات منخفض نسبياً في جميع المستخلصات. في حين أن معدل الفلافونول مرتفع قليلاً مقارنة بمعدلات الفلافونويد، بالإضافة إلى ذلك، حدد تحليل UHPLC-MS الفلافونويدات المثيلة، وبشكل أساسي الكيرسيتين ثنائي ميثيل إيثر، في الأجزاء B من المستخلصات الخام المائية والأسيتونية والهيدروميثانولية. في المقابل، كانت فصائل أسيتات الإيثيل غنية بشكل خاص ب-β كارولينات، بما في ذلك هارمين وهارمالين، كما تم الكشف عن أحماض فينولية في المستخلصات وفصائلها بمستويات مختلفة. أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلصات الخام وأجزائها توفر إمكانات مضادة للأكسدة. وقد أظهرت هذه المستخلصات تأثيراً مضاداً للجذور مثيراً للاهتمام من خلال: احتجاز الجذور (11,19) ABTS+• $CI_{50} \geq 73,82 \mu\text{g/mL}$ و $CI_{50} \leq 190,39 \mu\text{g/mL}$ (84,65 ≤ DPPH•) ؛ وتثبيط بيروكسيد الدهون من خلال اختبار تبييض-β كاروتين $CI_{50} \geq 259,84 \mu\text{g/mL}$ (47,40 ≤) ، واختبار انحلال الدم المستحث بواسطة $CI_{50} \geq 73,17 \mu\text{g/mL}$ (3,19 ≤) AAPH ؛ وتقليل الحديد الحديدي $CI_{50} \geq 536,67$ (326,55 ≤) ميكروغرام/مل. (وبالمثل، كان للجزء 1-B-Aq والمستخلص المائي الأسيتوني تأثير كبير على احتجاز جذور أكسيد النيتريك (NO•) ، $CI_{50} = 143,04$ و $145,22 \mu\text{g/ml}$ ، على التوالي، وجذور الأكسيد الفائت (O2•-) $CI_{50} = 188,52$ و $223,61 \mu\text{g/ml}$ ، على التوالي. أظهرت النشاط المضاد لمرض السكري الذي تم تقييمه من خلال اختبار تثبيط-α أميليز و-α جلوكوزيداز إمكانية تثبيط جميع المستخلصات، ولا سيما مستخلص الماء والأسيتون وأجزائه من أسيتات الإيثيل و-إبوتانول، أقل من قيمة المعيار أكاربوز. أظهرت مستخلصات بذور *P. harmala* ، ولا سيما أجزاء الأسيتات الإيثيلية من جميع المستخلصات الخام، تأثيراً مثيراً للاهتمام في مكافحة مرض الزهايمر من خلال تثبيط إنزيم الأسيتيل كولينستراز (AChE) واليونيريل كولينستراز (BChE). تم اختبار مستخلصاتنا أيضاً من حيث تأثيرها المضاد للالتهابات، وأظهرت، ولا سيما المستخلصات الخام الهيدروميثانول والماء-الأسيتون، تأثيراً مثبطاً كبيراً للنشاط Cox-1 و Cox-2. من أجل تحديد ما إذا كانت المتغيرات مرتبطة ببعضها البعض، كشفت المعالجة الإحصائية للنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام اختبارات الارتباط، مثل تحليل المكونات الرئيسية (ACP) والخريطة الحرارية، عن وجود ارتباط قوي بين التركيب الكيميائي النباتي للمستخلصات المختلفة والأنشطة البيولوجية المختلفة التي تمت دراستها. ساعدت مخاليط الماء والأسيتون والهيدروميثانول على استخراج الكيرسيتين ثنائي ميثيل إيثر، والكيرسيتين رباعي ميثيل إيثر، والهارمالين، والهارمين؛ بينما ساعدت تجزئة هذه الخلطات على استخراج الهارمين بواسطة أسيتات الإيثيل، والكيرسيتين ثنائي ميثيل إيثر بواسطة 1-بوتانول. تم تحديد ارتباط قوي بين المتغيرات، ولا سيما الكيرسيتين ثنائي ميثيل إيثر الذي أظهر ارتباطاً قوياً بالنشاط المضاد للأكسدة (DPPH) ، (FRAP) وتثبيط نشاط-α جلوكوزيداز. في حين سجل الكيرسيتين تيراميثيل إيثر ارتباطاً قوياً مع مضادات الأكسدة) تبييض-β كاروتين، مضاد للانحلال، سوبروكسيديز .

أظهر الهارمين والهارمالين ارتباطاً متوسطاً مع هذه الأنشطة. في الختام، أدى مزيج المذيبات المكون من الماء والأسيتون والهيدروميثانول وتجزئتها إلى إثراء مستخلصات بذور *P. harmala* بالمكونات الكيميائية النباتية المسؤولة عن التأثير المضاد للجذور الحرة والمضاد لمرض السكري والزهيمر والالتهابات في هذه النبتة. أثبتت هذه النتائج الإمكانيات العلاجية لـ *P. harmala* ، وأثبتت فعاليتها كعلاج نو خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة لمرض السكري .

الكلمات المفتاحية: *Peganum harmala* :الزهايمر، UHPLC-MS، الإجهاد التأكسدي، مرض السكري، الالتهاب .

Résumé

Peganum harmala, communément appelé harmal, est une plante médicinale de la famille des Zygophyllaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. L'objectif de la présente étude est basé sur l'analyse phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique, et anti-inflammatoire des extraits de graines de *Peganum harmala* de la région de Ouargla ; aqueux, eau-acétone, hydrométhanol et leurs fractions acétate d'éthyle et 1-butanol. Le dosage des composés phénoliques a révélé une teneur élevée en polyphénols dans l'ensemble des extraits, notamment l'extrait eau acétone, et la fraction 1-B de l'extrait hydrométhanol. De même, la teneur en flavonoïdes est relativement faible dans tous les extraits. Tandis que, le taux de flavonols est légèrement élevé par rapport aux taux de flavonoïdes. En outre, l'analyse UHPLC-DAD-ESI-MS a permis d'identifier des flavonoïdes méthylés, principalement de la quercétine diméthylether, dans les fractions 1-B des extraits bruts eau acétone et hydrométhanol. En revanche, les fractions acétate d'éthyle étaient particulièrement riches en β -carbolines, dont l'harmine et l'harmaline, les acides phénoliques ont également été détectés dans les extraits et leurs fractions à différentes teneurs. Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé que les extraits bruts et leurs fractions présentent un potentiel antioxydant. Ils ont exprimé un effet antiradicalaire intéressant en assurant ; le piégeage des radicaux ABTS $\bullet+$ ($11,19 \leq CI_{50} \geq 73,82 \mu\text{g/mL}$) et DPPH \bullet ($84,65 \leq CI_{50} \geq 190,39 \mu\text{g/mL}$) ; l'inhibition de la peroxydation lipidique par le test de blanchiment de β -carotène ($47,40 \leq CI_{50} \geq 259,84 \mu\text{g/mL}$), le test de l'hémolyse induite par l'AAPH ($3,19 \leq CI_{50} \geq 73,17 \mu\text{g/mL}$) ; et la réduction du fer ferrique ($326,55 \leq CI_{50} \geq 536,67 \mu\text{g/mL}$). De même, la fraction 1-B-Aq et l'extrait eau acétone ont exercé un effet significatif sur le piégeage du radical oxyde nitrique (NO \bullet), $CI_{50} = 143,04$ et $145,22 \mu\text{g/ml}$, respectivement, et du radical superoxyde (O $_2\bullet^-$), $CI_{50} = 188,52$ et $223,61 \mu\text{g/ml}$, respectivement. L'activité antidiabétique évaluée par le test d'inhibition de l' α -amylase, et l' α -glucosidase a révélé le potentiel inhibiteur de l'ensemble des extraits, notamment l'extrait eau-acétone et ses fractions acétate d'éthyle et 1-Butanol, qui ont affiché des valeurs de CI_{50} inférieures à la valeur du standard l'acarbose. Les extraits des graines de *P. harmala*, en particulier les fractions acétate d'éthyle de tous les extraits bruts ont montré un effet anti-Alzheimer intéressant en inhibant de manière significative l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE). Nos extraits ont été également testés pour leur effet anti-inflammatoire, ils ont affiché, en particulier les extraits bruts hydrométhanol et eau-acétone un effet inhibiteur significatif de l'activité de la Cox-1 et la Cox-2. Afin de déterminer si les variables sont reliées, l'exploitation statistique des résultats obtenus en utilisant les tests de corrélation, comme l'analyse en composante principale (ACP) et la carte thermique, a révélé une forte corrélation entre la composition phytochimique des différents extraits et les différentes activités biologiques étudiées. Les mélanges eau-acétone et hydrométhanol ont favorisé l'extraction de la quercétine diméthylether, quercétine tetraméthylether, harmaline, et harmine ; tandis que le fractionnement de ces mélanges a favorisé l'extraction de l'harmine par l'acétate d'éthyle, et la quercétine diméthylether par le 1-butanol. De forte corrélation entre les variables a été déterminée, notamment la quercétine diméthylether qui a révélé une forte corrélation avec l'activité antioxydante (DPPH, FRAP) et avec l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase. Tandis que, la quercétine tetraméthylether a enregistré une forte corrélation avec l'activité antioxydante (blanchiment de β -carotène, antihémolyse, piégeage du superoxyde). L'harmine et l'harmaline ont affiché de corrélation moyenne avec ces activités. En conclusion, le mélange de solvant eau-acétone et hydrométhanol et leurs fractionnements ont enrichi les extraits de graines de *P. harmala* en composants phytochimiques qui sont responsables de leurs effets antioxydant, antidiabétique, anti-Alzheimer et anti-inflammatoire. Ces résultats, ont témoigné le potentiel thérapeutique de *P. harmala*, et ont habilité son utilisation comme remède aux propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique.

Mots-clés : *Peganum harmala*, UHPLC-DAD-ESI-MS, stress oxydatif, diabète sucré, inflammation, Alzheimer.

Abstract

Peganum harmala, commonly known as harmal, is a medicinal plant belonging to the Zygophyllaceae family, widely used in traditional medicine in Algeria. The objective of this study is based on the phytochemical analysis and in vitro evaluation of the antioxidant, antidiabetic, and anti-inflammatory activity of *Peganum harmala* seed extracts from the Ouargla region; aqueous, water-acetone, hydromethanol and their ethyl acetate and 1-butanol fractions. The dosage of phenolic compounds revealed a high polyphenol content in all extracts, particularly the water-acetone extract and the 1-B fraction of the hydromethanol extract. Similarly, the flavonoid content is relatively low in all extracts. However, the flavonol content is slightly higher than the flavonoid content. In addition, UHPLC-DAD-ESI-MS analysis identified methylated flavonoids, mainly quercetin dimethyl ether, in the 1-B fractions of the crude water-acetone and hydromethanol extracts. On the other hand, the ethyl acetate fractions were particularly rich in β -carbolines, including harmine and harmaline, and phenolic acids were also detected in the extracts and their fractions at different concentrations. The antioxidant activity results revealed that the crude extracts and their fractions have antioxidant potential. They exhibited an interesting anti-radical effect by ensuring: the trapping of ABTS \bullet radicals ($11.19 \leq IC_{50} \leq 73.82$ μ g/mL) and DPPH \bullet radicals ($84.65 \leq IC_{50} \leq 190.39$ μ g/mL); inhibition of lipid peroxidation by the β -carotene bleaching test ($47.40 \leq IC_{50} \leq 259.84$ μ g/mL), the AAPH-induced haemolysis test ($3.19 \leq IC_{50} \leq 73.17$ μ g/mL); and reduction of ferric iron ($326.55 \leq IC_{50} \leq 536.67$ μ g/mL). Similarly, fraction 1-B-Aq and the water-acetone extract had a significant effect on nitric oxide (NO \bullet) radical scavenging, $IC_{50} = 143.04$ and 145.22 μ g/mL, respectively, and superoxide radical (O $_2^{\bullet-}$) scavenging, $IC_{50} = 188.52$ and 223.61 μ g/mL, respectively. Antidiabetic activity assessed by the α -amylase and α -glucosidase inhibition test revealed the inhibitory potential of all extracts, particularly the water-acetone extract and its ethyl acetate and 1 - butanol fractions, which showed IC_{50} values lower than the standard acarbose. The extracts from *P. harmala* seeds, particularly the ethyl acetate fractions of all crude extracts, showed an interesting anti-Alzheimer's effect by significantly inhibiting acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE). Our extracts were also tested for their anti-inflammatory effect, and they showed, in particular the crude hydromethanol and water-acetone extracts, a significant inhibitory effect on Cox-1 and Cox-2 activity. In order to determine whether the variables are related, statistical analysis of the results using correlation tests, such as principal component analysis (PCA) and heat mapping, revealed a strong correlation between the phytochemical composition of the different extracts and the various biological activities studied. Water-acetone and hydromethanol mixtures promoted the extraction of quercetin dimethylether, quercetin tetramethylether, harmaline, and harmine; while fractionation of these mixtures promoted the extraction of harmine by ethyl acetate and quercetin dimethylether by 1-butanol. A strong correlation between the variables was determined, particularly quercetin dimethylether, which showed a strong correlation with antioxidant activity (DPPH, FRAP) and with the inhibition of α -glucosidase activity. Meanwhile, quercetin tetramethylether showed a strong correlation with antioxidant activity (β -carotene bleaching, antihemolysis, superoxide scavenging). Harmine and harmaline showed moderate correlations with these activities. In conclusion, the water-acetone and hydromethanol solvent mixture and their fractions enriched the *P. harmala* seed extracts with phytochemical components that are responsible for their antioxidant, antidiabetic, anti-Alzheimer's and anti-inflammatory effects. These results demonstrated the therapeutic potential of *P. harmala* and enabled its use as a remedy with antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic properties.

Keywords: *Peganum harmala*, UHPLC-DAD-ESI-MS, oxidative stress, diabetes mellitus, inflammation, Alzheimer.

Table de matière

Introduction Générale	1
Synthèse Bibliographique.....	3
Matériels et méthodes	24
1ère partie : Etude phytochimique	25
1. Matériel végétal.....	25
2. Préparation des extraits	26
2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	26
2.2. Préparation des extraits de mélange de solvants eau-acétone et hydrométhanol, et leurs fractions acétate d'éthyle et 1-butanol.....	26
3. Calcul de rendement des extraits	27
4. Dosage des composés polyphénoliques.....	27
4.1. Dosage de polyphénols totaux.....	27
4.2. Dosage des flavonoïdes	28
4.3. Dosage des flavonols	29
5. Caractérisation phytochimique des extraits de <i>P. harmala</i> par UHPLC-DAD-ESI-MS... 30	30
2 ^{ème} partie : Evaluation des activités biologiques des extraits.....	30
1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	30
1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	30
1.2. Test du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Power, FRAP).....	31
1.3. Test de blanchiment de β -carotène	32
1.4. Test de piégeage du radical de l'oxyde nitrique (NO)	33
1.5. Test de piégeage du radical libre non enzymatique : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)... 34	34
1.6. Test de piégeage du radical acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS \bullet^+)	34
1.7. Test de l'hémolyse induite par l'AAPH.....	35
2. Evaluation de l'activité antidiabétique	36
2.1. Test de l'effet des extraits des graines de <i>P. harmala</i> sur l'activité de l' α -amylase.... 36	36
2.2. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité enzymatique de l' α -glucosidase	38
3. Evaluation de l'activité anti-alzheimer	40
3.1. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE)	40
4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	41
4.1. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité de la cyclooxygénase (COX 1 et COX 2)	41

5. Analyse statistique	44
Résultats et interprétation	45
1. Rendement et caractéristiques des extraits	46
2. Taux des composés phénoliques dans les extraits de graine de <i>P. harmala</i>	46
3. Caractérisation phytochimique des extraits des graines de <i>P. harmala</i>	49
1. Effet des extraits sur l'activité antioxydante.....	55
2. Effet antidiabétique des extraits de graine de <i>P. harmala</i>	63
2.1. Effet des extraits sur l'activité de l' α -amylase.....	63
2.2. Effet des extraits sur l'activité de l' α -glucosidase.....	64
3.1. Effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE)	66
4.1. Effet inhibiteur de l'activité enzymatique de la cyclooxygénase par les extraits de <i>Peganum harmala</i>	69
5. Analyse statistique des activités biologiques influencées par les différents solvants utilisés.....	74
Discussion	84
Conclusion et perspectives	99
Références bibliographiques.....	101
Annexes.....	127
Protocole l'activité inhibitrices des enzymes Cox 1 et Cox 2 par les extraits de <i>Peganum harmala</i> selon le kit Cayman	128
Figures de corrélation de Pearson (r)	128

Introduction Générale

Depuis des milliers d'années, les plantes médicinales sont utilisées à de multiples fins, qu'elles soient alimentaires, cosmétiques ou thérapeutiques. Les plantes sont caractérisées par la production de substances naturelles bioactives qui nécessitent souvent d'être améliorées par modification chimique par synthèse organique ou hémisynthèse pour être adaptés au besoin thérapeutique, et être utilisables comme principes actifs (**Dar et al., 2017**). L'usage des plantes médicinales est aujourd'hui bien intégré dans les pratiques de santé, environ 65 à 80 % de la population mondiale a recours aux pratiques médicinales traditionnelles pour satisfaire leurs besoins en soins de santé (**Kouider et al., 2019**).

La phytothérapie est une alternative naturelle aux médicaments traditionnels qui utilise les principes actifs contenus dans les plantes médicinales pour améliorer la santé et traiter diverses maladies telles que, les maladies infectieuses et parasitaires, les troubles digestifs, les inflammations, les cancers et certaines maladies métaboliques. Les produits à base de plantes médicinales sont disponibles sous différentes formes, médicaments, compléments alimentaires, et huiles essentielles.

Actuellement, la valorisation des plantes médicinales a incité de nombreux travaux scientifiques dans de nombreux pays afin de développer de nouvelles molécules thérapeutiques alternatives, moins toxiques, et facilement accessibles. Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont été réalisées en Algérie afin de recenser les plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle, en particulier les plantes utilisées dans le traitement du diabète sucré, l'hypertension artérielle, le rhumatisme, la fièvre, l'influenza, les infections respiratoires et le cancer (**Azzi et al., 2012 ; Bouafia et al., 2021**).

Le développement des nouveaux médicaments s'appuie largement sur l'inventaire des plantes médicinales fourni principalement par les enquêtes ethnobotaniques. Ces dernières présentent les savoirs traditionnels médicaux des plantes en précisant leurs modes de préparation, les parties utilisées, et leurs modes d'application. En Algérie, plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont permis de recenser les plantes les plus utilisées en phytothérapie, en particulier celles destinées au traitement du diabète sucré, l'hypertension artérielle, les inflammations, les infections respiratoires, les troubles digestifs, les lithiases, et le cancer (**Derridj et al., 2009 ; Azzi et al., 2012 ; Bakiri et al., 2016 ; Maamar, 2021 ; Bouafia et al., 2021**).

Peganum harmala, communément appelé Harmel, est largement utilisée dans la phytothérapie en Algérie, en particulier dans les régions du Sud en usage interne ou externe,

pour le traitement des troubles gynécologiques, problèmes cutanés, hémorroïdes, diabète sucré, et hypertension artérielle (**Bakiri et al., 2016 ; Maamar, 2021**). Malgré son utilisation traditionnelle en Algérie, cette espèce reste très peu exploitée dans le domaine de la recherche scientifique, notamment pour la valorisation de ses propriétés thérapeutiques.

À cet égard, nous nous sommes intéressés dans la présente étude à la valorisation des propriétés biologiques des extraits de graines de *P. harmala* récoltées dans la région de Ouargla. L'approche expérimentale de cette étude réunie deux grandes parties, la première consiste à une analyse phytochimique des extraits, aqueux, eau-acétone, hydro-méthanol et leurs fractions acétate d'éthyle et 1-butanol, ainsi que la caractérisation de leurs composés phytochimiques. La deuxième partie s'intéresse à l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques des extraits de graines notamment, l'activité antioxydante en utilisant le test de piégeage des radicaux libres DPPH, ABTS, oxyde nitrique ($\bullet\text{NO}$), superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), le test de FRAP, ainsi que le test de l'hémolyse induite par l'AAPH. L'activité antidiabétique est évaluée par le test de l' α -glucosidase et α -amylase. Tandis que, le test de l'activité de la cyclooxygénase Cox-1 et Cox-2, est utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, et le test de l'activité de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase pour l'activité anti-Alzheimer.

Le présent manuscrit inclut une introduction générale qui présente l'objectif principal de ce travail de thèse, suivie par une synthèse bibliographique sur le diabète sucré, la maladie d'Alzheimer, et les substances naturelles comme nouvelles approches thérapeutiques, ainsi qu'une présentation de la plante étudiée ; *Peganum harmala*. La partie matériel et méthodes décrit les techniques et les protocoles expérimentaux appliqués, en suite la partie résultats et interprétations illustre les tableaux et les présentations graphiques des résultats obtenus, et en fin ce document se termine par une discussion des résultats et une conclusion générale.

Synthèse Bibliographique

Le diabète est un trouble métabolique grave, qui accroît le risque de complications microvasculaires, notamment la rétinopathie et la néphropathie, il est également associé aux maladies cardiovasculaires, certains cancers et à des infections telles que la tuberculose et les formes graves de COVID- 19 (**Zhou et al., 2024**). Plusieurs médicaments disponibles pour soulager les symptômes du diabète sont associés à plusieurs complications. Les médicaments à base de plantes gagnent en importance car ils sont rentables et ont de meilleurs effets thérapeutiques avec moins d'effets secondaires (**Jacob et Narendhirakannan., 2018**). Le diabète sucré est un groupe de dysfonctionnement physiologique caractérisé par une hyperglycémie résultant d'une résistance à l'insuline, d'une sécrétion inadéquate de l'insuline ou d'une sécrétion excessive de glucagon (**Blair, 2016**). Le diabète sucré type 1 (DT1) est une maladie endocrinienne dans laquelle les cellules β du pancréas cessent de produire de l'insuline, généralement en raison d'une destruction auto-immune (**Syed, 2022**). Le diabète sucré type 2 (DT2), beaucoup plus fréquent, est principalement un problème de régulation progressive du glucose due à la combinaison de dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques et d'insulinorésistance (**Blair, 2016**).

Deux événements courants mais transitoires peuvent conduire à une émergence précoce de l'hyperglycémie chez les personnes sensibles : la grossesse ou un traitement de courte durée par des glucocorticoïdes. En conséquence, des personnes peuvent développer un « diabète gestationnel » ou un « diabète stéroïdien » en tant qu'affections distinctes mais néanmoins liées au DT2 typique (**Vounzoulaki et al., 2020 ; Simmons et al., 2012 ; Riddle et al., 2022**). Selon l'Association Américaine de Diabète (ADA), l'insulinothérapie adaptée aux besoins du patient est fondamentale pour la survie et la gestion efficace de la maladie du DT1 (**Davies et al., 2022**). D'après la FDA, il a été approuvé que le traitement du DT2 repose sur les biguanides (la metformine, sulfonilurées, méglitinides), inhibiteurs de l' α -glucosidase (IAG), thiazolidinediones (TZD), les inhibiteurs du sodium-glucose co-transporteurs 2 (SGLT2) et leurs combinaisons, les agonistes des récepteurs du glucagon-like peptide 1 (GLP-1) et les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) (**Tableau n°1**) (**Dahlén et al., 2022**).

Tableau n°1 : Les médicaments récemment approuvés (Dahlen et al., 2022).

Type	Agents	Mécanisme d'action	Date approuvée par FDA
Type insuline	Insuline lispro AABS (Lyumjef)	Action rapide	2020
Insuline-GLP1 R (Combinaison)	Insuline dégludec ; Liraglutide (Xultophy)	Améliorer le contrôle de la glycémie, longue durée d'action.	2016
Biguanides, iSGLT2 (Combinaison)	Metformine ; Ertugliflozine (Segluromet)	Réduit la glycémie en bloquant la réabsorption du glucose dans les reins.	2017
Biguanides, iSGLT2 et iDPP-4 (combinaison)	Metformine ; Linagliptin; Empagliflozine	Augmente la production d'insuline et diminue le taux de gluconéogenèse dans le foie	2020
iSGLT2	Ertugliflozine (Steglatro)	Bloquer la réabsorption dans les reins.	2017
iDPP-4et iSGLT2 (combinaison)	Saxagliptine; Dapagliflozine (Qtern)	Bloque la réabsorption du glucose, inhibe la libération de glucagon et augmente la sécrétion d'insuline.	2017

La metformine pénètre dans l'hépatocyte par l'OCT1 et s'accumule dans les mitochondries où elle inhibe le complexe I. Cela entraîne une réduction de l'ATP et une augmentation concomitante de l'AMP. Des niveaux élevés d'AMP conduisent à l'activation de l'AMPK, bien que la metformine puisse également promouvoir l'activation de l'AMPK de manière directe. L'AMPK inhibe la transcription des gènes gluconéogènes en empêchant la formation du

complexe CREB-CBP-CRTC2, à la fois directement et par l'intermédiaire de SIRT1. En outre, l'AMPK inhibe la lipogenèse par la phosphorylation de l'ACC, du ChREBP et du SREBP, ce qui contribue à améliorer la sensibilité à l'insuline (Pryor et Cabreiro., 2015) (Figure n°1).

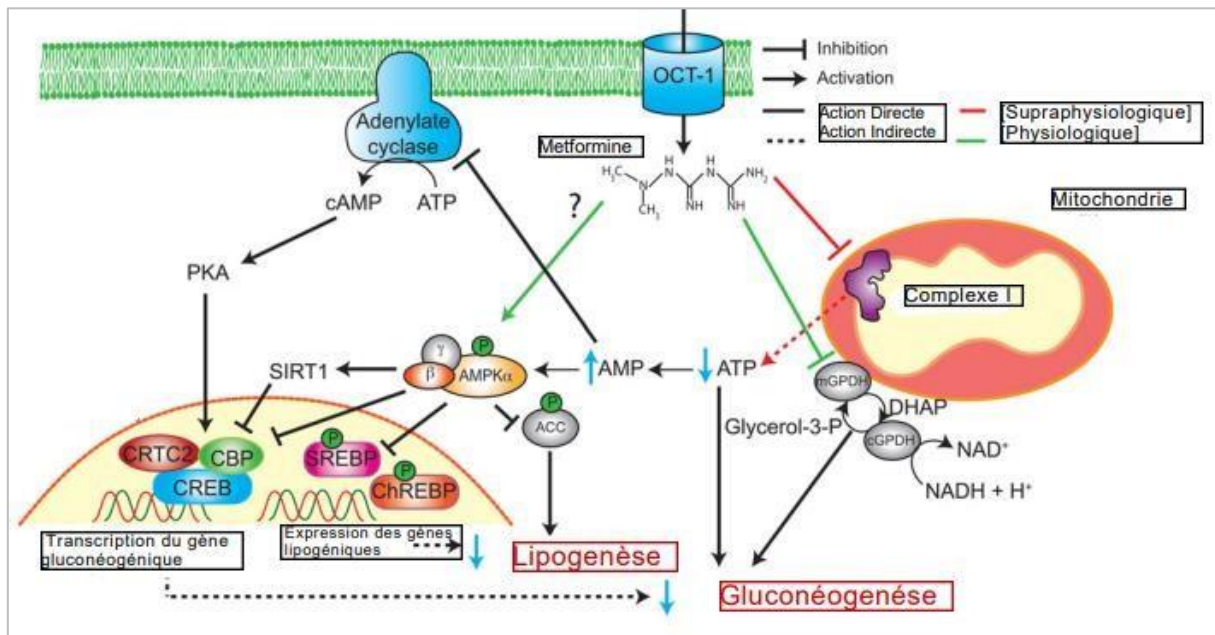


Figure n°1 : Le mécanisme d'action proposé pour la metformine (Pryor et Cabreiro., 2015).

Légende : OCT1 (Transporteur de cations organiques 1), AMPK (Adénosine 5 – protéine kinase monophosphate activé), DHAP (Dihydroxyacétone phosphate), cGPDH (Glycérophosphate déshydrogénase cytosolique), mGPDH (Glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale), PKA (Protéine kinase A), ACC (Acétyl-CoA carboxylase), SIRT1(Sirtuine hépatique 1), SREBP (Protéine de liaison à l'élément régulateur des stérols), ChREBP (Protéine de liaison à l'élément sensible aux glucides), CRTC2 (Coactivateur de transcription régulé 2), CREB (Protéine de liaison à l'élément de réponse à l'AMP cyclique).

Les données de prescription disponibles indiquent également une préférence croissante pour d'autres médicaments modernes, tels que les inhibiteurs de la DPP4 et du SGLT2. Ces médicaments sont très efficaces, mais ils sont plus couramment prescrits aux patients des pays économiquement développés, comme les États-Unis et le Canada, en raison de leur coût élevé (Dahlén et al., 2022).

Les inhibiteurs du transporteur de glucose couplé au Na⁺SGLT2 (iSGLT2) déplacent principalement la réabsorption de grandes quantités de glucose du tubule proximal précoce du rein vers les segments tubulaires en aval exprimant le SGLT1, et le glucose non réabsorbé est déversé dans l'urine avec une certaine diurèse osmotique (Vallon, 2024) (Figure n°02). Ils ont une efficacité glycémique intermédiaire à supérieure, avec une efficacité glycémique plus faible lorsque le débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) est plus bas (Davies et al., 2022).

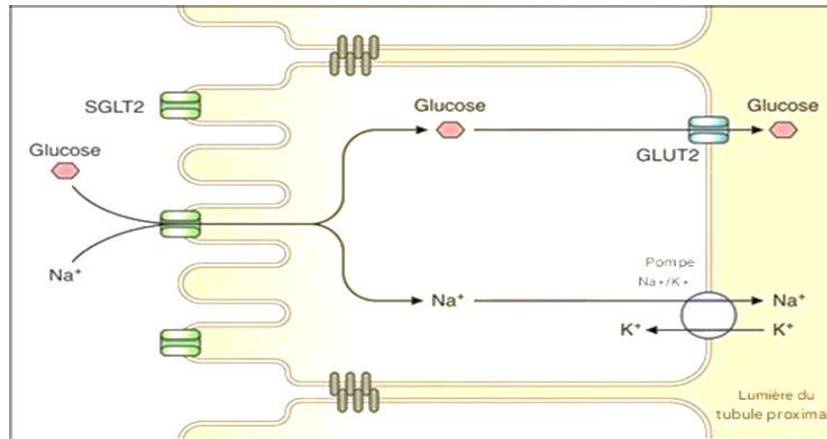


Figure n°2 : Le mécanisme d'action des inhibiteurs SGLT2 (Heerspink et al., 2016)

IL a été rapporté que les agonistes des récepteurs du peptide 1 de type glucagon (GLP1-R) et les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (i DPP-4) font partie des hormones à base d'incrétine qui traitent le DT2. Les agonistes de GLP1-R sont des insuline-sécréteurs anti-apoptotiques, qui exercent d'autres fonctions, par la diminution de la sécrétion de glucagon, et l'augmentation de la croissance des cellules β pancréatiques (Otto-Buczowska et Jainta., 2017). Les inhibiteurs de DPP-4 sélectifs sont des insuline-sécréteurs, qui bloquent la dégradation des hormones incrétines y compris la GLP-1 et La GIP (polypeptide insulino-trope dépendant du glucose), favorisant ainsi le contrôle de la glycémie et la contribution à des effets pléiotropes par lesquels le potentiel thérapeutique ; rénoprotecteur, anti-inflammatoire et cardioprotecteur est amélioré (Mulvihill et Drucker, 2014).

Des recherches scientifiques ont montré que les molécules de sulfonyles (SU) et les méglitinides inhibent les canaux ioniques potassiques dépendants de l'ATP, après leurs fixations sur les récepteurs des sulfonyles (RSU), qui se trouvent à la surface des cellules β -pancréatiques. L'augmentation de la concentration intracellulaire de cations potassium produit à une dépolarisation membranaire, ensuite, l'ouverture des canaux calciques voltage-gated est favorisée avec une accumulation de cations calciques cytosoliques, déclenchant ainsi la sécrétion d'insuline. Les méglitinides diffèrent des molécules (SU) par leurs sites de liaison au niveau des (RSU), et ils sont efficaces à condition des concentrations plus élevées en glucose (Hu et al., 2000 ; Sulis et al., 2019 ; Dahlén et al., 2022).

Les thiazolidinediones (TZD) agissent en modulant les récepteurs gamma-activés par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR γ) (Nanjan et al., 2018) ; un récepteur hormonal nucléaire présent au niveau du tissu adipeux, le foie, le cœur et les reins (Jones et al., 2021). Les (TZD) réduisent la production hépatique de glucose, augmentent l'utilisation périphérique du glucose et le métabolisme des lipides (Nanjan et al., 2018). Pour les adipocytes, le rapport entre l'adipogenèse et l'apoptose est également modifié de manière différentielle, favorisant l'apoptose des grandes cellules résistantes à l'insuline et la prolifération des petits adipocytes sensibles à l'insuline. Ce phénomène s'accompagne d'une modification de la répartition de la graisse, qui passe des dépôts centraux aux dépôts périphériques (Macisaac et Jerums., 2004).

Une approche thérapeutique efficace pour contrôler l'hyperglycémie associée au diabète de type 2 consiste à cibler l'activité des enzymes digestives α -amylase et α -glucosidase, qui hydrolysent l'amidon dans l'intestin. À l'heure actuelle, les inhibiteurs approuvés de ces enzymes se limitent à l'acarbose, au miglitol et au voglibose. L'acarbose, un pseudo-tétrasaccharide composé d'un groupement valiénol lié par l'azote à l'isomaltotriose. Cette molécule a une affinité 10^4 à 10^5 fois plus élevée pour les α -glucosidases que les oligosaccharides naturels et inhibe cette enzyme de manière compétitive (Rosak and Mertes 2012 ; Dirir et al., 2022).

Bien que ces inhibiteurs retardent l'absorption du glucose, des effets secondaires gastro-intestinaux indésirables entravent leur application. Les produits naturels d'origine végétale constituent une source précieuse d'agents thérapeutiques (Tableau n°2) présentant une toxicité et des effets secondaires moindres (Dirir et al., 2022).

Tableau n°2 : Effets inhibiteurs de certains produits naturels sur l'activité de l' α -glucosidase.

Composé chimique	Classe	Mode d'inhibition	Type d'interaction	Référence
δ -viniferine	Stilbènes	Compétitive	Liaisons hydrogène avec Asp69, Asp215, Glu411, Ser157 et Pro312. Interactions hydrophobes avec Tyr158 (π - π empilé), Phe303 (π - π empilé), Tyr72 (π - π forme T-), Arg315 (Alkyl, π -Alkyl).	(Ha et al., 2020)
Procyanidine B2	Tannins	Non-compétitive	Interaction hydrophobe avec Pro-312 (π -Alkyl).	(Zhang et al., 2024) (Wang et al., 2019)
Naringenine	Flavonoïde	Compétitive	Liaisons hydrogène avec Asp571, Ser448 et Tyr609.	(Priscilla et al., 2014)
Vitexine	Flavonoïde	Non-compétitive	Liaisons hydrogène avec Glu271, Asn259, Glu296, Leu297, Thr290, Ala292. Interaction hydrophobe avec Trp15 (π - π forme T-).	(Ni et al., 2020)
Cypaliuruside J	Triterpénoïde	Non-compétitive	Liaisons hydrogène avec Lys155, Arg312, Asp214, Asp488.	(Zhou et al., 2021)
S. fusiforme polysaccharide (SFP-1)	Polysaccharides	Mixte	Nd	(Zhang et al., 2022)

La thérapie pharmacologique du DT2 a connu des progrès majeurs au cours des dix dernières années, et de nouveaux mécanismes sont actuellement explorés dans le cadre du développement clinique (Dahlén et al., 2022).

Parmi les recherches menées sur le traitement du DT2, il a été cité, les agonistes des récepteurs couplés à la protéine G, les agonistes de récepteurs de l'hormone thyroïdienne (THR), l'inhibiteur de la diacylglycérol acyltransférase (iDGAT) et l'activateur de la protéine tyrosine kinase (**Tableau n° 3**). Selon l'étude de **Lin et Sun., (2011)**, il a été rapporté que l'agoniste du récepteur de l'hormone thyroïdienne réagit par l'augmentation de la sensibilité à l'insuline et la diminution des concentrations de glucose. D'autres études ont montré que l'inhibiteur de la diacylglycérol acyltransférase (iDGAT) exerce un rôle hépatoprotecteur, qui influence indirectement la glycémie par la protection des cellules β des îlots de Langerhans (**Zhu et al., 2019 ; Hong et al., 2020**). D'autre part, l'étude de **Hunter et al., (2018)**, a noté que, l'inhibiteur de la fructose-1,6-bisphosphatase-1 (iFBP1) inhibe la gluconéogenèse. En outre, l'étude réalisée sur l'activateur de la protéine tyrosine kinase : Tolimidone (MLR-1023), a montré que cet agent thérapeutique phosphoryle les substrats du récepteur de l'insuline, et diminue la signalisation du récepteur de l'insuline (**Lee et al., 2020 ; Lipinski et Reaume, 2020**). Tandis que, l'étude de **Harrison et al., (2020)**, a rapporté que le modulateur de la protéine de transport membranaire mitochondrial (MSDC-0602K) a significativement augmenté la sensibilité à l'insuline. Toutes ces études sur les traitements antidiabétiques récemment citées sont en cours de développement clinique, orientées vers trois niveaux de ciblage : les récepteurs, les enzymes et les transporteurs (**Dahlén et al., 2022**).

Tableau n°3 : Mécanisme d'action des agents thérapeutiques antidiabétiques en cours du développement clinique.

Lieu de Fixation	Type	Mécanisme d'action	Références
Récepteurs	Agoniste du récepteur 119 couplé à la protéine G (GPR119)	Stimulation de la sécrétion de l'insuline et des incrétines	(Ritter et al., 2016)
	Agoniste de récepteur de l'hormone thyroïdienne (THR)	Augmentation de la dépense énergétique et de la sensibilité à l'insuline, avec diminution des concentrations de glucose.	(Lin et Sun, 2011)
Enzymes	Inhibiteur de la diacylglycérol acyltransférase (iDGAT)	Effet Hépatoprotecteur, affecte indirectement la glycémie en augmentant la sensibilité à l'insuline, et protègent les cellules β des îlots de Langerhans.	(Zhu et al., 2019 ; Hong et al., 2020)
	Inhibiteur de la fructose-1,6-bisphosphatase-1 (iFBP1)	Inhibition de la gluconéogenèse	(Hunter et al., 2018)
	Stimulant de la protéine tyrosine kinase : Tolimidone (MLR-1023)	Phosphorylation des substrats du récepteur de l'insuline, ce qui atténue la signalisation du récepteur de l'insuline.	(Lee et al., 2020; Lipinski et Reaume, 2020)
Transporteurs	Modulateur de la protéine de transport membranaire mitochondrial (MSDC-0602K)	Augmentation de la sensibilité à l'insuline	(Harrison et al., 2020)

Les résultats épidémiologiques ont mis en évidence une forte augmentation de l'incidence de la maladie d'Alzheimer : Selon les estimations, le nombre de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer passera de 26,6 millions dans le monde en 2006 à 107 millions d'ici 2050, dont 16,5 en Europe (**Calabrò et al., 2020**). En outre, la prévalence mondiale de la démence et au Moyen-Orient et en Afrique du Nord est en augmentation alarmante entre 2010 et 2050 (**Safiri et al., 2023**). La plupart des études ont révélé un risque plus élevé de développement de la maladie d'Alzheimer chez les femmes que chez les hommes, les femmes ménopausées présentant une susceptibilité accrue.

Ce lien entre les facteurs sexuels et la privation d'œstrogènes à long terme souligne l'importance de la signalisation œstrogénique dans la progression de la maladie d'Alzheimer (**Wang et al., 2024**).

La maladie d'Alzheimer (MA), principale cause de démence dans le monde, se caractérise par l'accumulation du peptide β -amyloïde ($A\beta$) dans le cerveau, ainsi que des formes hyperphosphorylées et clivées de la protéine *Tau* associée aux microtubules (**O'Brien et al., 2011**).

L' $A\beta$ est dérivé d'une grande protéine appelée protéine précurseur de l'amyloïde (APP). L'APP peut être clivée par l'action d'enzymes appelées α -, β - et γ -sécrétase. Chez les individus normaux, l'APP est d'abord clivée par l' α -sécrétase, puis par la γ -sécrétase (**Wilkins., 2017 ; Calabrò et al., 2020**). Tous les gènes mutants de la MA héréditaire, autosomique, familiale dominante, dont la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), la préséniline 1 et la préséniline 2 codent les principales protéines impliquées dans le métabolisme de l'amyloïde (**Selkoe., 1991 ; Huang et al., 2020**).

Tau est une protéine associée aux microtubules qui contribue à l'assemblage et à la stabilisation des microtubules. Dans la MA, la protéine *Tau* devient hyperphosphorylée et s'agrège pour former des filaments hélicoïdaux appariés, un composant majeur des enchevêtrements neurofibrillaires (NFT) dans le cytoplasme neuronal (**Medina et Avila., 2014 ; Huang et al., 2023**). Par conséquent, la déstabilisation des microtubules provoque l'empêchement du transport des nutriments et des vésicules entre les cellules neurales (**Lee et al., 2001**). La microglie joue un double rôle dans la MA, un rôle protecteur en éliminant les dépôts de peptides amyloïdes β en augmentant la réponse phagocytaire (CD163, IGF-1 ou BDNF), et un rôle cytotoxique en libérant des radicaux libres (ROS ou NO) et des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β) en réponse à la gliose réactive stimulée par les agrégats d'amyloïde β (**Revuelta et al., 2022**). Par conséquent, cette réponse neuro-inflammatoire détruit les cellules neuronales (**Huang et al., 2020**). La mort neuronale ou l'atrophie cérébrale induite

par l'amyloïde, la protéine *Tau* et la neuroinflammation pourrait être empêchée grâce à des thérapies neuroprotectrices, qui comprennent la suppression des voies de signalisation des acides aminés excitables, les piègeurs de radicaux libres et les activateurs de régénération (**Chi et al., 2018 ; Huang et al., 2020**).

Parmi les médications qui sont en cours du développement clinique, il a été cité un traitement anti-amyloïde l'ADUCANUMAB ; un anticorps monoclonal entièrement humain, il bloque l'accumulation de l'amyloïde par la formation d'une liaison avec l'extrémité N- terminale des fibrilles d'A β (**Arndt et al., 2018**). De plus, il a été rapporté que le vaccin ACI- 35 a réagi en tant qu'un traitement anti-*Tau*, qui provoque une réaction immunitaire par la production des anticorps qui éliminent les protéines *Tau* phosphorylées, et minimiser la progression de la MA. En outre, une étude sur le traitement neuro-anti-inflammatoire, a montré que le MASITINIB ; un inhibiteur de la tyrosine kinase a significativement pénétré dans le système nerveux central et a inhibé l'activité des microglies (**Li et al., 2020 ; Huang et al., 2023**).

D'autre part, il a été rapporté dans une étude récemment publiée, que les composés d'origines végétal exercent également un rôle important contre les maladies neurodégénératives y compris la MA, notamment la punicalagine réduit la neuroinflammation et l'amyloïdogenèse induites par le lipopolysaccharide. En plus, il a été noté que, la morine et la nobiletine neutralisent les radicaux libres intracellulaires, et protègent contre la mort cellulaire. En outre, il a été cité que l'hésperétine exerce un rôle anti apoptotique en minimisant la perte et la dégénérescence des neurones, tandis que, l'acide chébulagique active l'autophagie dans les cellules cérébrales (**Figure n°3**) (**Roy et al., 2024**).

Il a été noté que le système cholinergique central est crucial pour le fonctionnement de la mémoire, de plus, un groupe des inhibiteurs de l'acétylcholinérase (ChE-Is) dont le donépézil, la rivastigmine et la galantamine peuvent développer les fonctions cognitives et comportementales (**Tan et al., 2014 ; Zemek et al., 2014 ; Li et al., 2019**). Ils inhibent le métabolisme de l'acétylcholine, le transmetteur cholinergique dans les régions du cerveau responsables de la cognition (**Sridhar, 2021**).

Le donépézil est un inhibiteur puissant, sélectif, non compétitif et rapidement réversible de l'acétylcholinérase (AChEI), homologué pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA) (**Jelic et Darreh-Shori, 2010**).

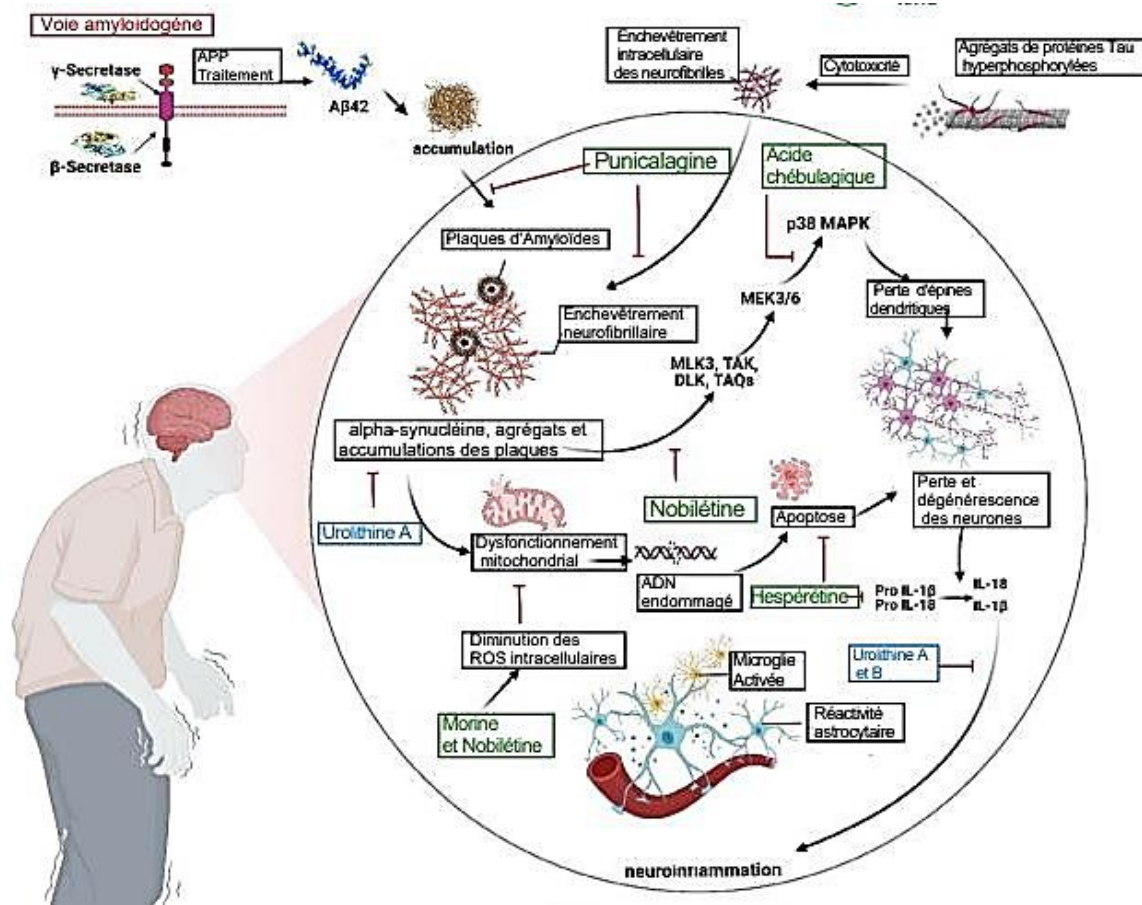


Figure n°3 : Les cibles d'inhibition de certains produits naturels contre la maladie d'Alzheimer (Roy et al., 2024).

Le stress oxydatif est défini par un déséquilibre entre des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une faible activité des mécanismes antioxydants (Preiser, 2012). Les dommages oxydatifs survenant simultanément dans de nombreuses structures cellulaires peuvent entraîner une détérioration de la fonction, y compris l'apoptose et la nécrose (Tejchman et al., 2021). Le stress oxydatif influence le vieillissement, la carcinogenèse et le syndrome métabolique, tels que le diabète et les maladies cardiovasculaires (Daenen et al., 2019 ; Tejchman et al., 2021).

Il a été rapporté que le stress oxydatif peut également être produit par les ROS formés dans le cerveau via la réaction de Fenton, après l'augmentation des métaux toxiques comme le fer, le zinc et le cuivre, qui se fixent sur l'Aβ par une forte affinité et favorisent ainsi la progression de la MA (Mamelak, 2007 ; Valko et al. 2005 ; Jomova et al., 2023).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS) sont les termes utilisés collectivement pour décrire les radicaux libres et d'autres dérivés réactifs non radicalaires connus sous le nom d'oxydants (Valko et al., 2007 ; Oguntibeju, 2019).

Les radicaux libres biologiques sont des molécules très instables issues du métabolisme cellulaire normal. Ils possèdent des électrons qui peuvent réagir avec divers substrats organiques tels que les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (**Valko et al., 2007 ; Oguntibeju, 2019**). Ils sont bien connus pour jouer un double rôle en tant qu'espèces à la fois nuisibles et bénéfiques, puisqu'ils peuvent être soit nocifs, soit bénéfiques pour les systèmes vivants (**Valko et al., 2007 ; Oguntibeju, 2019**). Des niveaux faibles à intermédiaires de ROS et de RNS sont nécessaires au maintien de nombreuses fonctions physiologiques importantes, à l'homéostasie redox et à la régulation de facteurs de transcription clés (**Liguori et al., 2018 ; Jomova et al., 2023**).

Les ROS peuvent être divisés en deux groupes : les radicaux libres et les non-radicaux. Les radicaux libres sont des molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés (-), ce qui leur confère une grande réactivité. Les ROS qui partagent leurs électrons non appariés sont des formes non radicales (**Halliwell et al., 2004 ; Tejchman et al., 2021**). Ils présentent d'importantes différences chimiques, mais partagent des mécanismes similaires de dommages au niveau des biomolécules (**Halliwell et al., 2004 ; Tejchman et al., 2021**). De plus, il a été rapporté que les ROS du premier groupe d'importance physiologiques comprennent l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et le radical hydroperoxyde, et ceux du second groupe représentent le peroxyde d'hydrogène (**Birben et al., 2012 ; Tejchman et al., 2021**) en outre, il a été noté que de nouvelles ROS ont été identifiées, incluant le chlore, le brome et des espèces dérivées du soufre (**Phaniendra et al., 2015 ; Tejchman et al., 2021**).

Les antioxydants neutralisent les effets des ROS et contribuent ainsi à la prévention des maladies. Ils peuvent être classés en trois catégories principales ; les antioxydants de première ligne qui comprennent la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR) et des minéraux tels que Se, Cu, Zn, etc. Les antioxydants de défense de deuxième ligne, comprennent le glutathion (GSH), la vitamine C, l'albumine, la vitamine E, les caroténoïdes, les flavonoïdes, etc. Les antioxydants de défense de troisième ligne qui comprennent un groupe complexe d'enzymes pour la réparation de l'ADN endommagé, des protéines endommagées, des lipides oxydés et des peroxydes. Exemples : Lipase, protéase, enzymes de réparation de l'ADN, transférases, méthionine sulfoxyde réductase, etc (**Irshad et Shaudhuri, 2003 ; Sindhi et al., 2013**).

La superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme antioxydante qui élimine les radicaux d'oxygène par des cycles d'oxydation/réduction à une vitesse de réaction très élevée grâce aux ions métalliques de transition présents sur le site actif. Ces cofacteurs ont tendance à donner des électrons à l'O₂ et à les régénérer tout au long du mécanisme catalytique. La SOD décompose O₂^{•-} en H₂O₂ en libérant de l'oxygène moléculaire (**Zelko et al, 2002 ; Zheng et al., 2023**).

L'albumine sérique humaine (HSA) est une protéine plasmatique multifonctionnelle abondante, non glycosylée et chargée négativement, avec des propriétés de liaison aux ligands et de transport, ainsi que des activités enzymatiques (**Quinlan et al., 2005**). L'albumine agit comme un puissant antioxydant en neutralisant directement les radicaux hydroxyles et les radicaux peroxydes, en inhibant la peroxydation des lipides et en piégeant les radicaux superoxydes. En outre, l'albumine neutralise indirectement l'oxygène singulet en liant les molécules hydrophobes (**Watanabe et al., 2025**).

Dans une étude, il a été rapporté que les enzymes de réparation de l'ADN ont été également considérées comme des antioxydants essentiels pour lutter contre le stress oxydatif induit par les rayonnements ultraviolets (UV) sur la peau. Ces enzymes comprennent la Nudix hydrolases (NUDT), la 8-oxo G glycosylase (OGG1) et l'homologue de MutY, dont leur fonctionnement est basé sur la voie de réparation de l'excision des nucléotides (NER), notamment la 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG) dans l'ADN (**Michaels et al,1992 ; Garcia-Mouronte et al., 2024**).

Les antioxydants peuvent être naturels ou synthétiques, mais en raison de leurs effets toxiques et cancérigènes, les antioxydants chimiques, tels que le butylhydroxyanisole et le butylhydroxytoluène, sont remplacés par des antioxydants naturels (**Botterweck et al., 2000 ; Akhtar et al., 2018**). Les plantes médicinales représentent une source importante d'antioxydants, offrant une gamme variée de substances phytochimiques dotées de puissantes propriétés de piégeage des radicaux libres. Les polyphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines (telles que les vitamines C et E) et d'autres composés bioactifs des plantes médicinales présentent une activité antioxydante qui contribue à leurs effets thérapeutiques (**Heck et al., 2007 ; Sultana et al., 2023**).

Les polyphénols sont une classe de composés contenant un cycle benzénique lié à un ou plusieurs groupes hydroxyles. Les flavonoïdes constituent un sous-groupe de composés polyphénoliques que l'on trouve en abondance dans les plantes médicinales (**Heck et al.,2007**). Les flavonoïdes sont constitués de deux anneaux benzéniques ; ainsi, les chalcones, les flavones, les flavanols, les flavanones, les anthocyanines et les isoflavones sont les principaux flavonoïdes, qui sont souvent de couleur vive (**Harborne, 1998 ; Tawajj et al., 2022**).

Chimiquement, les flavonoïdes sont des substances polyphénoliques de faible poids moléculaire basées sur un squelette à 15 carbones, composé de deux cycles aryles (A et B) reliés par un cycle pyranique hétérocyclique (cycle C) et formant le noyau flavanique $C_6-C_3-C_6$ illustré dans la figure n°4 (Petruzza et al., 2013 ; Sandhar et al., 2011 ; Catarino et al., 2016). La majorité des flavonoïdes naturels partagent divers substituants sur leurs cycles A et B, tels que les groupes hydroxyles et méthoxyles (Kumar et Pandey, 2013 ; Catarino et al., 2016).

Les flavones et les flavon-3-ols, qui diffèrent par l'absence ou la présence d'un groupe 3-hydroxyle dans le cycle pyranone, sont les catégories de flavonoïdes les plus abondantes dans la nature. Les flavanones et les dihydroflavon-3-ols sont des dérivés saturés (absence de fonction $C_2=C_3$ insaturée sur le cycle pyranonique) des flavones et des flavon-3-ols, respectivement. Les flavanols ont un squelette similaire à celui des flavanones, à l'exception du groupe 4-céto qui est absent dans les premiers (Figure n°5) (Kumar et Pandey, 2013 ; Jurd, 1972 ; Catarino et al., 2016).

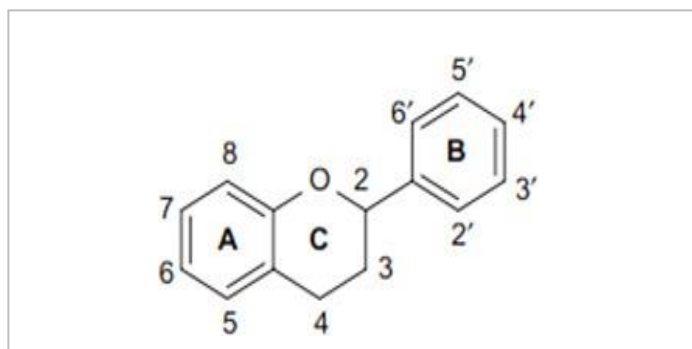


Figure n°4 : La structure de base des flavonoïdes ; le noyau flavanique (Catarino et al., 2016).

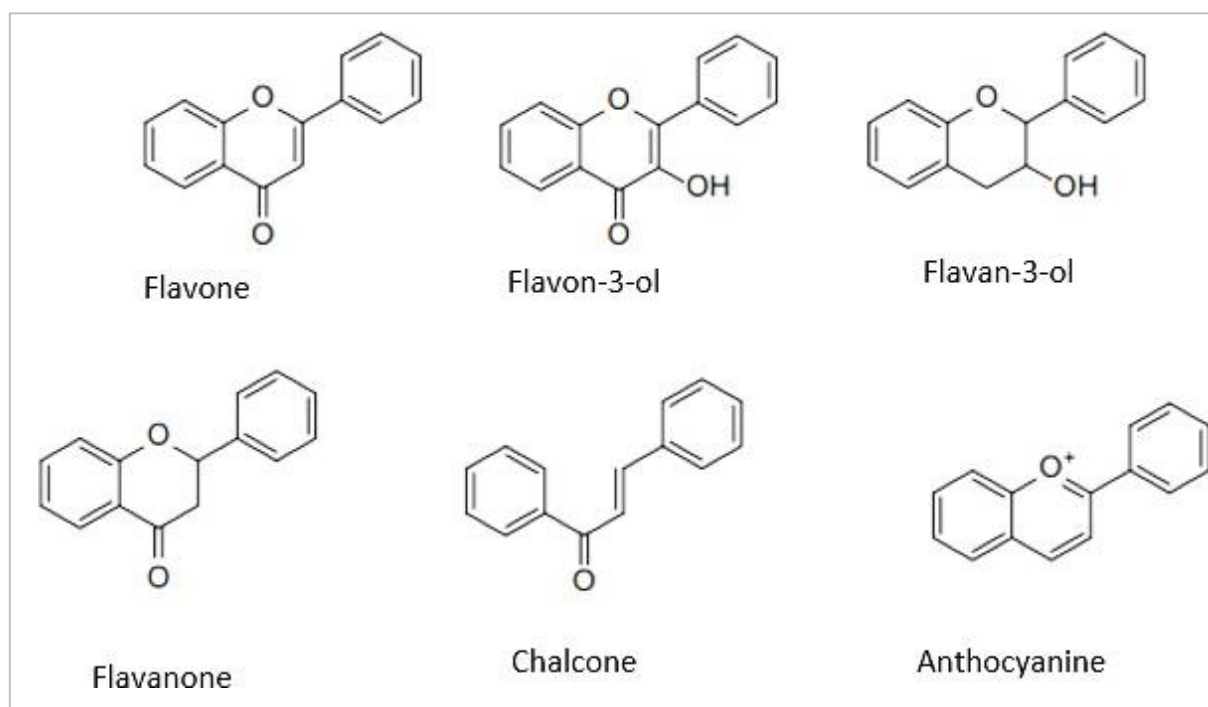


Figure n°5 : Principales classes des flavonoïdes (Catarino et al., 2016).

Les acides phénoliques simples peuvent être classés en acides hydroxybenzoïques (acides gallique, protocatéchique, hydroxybenzoïque et syringique) et en acides hydroxycinnamiques (acides p-coumarique, caféique, férulique et sinapique) et présentent une grande valeur commerciale (Da Silva et al., 2023). Ce sont des métabolites secondaires aromatiques qui donnent de la couleur, la saveur, de l'astringence et la rudesse, et qui contribuent aux caractéristiques organoleptiques typiques des aliments (Anantharaju et al., 2016 ; Rashmi et Negi., 2020).

Les terpénoïdes sont une grande classe de métabolites secondaires naturels des plantes dont la structure est très diversifiée, formés à partir d'unités isoprènes (C_5), associés à un large éventail de propriétés biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, anticancéreuses, antimétastatiques, antiangiogénèse et induction de l'apoptose. Ils sont considérés comme des applications potentielles dans les industries alimentaire, cosmétique, pharmaceutique et médicale (Câmara et al., 2024).

Les alcaloïdes représentent une grande famille de composés organiques de faible poids moléculaire contenant au moins un atome d'azote. Ils sont principalement dérivés d'acides aminés et incorporés dans des structures cycliques complexes (Zhu et al., 2023). Ils sont classés à l'aide de différentes signatures telles que les sources naturelles ou la nature chimique. La classification la plus correcte et la plus courante des alcaloïdes est leur répartition selon la structure

principale, le squelette C-N principal (**Ahmed, 1998 ; Bribi, 2018**). Les grands groupes des alcaloïdes comprennent les pyrrolidine, pyridine, quinoléine, isoquinoléine, indole, quinazoline, et autres alcaloïdes (**Figure n°6**) (**N. Bribi, 2018**).

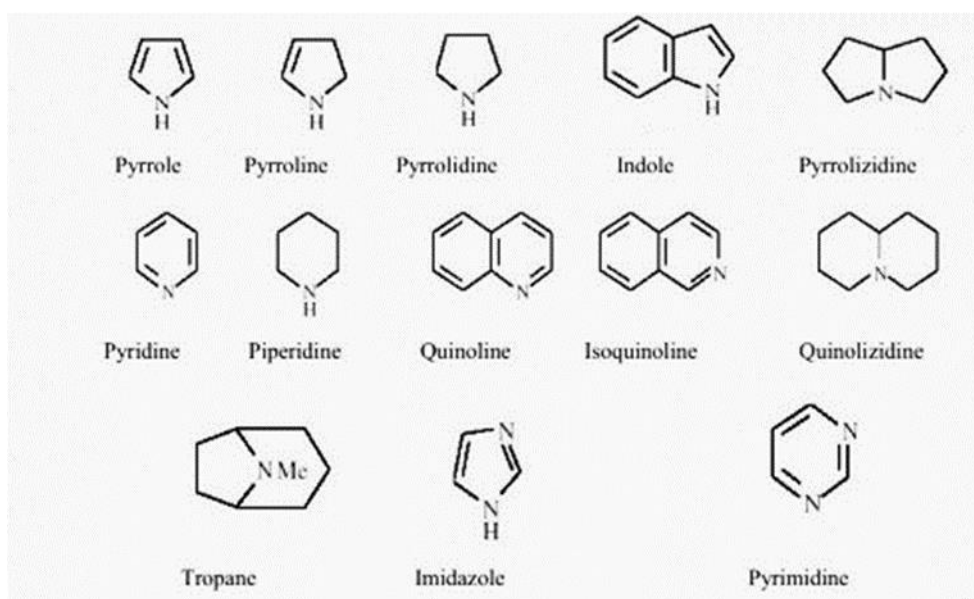


Figure n°6 : Structure hétérocyclique du squelette constituant le groupe des alcaloïdes (**Bribi, 2018**).

Les alcaloïdes présentent plusieurs activités pharmacologiques sur la santé humaine, telles que les activités anticancéreuses, anti-inflammatoires, antipaludiques, antimicrobiennes, antihypertensives, antidiabétiques et antioxydantes. Les alcaloïdes agissent directement sur le système nerveux central du corps humain et affectent également l'acide nucléique, l'ADN (acide désoxyribonucléique), l'ARN (acide ribonucléique), la perméabilité des membranes et les protéines (**Rajput et al., 2022**). Selon plusieurs études, il a été mentionné que la plante *Peganum harmala* est connue par sa forte teneur en alcaloïdes notamment les β -carboline, l'harmine et l'harmaline, ainsi par leurs effets thérapeutiques (**Moloudizargari et al., 2012**).

Peganum harmala appelée la rue verte ou la rue sauvage est connue sous le nom de "Harmal" en Afrique du Nord (**Lamchouri et al., 2000 ; Asgarpanah et Ramezanloo., 2012**). C'est une plante à fleur largement distribuée en Asie Centrale, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient. Elle a également été introduite en Amérique et en Australie. En Algérie, elle est située aux steppes du Sud Saharien (**Ozenda, 1991**). A travers les décennies, et particulièrement en Algérie, le Harmal était un remède authentique réputé pour traiter plusieurs maladies. Parmi les pratiques médicales traditionnelles citées récemment dans une étude ethnobotanique réalisée dans la région

saharienne d'Oued Righ, il y'avait l'usage de graines de *P. harmala* en décoction, en tisane et en pommade, pour traiter les infections de système urinaire et reproductif, les infections causées par les ténias, l'ictère, la fièvre, le rhume, la toux et la grippe (**Lakhdari et al., 2016**).

De plus, une étude d'ethnopharmacologie dans la région d'Ouargla, a mentionnée l'usage des graines en infusion, pour traiter le diabète de type 2 (**Telli et al., 2016**). D'autre part, plusieurs études ont montré des propriétés pharmacologiques de cette plante notamment, l'activité antiamnésique, anticancéreuse et antidépressive (**Gökkaya et al., 2023**). De plus, *P. harmala* a été connue par leur effets thérapeutiques antibactérien, antifongique et antipruritique (**El Rifaie.,1980**).

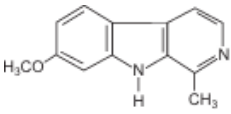
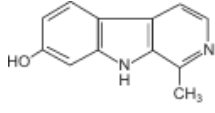
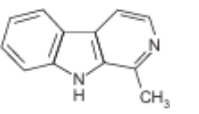
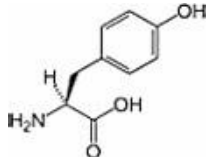
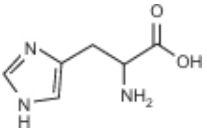
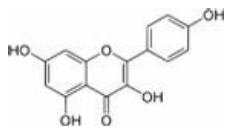
Peganum harmala L., appartient à la famille des Zygophyllaceae, est une plante herbacée, annuelle, vivace, glabre. Les tiges aériennes s'élèvent de 30 à 100 centimètres de hauteur, atteignant rarement 200 cm. La racine principale est charnue et brun foncé à l'extérieur comme à l'intérieur ; les branches sont nombreuses et les racines primaires sont en outre ramifiées, créant de minuscules radicules fines. Les racines sont lourdes. Le système aérien peut produire de nombreuses tiges latérales à partir de la base ; en général, les plantes sont très ramifiées à la base. Les tiges sont manifestement vertes et remplies d'une moelle molle, résistante mais facile à briser. La surface est rugueuse et des rainures longitudinales irrégulières sillons longitudinaux irréguliers. Il est facile à reconnaître à partir de la région interne ou des coupes transversales, car la moelle est continue sans aucune cavité. La plante entière est lisse et glabre, verte, et caractérisée par la forte odeur de la plante séchée. Cette plante est collante en raison d'exsudats épais, ce qui lui confère une certaine dureté et un bruit de frottement lorsqu'on la frotte entre les doigts (**Ozenda, 1991 ; Shahrajabian et al., 2021 ; Arslan, 2024**). Les graines sont petites environ 2 mm de taille, de saveur amère, elles sont pyramidales, anguleuses, de couleur marron foncé tirant sur le rouge, à tégument externe réticulé (**Figure n°7**) (**Hammiche et al., 2013**).



Figure n°7 : Une photo des différentes parties de *Peganum harmala* L. partie aérienne (a) fleur (b), fruits (c) et graines (d) (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

La grande diversité d'applications de la plante *P. harmala* peut être attribuée à sa composition en métabolites secondaires alcaloïdes, flavonoïdes, triterpénoïdes, anthraquinones, huiles volatiles et sa teneur en protéines, acides gras, vitamines et en minéraux (Sharma et al., 2022). Le tableau ci-dessous résume les structures chimiques de certains composés phytochimiques identifiés dans les graines de *Peganum harmala*.

Tableau n°4 : Structure chimique de quelques composants phytochimiques des graines de *P. harmala* (Marwat et Rehman., 2011).

Composé	Structure moléculaire	Groupe
Harmine C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O		Alcaloïdes
Harmol C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O		
Harman C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O		
Tyrosine C ₉ H ₁₁ NO ₃		Acides aminés
Histidine C ₉ H ₆ N ₂ O ₃		
Kaempferol C ₁₅ H ₁₀ O ₆		Flavonoïde

La teneur totale en alcaloïdes de *P. harmala* varie entre 2 et 5 %. L'harmaline, l'harmine, l'harmalol, l'harmol et la tétrahydroharmine sont identifiés comme étant le principal alcaloïde β -carboline dans les extraits de cette plante, les graines et les racines sont les plus riches en alcaloïdes, tandis que les tiges et les feuilles en contiennent peu, et les fleurs en sont dépourvues (Majid, 2018).

Bien que l'harmaline et l'harmine soient les alcaloïdes les plus importants, généralement responsables de l'effet thérapeutique, de nombreuses études montrent que d'autres alcaloïdes présents dans *P. harmala* jouent également un rôle dans les effets pharmacologiques de la plante. La vasicine et la vasicinone sont des alcaloïdes quinazoliniques qui ont été découverts pour la première fois dans les fleurs et les tiges de *P. harmala*. (Khawar et al., 2005 ; Majid, 2018).

Dans une étude portant sur six alcaloïdes de la harmel (harmine, harmane, harmalol, harmol, harmaline et norharmane), l'harmane et l'harmine présentaient l'activité la plus élevée en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'agrégation plaquettaire induite par le collagène, et ils présentent donc le plus grand intérêt potentiel en tant que médicaments contre les maladies athérotrombotiques (**Im et al. 2009 ; Lansky et al., 2017**).

Selon **Gu et al. (2015)** et **Lansky et al., (2017)** ont constaté que le chlorhydrate d'harmine était un puissant inhibiteur de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), avec une inhibition de 32,4 % à 10 mM contre 54,8 % à 50 µM pour la diprotine A, un produit pharmaceutique antidiabétique de synthèse.

Dans la littérature, les polyphénols ont été moins identifiés dans cette plante par rapport aux alcaloïdes. Cependant, quatre flavones glycosides ont été trouvés dans les parties aériennes de *P. harmala* à partir des extraits hydrométhanoliques dont l'acacétine 7-O-rhamnoside, acacétine-7-O-[6''-O-glucosyl-2''-O-(3'''-acetylramnosyl)glycoside, acacétine- 7-O-(2'''-O-rhamnosyl-2''-O-glucosyl)glucoside) et le glycoflavone 2''-O-rhamnosyl-2''-O-glucosylcytoside (**Li et al., 2017 ; Gökkaya et al., 2023**). Tandis que, les graines de cette plante renferment une composition riche et variable en flavonoïdes y compris les flavonols glycosides tels que la rutine, de plus, les flavanols, notamment, la catéchine, et les flavanones tels que l'hespérétine, qui ont été également présents dans les extraits hydrométhanoliques de

P. harmala (**Moazeni et al., 2017 ; Gökkaya et al., 2023**). En outre, des acides phénoliques dérivés de l'acide hydroxycinnamique et l'acide hydrobenzoïque, essentiellement cités, l'acide p-coumarique, l'acide chlorogénique (**Moazeni et al., 2017**), l'acide caféique, l'acide rosmarinique et l'acide protocatéchique (**Al Ansary et al., 2020**), qui ont été ainsi identifiés dans les extraits hydrométhanoliques des graines et les feuilles de *P. harmala* (**Gökkaya et al., 2023**). D'autre part, la présence des triterpénoïdes, notamment, lupane et oléane, ont été identifiés, ainsi les anthraquinones y compris peganone 1 et peganone 2, dans des extraits hydroéthanoliques (70%) des graines de *P. harmala* (**Li et al., 2020 ; Gökkaya et al., 2023**).

Tandis que, les acides gras insaturés et saturés ainsi que leurs dérivés ont été déterminés dans des extraits de n-hexane préparés à partir la plante entière de *P. harmala* (**Moussa et Almaghrabi., 2016 ; Gökkaya et al., 2023**).

Il a été également rapporté que les graines de *Peganum harmala* sont également riches en protéines. En effet, il a été enregistré qu'une protéine de 15 KD a été isolée et a contribué aux effets protecteurs et curatifs contre le stress oxydatif induit par le tétrachlorure de carbone dans le cerveau, et les érythrocytes des rats, dont l'effet antioxydant a été plus puissant que celui de la vitamine C (Soliman et Fahmy, 2011). En outre, une autre protéine de 16 KD a exercé une activité antifongique contre *Alternaria alternata*, *Penicillium degitatum*, *Rhizopus stuolonifer* et *Magnaporthe grisea* ; et une activité anticancéreuse en inhibant la prolifération des cellules du carcinome, de l'œsophage (Eca-109), cervical (HeLa), gastrique (MGC-7) et du mélanome (B16) (Ma et al., 2013).

D'après l'étude de Li et al., (2018), il a été déterminé que les teneurs en saccharose, en proline, en acide acétique, en bêtaïne et en lysine dans les racines de *P. harmala* étaient beaucoup plus élevées que celles des autres parties de la plante. Parmi ces métabolites, le saccharose, et l'acide acétique sont des régulateurs osmotiques dans les plantes (Ahmad et Wani., 2013), de plus, la proline et la bêtaïne agissent comme des piègeurs des radicaux libres (Ashraf et Foolad., 2007). En effet, l'étude de S. Senhadji et al., (2022), a enregistré des teneurs importantes en composition minérale des graines de *Peganum harmala*, notamment, en potassium et en fer, suivies par le sodium, le magnésium, le phosphore, le cuivre, calcium. De plus, ces minéraux sont considérés comme de puissants antioxydants, certains oligo-éléments participent aux mécanismes de défense des cellules humaines contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Spears et al., 2008 ; Negi et al., 2012 ; Senhadji et al., 2022).

Matériels et méthodes

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du laboratoire de recherche Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Tlemcen. Algérie. Dans le cadre des bourses de formation et mobilité des étudiants ERASMUS attribuée par l'université de Tlemcen, une partie de ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche « LAQV-REQUIMTE », Département de Chimie, Université d'Aveiro, Portugal.

Deux grandes parties ont été réalisées dans cette étude, et qui sont comme suit ;

- La première partie concerne une analyse phytochimique des extraits préparés à partir de graines de *P. harmala*, il s'agit de l'extrait aqueux, eau-acétone, hydrométhanol et leurs fractions acétate d'éthyle et 1-butanol, la détermination de leurs teneurs en polyphénols, ainsi que la caractérisation de leurs composés phytochimiques.

- La deuxième partie est consacrée à la valorisation des activités biologiques des extraits préparés. Nous nous sommes intéressées à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par piégeage des radicaux libres en utilisant le DPPH, ABTS, oxyde nitrique ($\bullet\text{NO}$), superoxyde ($\text{O}_2\bullet^-$), par le test de réduction du fer (FRAP), et par le test de l'hémolyse induite par l'AAPH. La recherche de l'activité antidiabétique a fait également l'objet de cette étude et a été évaluée par le test de l' α -glucosidase et α -amylase. Tandis que, les tests de l'activité de la cyclooxygénase (Cox 1 et Cox 2), et le test de l'activité de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase ont été utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et anti-Alzheimer, respectivement.

1ère partie : Etude phytochimique

1. Matériel végétal

Les graines *Peganum harmala* ont été récoltées dans la région de Ouargla centre, au Nord-est de l'Algérie, au mois de septembre. Elles ont été identifiées au Laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels de l'Université de Tlemcen. Un spécimen a été déposé à l'herbier du Laboratoire LAPSAB sous le numéro de référence LAPSAB68 élaboré par Pr. Azzi R. Au laboratoire, les graines sont nettoyées et conservées à une température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'au jour de l'utilisation (**Figure n°8**).



Figure n°8 : Les graines de *Peganum harmala* utilisés dans notre travail.

2. Préparation des extraits

A partir des graines broyées de *P. harmala* nous avons procédé à la préparation des extraits bruts aqueux ou mélange de solvants hydrométhanol ou eau-acétone, et au fractionnement des extraits bruts en utilisant l'acétate d'éthyle et le 1-butanol. Pour cette étude, neuf extraits différents ont été récupéré à la fin.

2.1. Préparation de l'extrait aqueux

50 g des graines broyées a été porté à une extraction à chaud sous reflux dans 400 mL de l'eau distillée pendant 30 minutes. Après refroidissement, le mélange a été filtré sous vide sur papier filtre wattman n°3. Le filtrat récupéré a été évaporé à sec dans l'étuve pour obtenir l'extrait brut aqueux sous forme solide (séché).

2.2. Préparation des extraits de mélange de solvants eau-acétone et hydrométhanol, et leurs fractions acétate d'éthyle et 1-butanol

Ces deux extraits de mélange de solvants ont été préparé par mélange de 50 g de graines broyées avec ; le mélange de solvants eau/acétone (V/V ; 20/80) ou hydrométhanol (V/V ; 30/70). Les deux extractions ont été portées à ébullition sous reflux pendant 2 heures, puis filtrées, les filtrats ont été évaporés à sec dans l'étuve afin de récupérer l'extrait brut eau-acétone et l'extrait brut hydrométhanol à l'état solide.

Le fractionnement des extraits eau-acétone et hydrométhanol nécessite une autre préparation de ces extraits comme décrit dans le paragraphe précédent. Au moment de la filtration les extraits bruts eau-acétone et hydrométhanol subissent une concentration au rotavapeur pour éliminer les solvants organiques et récupérer la phase aqueuse de chaque extrait. Ensuite chaque phase aqueuse est transférée dans une ampoule à décanter pour subir un fractionnement en utilisant l'acétate d'éthyle (1V/2V) et le 1-butanol (1V/2V) successivement. Les phases organiques ont été évaporées à sec pour obtenir à l'état solide les fractions acétate d'éthyle et 1-butanol des extraits eau-acétone et hydrométhanol, respectivement.

3. Calcul de rendement des extraits

Le rendement de chaque extrait exprimé en pourcentage a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{m1}{m0} * 100$$

m0 : La masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

m1 : La masse en gramme de poudre récupérée.

4. Dosage des composés polyphénoliques

Les extraits récupérés ont été préparés à la concentration 5mg/mL pour effectuer le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols dans chaque extrait.

4.1. Dosage de polyphénols totaux

- **Principe**

Ce dosage est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en utilisant le Folin- Ciocalteu ; un mélange d'acide phosphotungastique ($H_3PW_{12}O_4$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui sera réduit en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène de couleur bleue qui absorbe à 700 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle aux polyphénols totaux de l'échantillon (**Boizot et al., 2006**).

- **Mode opératoire (Vermerieus et Nicholson, 2006)**

0,1 mL de chaque extrait ont été ajoutés à 2 mL de solution de carbonate de sodium fraîchement préparée à 2%, puis incubé pendant 5 minutes, ensuite 0,1 mL de Folin-Ciocalteu ont été ajoutés au mélange, et l'ensemble des tubes est incubé pour une 2^{ème} fois pendant 30 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Après incubation l'absorbance est mesurée à 700 nm contre un tube blanc.

Une gamme étalon de l'acide gallique a été réalisée dans les mêmes conditions, à différentes concentrations croissantes (50, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 et 500 µg/mL).

Le taux de polyphénols totaux est exprimé en µg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait (µg EQ AG/mg d'extrait) selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a \cdot f / C$$

a : concentration des polyphénols (µg/mL) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : concentration initiale de l'extrait (5mg/mL).

4.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

La méthode de ce dosage est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par des solutions incolores de nitrite de sodium (NaNO₂) et de chlorure d'aluminium (AlCl₃), ce qui induit la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm (Martono et al., 2019).

- **Mode opératoire (Zhishen et al., 1999)**

500 µL de chaque extrait ont été mélangé avec 2 mL d'eau distillée et 150 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂, 15%), puis incubés pendant 6 minutes. 150 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 10%) ont été ajouté pour passer à une 2^{ème} incubation pendant 6 minutes à une température ambiante. En suite, 2 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH, 4%) ont été ajoutés au mélange, et le volume total a été ajusté à 5 mL avec l'eau distillée. Les tubes ont été incubés pour la 3^{ème} fois pendant 15 minutes à température ambiante, et l'absorbance a été mesurée contre un tube blanc à 510 nm.

Une gamme étalon de la catéchine a été réalisée dans les mêmes conditions, à différentes concentrations croissantes (50, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 et 500 µg/mL). La teneur des extraits en flavonoïdes est exprimée en µg équivalent de catéchine/ mg d'extrait (µg EQ cat/mg d'extrait) selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = \text{a. f} / \text{C}$$

a : concentration des flavonoïdes (µg/mL) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : concentration initiale de l'extrait (mg/mL).

4.3. Dosage des flavonols

- **Principe**

Les flavonols possèdent un groupement hydroxyle (-OH) libre, en position 5 qui est susceptible de former avec son groupement -CO et le chlorure d'aluminium un complexe de couleur jaune mesurable à 440 nm. L'apparition de la couleur jaune indique la formation de ce complexe (**Chang et al., 2002**).

- **Mode opératoire (Wintola et Afolayan, 2011)**

2 mL d'extrait ont été ajoutés à 2 mL d'une solution AlCl₃ (10%) et 3 mL d'acétate de sodium (5%) puis incubés à 20°C pendant 2h 30 minutes. L'absorbance de solution a été mesurée à 440nm.

Une gamme étalon de la quercétine a été réalisée dans les mêmes conditions, à différentes concentrations croissantes (10, 30, 50, 90, 140, 200, 300,450 µg/mL). La teneur des extraits en flavonols est exprimée en µg équivalent de quercétine/mg d'extrait (µg EQ cat/mg d'extrait) selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonols}] = \text{a.f} / \text{C}$$

a : concentration des flavonoïdes (µg/mL) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : concentration initiale de l'extrait (mg/mL).

5. Caractérisation phytochimique des extraits de *P. harmala* par UHPLC-DAD-ESI-MS

Les extraits de graines de *P. harmala* ont fait l'objet d'une analyse chimique afin de caractériser leur compositions phytochimiques en utilisant une analyse UHPLC-DAD-ESI-MS, au sein du laboratoire LAQAV-REQUIMTE au Portugal, c'est un appareil équipé Ultimate 3000 ; C18 (inversé), d'une pompe binaire, et d'un échantillonneur automatique, et un détecteur à réseau de diodes (Dionex Co., San Jose, Californie, Etats-Unis). L'analyse MS a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse Thermo LTQ XL (Thermo Scientific, San Jose, Ca, Etats-Unis), équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI). La séparation a été réalisée avec une colonne Hypersil Gold (Thermo Scientifique, Etats-Unis) C₁₈ (longueur 100 mm; diamètre intérieur 2,1 mm; diamètre de particule 1,9 µm, avec extrémité coiffée) à température ambiante 25°C. L'extrait a été préparé à une concentration de 10 mg/mL et le volume d'injection était de 5 µL. Les solvants utilisés étaient l'acide formique à 0,1% dans l'eau (A) et de l'acétonitrile (B). Le débit a été fixé à 2 mL/min. Les spectres ont été enregistrés en mode négatif. Les données MS et MS/MS ont été traitées à l'aide du système de données Thermo Xcalibur Qual Browser (Thermo Scientific, Etats- Unis).

2^{ème} partie : Evaluation des activités biologiques des extraits

Dans cette étude nous nous sommes intéressées à la valorisation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique, antiinflammatoire, et anti-Alzheimer des extraits préparés en utilisant différents tests.

1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment du β- carotène, le pouvoir réducteur du fer (FRAP), piégeage du radical oxyde nitrique et superoxyde.

1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

• Principe

Ce test est basé sur l'utilisation du DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle) comme un radical libre relativement stable. Il consiste la réduction, par les antioxydants (A-OH) donneurs d'hydrogène présents dans les extraits, du diphényl picrylhydrazyle (DPPH•) sous sa forme

radicalaire ayant une couleur violette en un composé non radicalaire le diphényl picryl-hydrazine (DPPH-H) de couleur jaune mesurable à 517 nm (**Mansouri et al., 2005**).

- **Mode opératoire (Sanchez-Moreno et al., 1998)**

50 µL de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 1950 µL de la solution du DPPH (0,025 mg/mL). Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 µL du méthanol avec 1950 µL de DPPH. Les tubes ont été incubés pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite, l'absorbance a été mesurée contre un tube blanc à 517 nm. L'acide ascorbique et la catéchine ont été testés dans les mêmes conditions comme un contrôle positif à différentes concentrations croissantes.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du DPPH à l'égard de la moyenne des trois essais pour chaque extrait, selon la formule ci-dessous. La concentration nécessaire à la réduction de 50% du DPPH libre, CI_{50} est déterminée à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de réduction du DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$DPPH (\%) = \frac{(DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon})}{DO \text{ contrôle}} * 100$$

DPPH (%) : pourcentage de réduction du DPPH

DO contrôle : Densité du tube contrôle négatif.

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

1.2. Test du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Power, FRAP)

- **Principe**

Ce test est basé sur la réaction d'oxydo-réduction entre les antioxydants présents dans l'extrait et les ions ferriques (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$), qui seront réduits en ions ferreux (Fe^{2+}). L'addition de chlorure de fer ($FeCl_3$) développe une couleur bleu-vert qui absorbe à 700 nm. L'absorbance est proportionnelle à l'augmentation du pouvoir réducteur du fer (**Li et al. 2008**).

- **Mode opératoire (Karagözler et al., 2008)**

0,1 mL de l'échantillon à différentes concentrations ont été mélangé avec 0,25 mL d'une solution tampon phosphate (pH=6,6 ; 0,2 M) et 0,25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$, 1%). Le mélange a été incubé pendant 20 minutes à 50°C, et après refroidissement 0,25 mL d'acide trichloracétique (TCA, 10%) a été ajouté dans chaque tube. Ensuite, une prise de 0,5 mL de chaque tube a été mélangée avec 0,5 mL d'eau distillée et 0,1 mL de la solution $FeCl_3$ (0,01%). La lecture de l'absorbance de ce mélange a été effectuée contre un tube blanc à 700 nm. La catéchine et le BHA ont été testés à différentes concentrations croissantes dans les mêmes conditions.

Les résultats sont exprimés en concentration efficace CE_{50} , correspondent à une absorbance égale à 0,5 de l'extrait déterminée de l'équation de la courbe de régression linéaire des graphes de l'absorbance en fonction de différentes concentrations des extraits.

1.3. Test de blanchiment de β -carotène

- **Principe**

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique favorise le transfert d'atome d'hydrogène et la formation des radicaux libres dérivés de l'oxydation comme le radical peroxy ($LOO\cdot$). Ce dernier, attaque les molécules de β -carotène hautement insaturées, et par conséquent le β -carotène est oxydé, il se décolore de sa couleur orange caractéristique (blanchiment) mesurable à 470 nm. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique ce qui empêche le blanchiment du β -carotène (Marco G., 1968 ; A. Baghiani et al., 2012).

- **Mode opératoire (Koleva et al., 2002)**

2 mg de β -carotène a été dissous dans 20 mL de chloroforme ; 4 mL de cette solution ont été mélangés avec 400 mg du Tween-40 et avec 40 mg de l'acide linoléique. Une évaporation sous vide à 40°C du chloroforme a été réalisée, ensuite 100 mL d'eau ultrapure oxygénée ont été ajoutés, et l'émulsion ainsi formée a été vigoureusement agitée. 3 mL de l'émulsion ont été soigneusement mélangés avec 0,2 mL de différentes concentrations de l'échantillon puis incubée à 50°C pendant 120 minutes. L'absorbance a été immédiatement mesurée à 470 nm. Le BHA, l'acide ascorbique et la catéchine ont été utilisés comme témoins positifs.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de blanchiment de β -carotène selon

la formule citée ci-dessous, et en valeurs de CI_{50} déterminées à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de blanchiment de β -carotène en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Blanchiment } \beta\text{-carotène (\%)} = [(At - Ct) / (C0 - Ct)] \times 100$$

At et Ct représentent les valeurs d'absorbance après incubation pendant 120 minutes mesurées pour les échantillons et le contrôle, respectivement. C0 est la valeur d'absorbance pour le contrôle mesurée au temps 0 minutes.

1.4. Test de piégeage du radical oxyde nitrique (NO)

- **Principe**

Dans ce test le nitroprusside de sodium sert comme générateur d'oxyde nitrique ($NO\cdot$), ce dernier par les réactifs de Griess subit une réaction de diazotisation et forme le nitrite, qui réagit avec l'acide sulfanilique pour produire l'ion diazonium. Ce dernier est couplé au naphtyléthylènediamine dihydrochloride et forme un dérivé azoté chromophore qui absorbe à 562 nm. Cependant, la présence des antioxydants réduit la quantité de nitrite dans le milieu (Sreejayaan et Rao, 1996 ; Fermor et al., 2001).

- **Mode opératoire (Afonso et al., 2018)**

100 μ L de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 100 μ L de la solution de nitroprusside de sodium (1,66 mM) préparée dans du PBS (pH= 7,4 ; 100 mM). Après incubation pendant 15 min à température ambiante sous une lampe fluorescente, 100 μ L de réactif Griess (sulfanilamide (1%) et dichlorhydrate de naphtyle éthylènediamine (0,1%) solubilisés dans l'acide phosphorique 5%) ont été ajouté au mélange, puis les milieux ont été incubés pour une deuxième fois à température ambiante pendant 10 minutes, et l'absorbance a été mesurée à 562 nm au spectrophotomètre lecteur de microplaques. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard.

Les résultats de la capacité de piégeage du $NO\cdot$ sont exprimé en pourcentage selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI_{50} déterminées à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de piégeage du $NO\cdot$ en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$NO\cdot (\%) = (Abs C - Abs \acute{e}ch)/Abs C \times 100$$

(AbsC) signifie l'absorbance du contrôle, comme (Abs éch) s'agit de l'absorbance de l'échantillon.

1.5. Test de piégeage du radical libre anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

• Principe

La production non enzymatique du radical anion superoxyde à partir de phénazine méthosulfate-nicotinamide adénine dinucléotide (PMS/NADH) est responsable de la réduction du bleu nitrotétrazolium (NBT) en formazène de couleur violet mesurable à 560 nm. La présence d'antioxydant dans le milieu assure le piégeage des radicaux anions superoxydes ce qui empêche la formation du formazène violet (**Robak et Gryglewski., 1988**).

• Mode opératoire (Pareira et al., 2018)

Dans une microplaque à 96 puits, 75 μ L de NBT (Nitrobleu tétrazolium 0,2 mM préparé dans le tampon phosphate 20 mM ; pH= 7,4) ont été mélangés avec 100 μ L de β -NADH (β -NADH 0,3 mM), 75 μ L de chaque extrait à différentes concentrations, et 50 μ L de PMS (phenazine methosulfate 0,01M). Après incubation pendant 5 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 560 nm au spectrophotomètre lecteur de microplaque.

Les résultats de la capacité de piégeage du radical SO sont exprimés en pourcentage selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI_{50} déterminés à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de piégeage du radical SO en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Piégeage } SO^{\bullet} (\%) = (\text{Abs C} - \text{Abs éch}) / \text{Abs C} \times 100$$

(Abs C) signifie l'absorbance du contrôle, comme (Abs éch) s'agit de l'absorbance de l'échantillon.

1.6. Test de piégeage du radical acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ($ABTS^{\bullet+}$)

• Principe

Ce test est basé sur la génération du radical cation $ABTS^{\bullet+}$ qui résulte de l'oxydation de la molécule stable ABTS avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). Cette réaction se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense mesurable à 734 nm, et qui se décolore en

présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène, ces derniers provoquent la réduction de l'ABTS^{•+} (Re et al., 1999).

- **Mode opératoire (M. Catarino et al., 2017)**

La solution du radical ABTS^{•+} a été produite par mélange de ABTS (7 mM) et du persulfate de potassium (2,45mM), cette solution est stockée à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 heures. Avant la réaction, l'absorbance de la solution de l'ABTS^{•+} est ajustée entre 0,755 et 0,800 à 734 nm. Ensuite, 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 250 µL de la solution ABTS^{•+} (7mM) et incubés à l'obscurité pendant 20 minutes. L'absorbance a été mesuré à 734 nm au spectrophotomètre lecteur de microplaques.

Les résultats de la capacité de piégeage du radical ABTS^{•+} sont exprimés en pourcentage selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI₅₀ déterminés à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de piégeage du radical ABTS^{•+} en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Piégeage ABTS}^{\bullet+} (\%) = (\text{Abs C} - \text{Abs éch}) / \text{Abs C} \times 100$$

(Abs C) signifie l'absorbance du contrôle, comme (Abs éch) s'agit de l'absorbance de l'échantillon.

1.7. Test de l'hémolyse induite par l'AAPH

- **Principe**

Dans ce test les radicaux peroxyyles provenant de la décomposition du 2,2' –azobis chlorhydrate de 2-amidinopropane (AAPH) induisent l'hémolyse des érythrocytes par la peroxydation lipidique et la dégradation des protéines membranaire induites par les radicaux peroxyyles. En revanche, les antioxydants des extraits neutralisent les radicaux libres et protègent les érythrocytes de la détérioration membranaire et de l'hémolyse (Zou Cheng G et al., 2001).

- **Mode opératoire (Bureau A et al., 2005)**

4 mL des érythrocytes ont été séparés du sang total par centrifugation à 1500 tr/min pendant 10 minutes à 4° C. Le culot a été délicatement lavé trois fois par la solution NaCl (0,9%), dont chaque lavage est suivi par une centrifugation à 60rpm pendant 5 minutes à 4°C. Ensuite 4 mL

du culot a été diluée dans 16 mL du tampon phosphate (pH 7,4 ; 115 mM) pour avoir une suspension érythrocytaire à 20%.

200 µL de la suspension érythrocytaire ont été mélangés avec 200 µL de l'extrait ou de l'acide ascorbique (standard), le mélange a été incubé à 37°C à l'étuve pendant 10 minutes. Ensuite, 400 µL d'AAPH (100 mM) ont été ajoutés et le mélange réactionnel a été incubé à 37°C pendant 2 h. 1 mL de PBS a été ajouté dans tous les tubes, qui ont ensuite été centrifugés à 1500 tr/min pendant 5 minutes à 4°C, puis l'absorbance du surnageant a été mesurée à 540 nm. Les tubes contenant la suspension érythrocytaire et la solution d'AAPH ont été utilisés comme tubes contrôle.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hémolyse selon la formule ; et en valeurs de CI_{50} déterminées à partir des équations de régression linéaire des graphes du pourcentage de piégeage du radical issu de l'AAPH en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Hémolyse (\%)} = ((AC - AE) / AC) * 100$$

Hémolyse (%) : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse

AE : Absorbance de l'extrait ou la molécule de référence

AC : Absorbance du contrôle

2. Evaluation de l'activité antidiabétique

Cette activité a été évaluée par deux tests, en mesurant l'effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'activité des enzymes digestives α -amylase et α -glucosidase.

2.1. Test de l'effet des extraits des graines de *P. harmala* sur l'activité de l' α -amylase

• Principe

L'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l' α -amylase a été déterminé par la méthode de **Bernfeld P., (1955)** basée sur l'oxydation des fonctions aldéhydes et cétones libres des sucres réducteurs issuent de l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase, en milieu alcalin et à chaud, ce qui provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune-orange en acide 3-amino-5 nitrosalicylique de couleur rouge-orange, qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Miller, 1959**).

❖ *Préparation de la solution enzymatique*

150 mg de l' α -amylase (209,5U/mg) d'origine porcine ont été solubilisé dans 20 mL de la solution tampon phosphate (20mM, 6mM de NaCl, pH=6,9) pendant 2 heures à 4°C sous agitation. La solution a été filtrée et répartie dans des aliquotes de 100 μ L puis conservée à -20°C jusqu'au jour d'utilisation. Chaque aliquote a été dilué dans le PBS à la concentration 4 μ g/mL. La détermination du taux de protéines dans cette solution a été effectuée selon la méthode d'acide bicinchoninique (BCA). Ce dosage est basé sur la réduction de l'ion cuivrique Cu^{2+} en Cu^{1+} par les protéines en milieu alcalin. L'acide bicinchoninique (BCA) sert à un réactif chromogène qui forme avec Cu^{1+} un complexe pourpre dont l'absorbance est mesurée à 562 nm (Smith et al., 1985 ; Brown et al., 1989).

Le dosage des protéines dans la solution enzymatique a été effectué comme suit ; 2 mL de BCA (200 à 800 μ g/mL) ont été ajouté à 0,1 mL et de la solution enzymatique (209.5U/mg). Le mélange a été agité au vortex et incubé à 60°C pendant 15 minutes. Après refroidissement, l'absorbance à été mesurée à 562 nm. La concentration de la protéine enzymatique a été déterminée à partir de courbe étalon du BCA.

❖ *Préparation de la solution de l'acarbose*

5 mL de l'eau distillée ont été ajoutés à 32,3 mg de l'acarbose et agité jusqu'à sa dissolution totale. La solution a été répartie dans des aliquotes de 1 mL et conservées à (-20°C) jusqu'au jour d'utilisation.

❖ *Préparation de la solution du DNSA*

5g de DNSA ont été solubilisés dans 250 mL de l'eau distillée porté à l'ébullition (100°C). Après refroidissement, 100 mL de NaOH (2M) et 150 g de tartrate de potassium et de sodium tétrahydraté ont été ajoutés. Le volume a été ajusté à 500 mL d'eau distillée.

❖ *Préparation de la solution d'amidon*

80 mg de l'amidon ont été solubilisé dans 5 mL de PBS. La solution a été chauffée à 100°C jusqu'à la dissolution totale. Après refroidissement, le volume a été ajusté à 10 mL avec du PBS.

- **Mode opératoire (Wickramaratne et al., 2016)**

Dans un premier temps, une prise de 200 µL de chaque extrait (4, 2, 1 et 0,5 mg/mL) ont été ajoutée à 400 µL de la solution d'amidon (0,8% ; P/V) dissoute dans du tampon phosphate, le mélange a été incubé pendant 5 minutes à 37°C. La réaction enzymatique a été déclenchée par l'addition de 200 µL de la solution de l'α-amylase à chaque échantillon. Après 5 minutes d'incubation à 37 °C, 200 µL de chaque milieu réactionnel ont été mélangés avec 600 µL du réactif DNSA, puis incubés pendant 15 minutes, au bain marie bouillant, ensuite transférés dans un bain de glace pendant 5 minutes pour arrêter la réaction. Après refroidissement, 250 µL de chaque tube ont été transférés dans une microplaque à 96 puits, l'absorbance a été mesurée à 540 nm.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de l'α-amylase selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI₅₀ déterminées à partir des équations de régression logarithmique des graphes du pourcentage d'inhibition de α-amylase en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-amylase (\%)} = \frac{\text{Act}_{\text{contrôle}} - \text{Act}_{\text{échantillon}}}{\text{Act}_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Act (c) représente l'absorbance du contrôle du témoin négatif

Act (ech) : l'absorbance de l'extrait.

L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif de l'inhibition.

2.2. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité enzymatique de l'α-glucosidase

- **Principe**

L'enzyme digestive α-glucosidase décompose l'amidon et les disaccharides en glucose, qui se trouve dans la bordure en brosse de l'intestin grêle. Le substrat utilisé dans cette expérience est le 4-nitrophényl α-D-glucopyranoside (p-NPG), qui devient après l'hydrolyse le p-nitrophénol (p-NP) de couleur jaune mesurable à 405nm (Mosihuzzman et al., 2013).

❖ **Préparation de la solution enzymatique**

2 mg de l' α -glucosidase d'origine *Saccharomyces cerevisiae* (50% protéine (m/m) et 10U/mg_{protéine}) ont été solubilisés dans 5 mL de la solution tampon phosphate PBS (50mM, pH=6,8). Puis, la solution a été diluée avec du PBS pour atteindre une concentration de 1U/mL. La solution enzymatique a été partagée dans des aliquotes de 100 μ L et conservé à -20°C jusqu'au jour d'utilisation.

❖ **Préparation de la solution du substrat 4-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG)**

50 mg de pNPG ont été solubilisés dans 25 mL d'eau distillée de 17mM. 8,82 mL de cette solution a été diluée avec de l'eau distillée pour atteindre une concentration de 6mM. La solution a été répartie dans des aliquotes de 1 mL et conservée à -20°C jusqu'au jour d'utilisation.

❖ **Préparation de la solution de l'acarbose**

33 mg de l'acarbose ont été solubilisés dans 6 mL de la solution PBS, le volume a été ajusté avec du PBS pour avoir une concentration de 10 mM. Ensuite, la solution a été aliquotée pour des volumes de 1 mL et conservée à -20°C jusqu'au jour d'utilisation.

• **Mode opératoire (Neto et al., 2018)**

50 μ L de chaque extrait ou de l'acarbose à différentes concentrations ont été déposés dans les microplaques à 96 puits, ensuite 50 μ L de pNPG ont été ajoutés aux mélanges. La réaction enzymatique a été initiée par l'addition de 100 μ L de la solution enzymatique, et l'absorbance a été mesurée à 405nm chaque minute pendant 20 min.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l' α -amylase selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI_{50} déterminées à partir des équations de régression logarithmique des graphes du pourcentage d'inhibition de α -glucosidase en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-glucosidase (\%)} = ((Act_{\text{contrôle}} - Act_{\text{extrait}}) / Act_{\text{contrôle}}) * 100$$

3. Evaluation de l'activité anti-alzheimer

Cette activité a été évaluée par mesure de l'effet des extraits de graines de *P.harmala* sur l'activité enzymatique de cholinestérase: acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE), qui hydrolyse un ester de la choline (acétylcholine, butyrylcholine) en choline et en acide acétique.

3.1. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE)

- **Principe**

Ce test est basé sur la production de thiocholine suite à l'hydrolyse de l'acétylthiocholine par AChE ou BChE, et qui réagit avec le 5,5'-dithiobis (acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB) pour produire l'acide 5-thio-2-nitro-benzoïque de couleur jaune mesurable à 415 nm (Ellman et al., 1961).

- ❖ **Préparation des solutions**

Les solutions enzymatiques acétylcholinestérase *d'Electrophorus electricus* **eeAChE** et butylcholinestérase de sérum équin **Eq BChE** ont été préparées à la concentration 0,025 U/mL dans du tampon phosphate à pH=8 à partir des solutions mères de 5,05 U/mL et 7,50 U/mL, respectivement.

Les solutions des extraits à différentes concentrations ont été préparées dans du DMSO, le pourcentage ce dernier dans le milieu réactionnel ne dépasse pas 1%.

Le DTNB 0,5 M (5.5'-dithiobis (acide 2- nitrobenzoïque), le substrat de l'AChE iodure d'acétylthiocholine (ATChI, 2,5 mM), et le substrat de BChE iodure de butyrylthiocholine (BTChI, 2.5 mM) ont été préparées dans un tampon phosphate 0,1M à pH=8.

- **Mode opératoire (Ellman et al., 1961)**

50 µL de chaque extrait (1,25 µg/mL à 80 µg/mL) ou du standard (Donépézil) ont été ajoutés à 100 µL de l'enzyme eeAChE ou BChE, ensuite, les mélanges ont été incubés pendant 5 minutes à 37°C.

50 µL d'ATChI/ BTChI et 50 µL de DTNB ont été ajoutés dans chaque puits pour déclencher la réaction enzymatique. Les absorbances ont été mesurées à 415 nm toutes les 2 minutes, pendant 15 minutes au spectrophotomètre lecteur de microplaques (multimode Synergy ; BioTek).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de ces enzymes selon la formule ci-dessous, et en valeurs de CI_{50} déterminées à partir des équations de régression logarithmique des graphes du pourcentage d'inhibition des enzymes AChE/BChE en fonction de différentes concentrations des extraits.

$$\text{Inhibition eeAChE/ BChE (\%)} = \frac{Act_{\text{contrôle}} - Act_{\text{extrait}}}{Act_{\text{contrôle}}} \times 100$$

4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Cette activité a été évaluée par mesure de l'effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'activité enzymatique de la cyclooxygénase COX 1 et COX 2, qui convertit l'acide arachidonique en prostaglandine.

4.1. Test de l'effet des extraits des graines sur l'activité de la cyclooxygénase (COX 1 et COX 2)

• Principe

Ce protocole permet de mesurer l'activité de la cyclooxygénase en quantifiant les prostaglandines ($PGE_{2\alpha}$) produite par conversion enzymatique de l'acide arachidonique, en présence ou en l'absence d'inhibiteurs potentiels (suivant le kit du dosage Cayman CHEMICAL N°701230). La première partie du test consiste à incuber l'acide arachidonique, la cyclooxygénase et les échantillons à tester afin de générer des prostaglandines. La deuxième partie utilise une méthode ELISA pour quantifier le $PGE_{2\alpha}$ produite dans le milieu. Elle repose sur la compétition entre la $PGF_{2\alpha}$ et un conjugué $PGF_{2\alpha}$ -acétylcholinestérase (AChE) (traceur $PGF_{2\alpha}$) pour une quantité limitée d'anticorps polyclonal $PGF_{2\alpha}$ dans l'antisérum. Comme la concentration du traceur $PGF_{2\alpha}$ est maintenue constante tandis que la concentration de $PGF_{2\alpha}$ varie, la quantité de traceur $PGF_{2\alpha}$ capable de se lier à l'anticorps $PGF_{2\alpha}$ sera inversement proportionnelle à la concentration de $PGF_{2\alpha}$ dans les puits.

Ce complexe anticorps de lapin-PGF2 α (libre ou traceur) se lie à un anticorps monoclonal de souris anti-lapin qui a été préalablement fixé au puits. La plaque est lavée pour éliminer tout réactif non lié, puis le réactif d'Ellman (qui contient le substrat de l'AChE) est ajouté au puits. Le produit de cette réaction enzymatique a une couleur jaune distincte et absorbe fortement à 412 nm. L'intensité de cette couleur, déterminée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la quantité de traceur PGF2 α lié au puits, qui est inversement proportionnelle à la quantité de PGF2 α libre présente dans le puits pendant l'incubation.

- **Mode opératoire (kit Cayman CHEMICAL N°701230)**

- ❖ ***Préparation du Réaction tampon phosphate (10X)***

Ce tampon phosphate final (1X) est composé du Tris HCl (0,1M ; pH=8), EDTA (0.5mM) et du phénol (2mM). 5mL de la réaction du flacon du tampon phosphate concentrée (10X) ont été diluée dans 45 mL d'eau ultrapure, puis conservé à 4°C pendant 1 mois.

- ❖ ***Préparation de solutions enzymatique Cox 1/Cox 2***

80 μ L de la solution enzymatique Cox1 et Cox2 (n°460108 et n°460121) ont été diluée avec 320 μ L de la réaction du tampon phosphate diluée (1X). La solution enzymatique a été conservée dans du bain de glace pour une durée maximum de 1h pour le maintien de la stabilité.

- ❖ ***Préparation de la solution d'acide arachidonique (le substrat)***

50 μ L d'acide arachidonique (20 Mm), ont été ajouté à 50 μ L d'hydroxyde de potassium (0,1M). Le mélange a été agité à l'aide d'un vortex puis dilué avec 400 μ L d'eau ultrapure pour avoir une concentration finale de 2mM pour le stockage. La solution de travail a été réparties en 10 μ L dans des aliquotes avec une concentration de 100 μ M.

- ❖ ***Préparation de la solution de chlorure stanneux***

5 mL de l'acide hydrochlorique (1M) ont été ajouté au contenu de flacon de la cristalline de chlorure stanneux du kit du dosage. Le mélange a été bien agité à l'aide d'un vortex. La solution est conservée à une température ambiante pour maximum 8h.

❖ *Préparation de la solution prostaglandine*

10 ng/mL de la prostaglandine lyophilisée a été solubilisé dans 1 mL de la solution PBS Elisa. Le standard a été dilué en huit concentrations dont (2000-1000-500-250-125-62,5-31,3-15,6 pg/mL).

• **Protocole (Pradelles P et al., 1985)**

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un kit commercial (Cayman Chemical, COX (human) Inhibitor Screening Assay Kit). Les réactions initiales ont lieu dans trois séries de tubes à essai chauffés à 37°C. Dans les tubes de témoin négatif, le tampon de réaction et l'hème sont mélangés. Dans les tubes à 100 % d'activité (activité totale), le tampon de réaction, l'hème, la cyclooxygénase et le solvant sont mélangés. Dans les tubes à échantillon (extraits, ou inhibiteur), le tampon de réaction, l'hème, les extraits à différentes concentrations et l'enzyme sont mélangés. Les tubes ont été incubés pendant 15 min à 37°C. Ensuite, l'acide arachidonique (2mM) a été ajouté dans tous les tubes, qui ont été incubés pendant 2 minutes. Du HCl (1M) a été utilisé pour arrêter la réaction et le chlorure stanneux piège le produit de la réaction et le réduit à une forme plus stable. Les tubes ont été incubés pour une deuxième fois pendant 5 minutes à température ambiante. Les tubes ont ensuite été dilués, tandis que les tubes de fonds restent sans dilution. Des microplaques à 96 puits recouverts d'IgG anti-lapin de souris sont utilisées. Dans chaque puits, la liaison non spécifique, la liaison maximale, les étalons et les dilutions d'inhibiteur sont ajoutés avec le traceur et l'antisérum. Les plaques sont incubées à température ambiante pendant 10 heures, ensuite lavées cinq fois avec un tampon de lavage, développées avec le réactif d'Ellman et mesurer l'absorbance des microplaques à 420m.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de COX selon la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition COX (\%)} = 100 - (C \text{ échantillon}/C \text{ standard}) * 100.$$

C : concentration de la Prostaglandine

5. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés par moyenne \pm écart type (SD) en utilisant Excel, et le niveau significatif était $p < 0,05$. L'analyse statistique et les histogrammes, le test *ANOVA-two way*, le test de corrélation, et l'analyse de composé principal (PCA) ont ainsi été réalisés par logiciel GraphPad Prism, la version 10.4.1. Nous avons également utilisé le logiciel R.

Résultats et interprétation

Partie 1 : Analyse phytochimique des extraits de graines de *Peganum harmala*

1. Rendement et caractéristiques des extraits

Des rendements variables et des aspects différents des extraits de graines de *Peganum harmala* ont été obtenus par la décoction sous reflux pendant 2h. Après avoir réalisé des extractions solide-liquide dans l'eau distillée, eau-acétone (80%) et hydrométhanol (70%) les extraits ont présenté un aspect solide sous forme d'une pâte de couleur marron foncé, avec des pourcentages de rendement qui varient entre 6 à 11,4 %. Cependant, les fractions 1-Butanol obtenues sous forme de poudre de couleur rouge, ont montrées des rendements élevés qui varient entre 3,24 à 4,4 %. Tandis que, les fractions Ae récupérées sous forme de poudre présentent de faibles rendements qui varient entre 1,52 à 2,48 % (**Tableau n°5**).

Tableau n°5 : Les rendements et les caractéristiques des extraits de *Peganum harmala*.

	Couleur	Aspect physique	Rendement (%)
Aqueux	Marron foncé	pâte solide	11,4±0,11 ^g
Ae-Aq	Marron Claire	poudre	1,52±0,21 ^a
1B-Aq	Rouge	poudre	3,24 ±0,14 ^{b, c}
Hydrométhanol (70%)	Marron foncé	pâte solide	8,02±0,19 ^f
Ae-Hm	Marron Claire	poudre	1,89 ±0,09 ^a
1B-Hm	Rouge	poudre	4,47±0,26 ^d
Eau-Acétone (80%)	Marron foncé	pâte solide	6±0,37 ^e
Ae-E-Ac	Marron Claire	poudre	2,48±0,23 ^b
1B-E-Ac	Rouge	poudre	4±0,10 ^{c, d}

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B :1-Butanol.
^{a-g} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à p <0,05, comme déterminé par le test à comparaisons multiples de Tukey.

2. Taux des composés phénoliques dans les extraits de graines de *P. harmala*

Les résultats des dosages quantitatifs du taux des composés phénoliques dans les neuf extraits de *Peganum harmala*, sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$) pour les polyphénols totaux, en microgramme équivalent de la catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg E}$) pour les flavonoïdes et les

flavonols totaux. Les valeurs obtenues ont révélé différentes teneurs représentées dans le **Tableau n°6**.

Tableau n°6 : Taux de polyphénols, flavonoïdes, et flavonols totaux dans les extraits de *Peganum harmala*.

	Polyphénols (µg GAE/mg d'extrait)	Flavonoïdes (µg CatE /mg d'extrait)	Flavonols (µg Eq Q /mg d'extrait)
Aqueux	41,74±4,58 ^d	17,07±0,55 ¹	13,75±0,008 ¹
Ae-Aq	16,31 ± 1,19 ^b	5,96 ± 1,00 ^a	16,10 ± 0,018 ⁿ
1B-Aq	51,05 ± 0,77 ^e	0,97 ± 0,27 ^a	13,46 ± 0,018 ^e
Hydrométhanol (70%)	56,943 ± 0,31 ¹	7,884 ± 1,66 ¹	7,63 ± 0,010 ^b
Ae-Hm	13,03 ± 0,23 ^a	11,855 ± 2,510 ^g	10,30 ± 0,011 ^a
1B-Hm	73,08 ± 1,89 ⁿ	4,832 ± 0,781 ^c	9,59 ± 0,017 ^c
Eau-Acétone (80%)	75,35 ± 7,00 ⁿ	8,02 ± 0,89 ^e	15,49 ± 0,007 ^g
Ae-E-Ac	56,88 ± 5,73 ¹	3,33 ± 0,67 ^b	16,72 ± 0,016 ¹
1B-E-Ac	25,02 ± 8,94 ^c	16,63 ± 3,89 ⁿ	7,45 ± 0,006 ^a

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol.
^{a-i} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à p < 0,05, comme déterminé par les tests à comparaisons multiples de Tukey et Sidak.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les teneurs en polyphénols les plus élevées ont été enregistrés dans l'extrait brut Eau-Acétone, suivi par la fraction 1B-Hm qui ont affiché des taux de 75,35±7,00, et 73,08±1,89 µg GA Eq/mg d'extrait, respectivement. Cependant, l'extrait brut Hydrométhanol, et la fraction Ae-E-Ac renferment des taux de polyphénols comparables, 56,943 ± 0,916, et 56,88 ± 5,73) µg GA Eq/mg d'extrait. En outre, les plus faibles teneurs ont été déterminées dans les fractions Ae-Aq et Ae-Hm, 16,31 ± 1,19 et 13,03±0,023 µg GA Eq/mg d'extrait, respectivement.

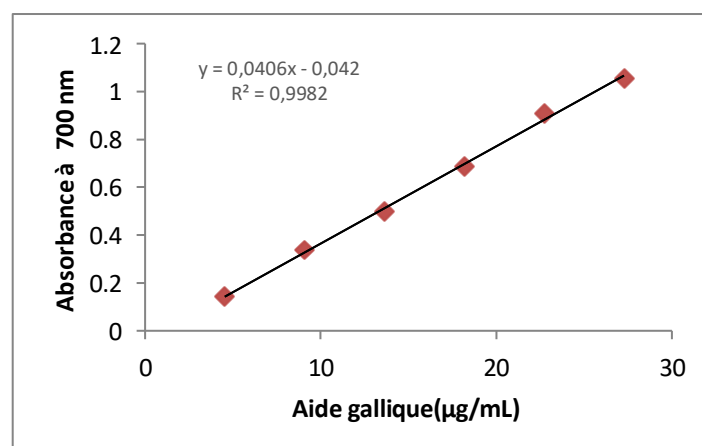


Figure n°9 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

En ce qui concerne le dosage des flavonoïdes, les concentrations les plus élevées ont été observées dans l'extrait brut Aqueux, suivi par la fraction 1B-E-Ac de l'ordre de $17,07 \pm 0,55$, et $16,63 \pm 3,89$ $\mu\text{g CatE/mg}$ d'extrait, suivi par la fraction Ae-Hm et les extraits bruts Eau-Acétone et Hydrométhanol qui ont enregistré les taux suivants $11,85 \pm 2,510$, $8,02 \pm 0,89$ et $7,88 \pm 1,66$ $\mu\text{g CatE/mg}$ d'extrait. Tandis que, les concentrations les plus faibles ont été déterminées dans les fractions 1B-Hm, Ae-E-Ac et 1-B-Aq à des valeurs décroissantes dans l'ordre $(4,83 \pm 0,781) > (3,33 \pm 0,67) > (0,97 \pm 0,27)$ $\mu\text{g CatE /mg}$ d'extrait, respectivement.

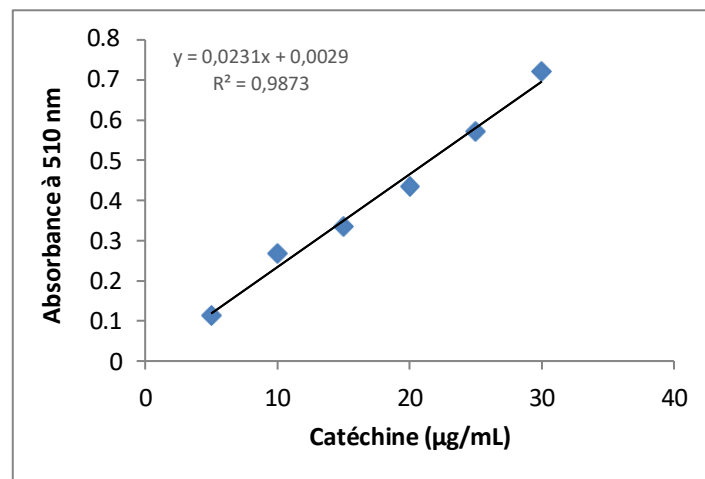


Figure n°10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Concernant le dosage des flavonols, les extraits ont renfermés des taux plus au moins similaires qui varient entre $7,45$ et $16,72$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait. La fraction Ae-E-Ac a enregistré la teneur élevée suivi par la fraction Ae-Aq. Tandis que, la fraction 1B-E-Ac a montré une teneur plus faible suivi par l'extrait Hydrométhanol, dans l'ordre de $7,45 \pm 0,006$ et $7,63 \pm 0,010$ $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement.

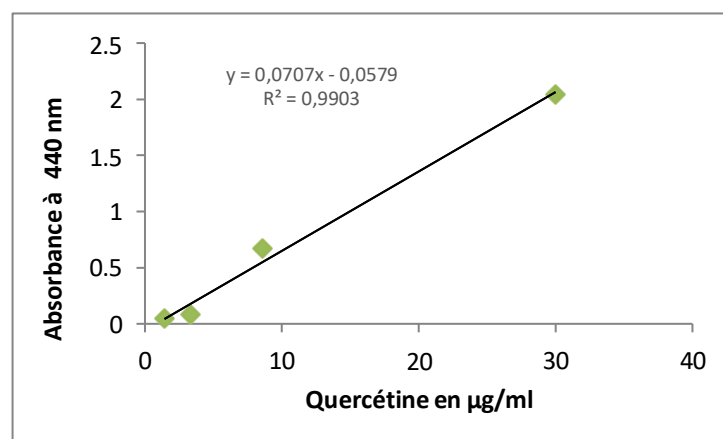


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols totaux.

3. Caractérisation phytochimique des extraits des graines de *P. harmala* par la technique UHPLC-DAD-ESI-MS

Une analyse semi-quantitative en utilisant la technique UHPLC-DAD-ESI-MS a été réalisée pour identifier différents composés dans deux extraits bruts Hydrométhanol et Eau- Acétone et leurs fractions Ae et 1-B (**Figure n°12 et figure n°13**).

L'ensemble des profils chimiques enregistrés ont identifié dans les extraits analysés, à des pourcentages variables, environ 17 composés définis majoritairement comme étant de polyphéno, les flavonoïdes méthylés et les acides phénoliques, et également des alcaloïdes β -Carbolines comme l'harmaline, l'harminine, dipeginol et la tetrahydroharminine (**Tableau n°7 et n°8**).

Concernant les polyphénols, l'extrait brut hydrométhanol a renfermé différents types de flavonoïdes méthylés y compris le dérivé d'hydroxylmethoxyflavone, la quercétine diméthyl ether, tetraméthylether et l'isorhamnetine, quercétine glycosylés dont le tellimoside a été détectée en faible pourcentage. Parallèlement, dans l'extrait brut Eau-Acétone, a révélé les mêmes types de flavonoïdes méthylés cités en différents pourcentages. Cependant, le dérivé de 3,3' méthylène diphenol et le kaempferol méthyl éther ont été déterminés à 1,2 et à 1,54 %, respectivement, et qui ont été absents dans l'extrait brut Hydrométhanol. D'autre part, les taux élevés en narirutine (1,69 et 1,26%) et quercétine diméthyle éther (30,28 et 23,71%) ont été déterminés dans les deux fractions 1-B, suivi par les deux extraits bruts Hydrométhanol et Eau-acétone (18,52 et 20,54%), respectivement.

Pour les acides phénoliques ; l'acide 3-dihydroquinique (1,6 et 1,2 %) a été le plus abondant dans la fraction 1B de l'extrait Hydrométhanolique et l'extrait brut Eau-Acétone, respectivement, l'acide cafféique cinnamyl ester (0,96%) a été identifié uniquement dans la fraction 1-B de l'extrait hydrométhanolique. D'autres pourcentages importants en acide salvianolique B (1,89%) et acide protocatéchuique (1,84%) ont été essentiellement déterminés dans l'extrait brut Eau-Acétone par rapport aux autres extraits. Par ailleurs, l'acide p-coumarique a été uniquement quantifié (1,22%) dans la fraction Ae de l'extrait brut Eau-acétone. Ces résultats ont été significativement intéressants en compositions chimiques des polyphénols au niveau de la fraction la plus riche 1-B suivie par l'extrait Hydrométhanol et la fraction acétate d'éthyle. En ce qui concerne les alcaloïdes β -Carbolines, l'harminine a été plus soluble dans les fractions acétate d'éthyle (63,3% et 58,6%) des deux extraits bruts

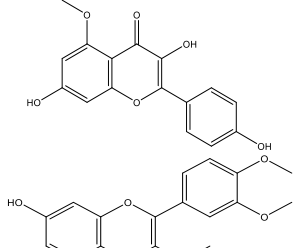
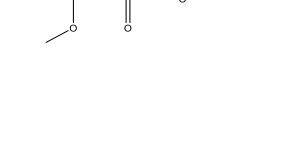
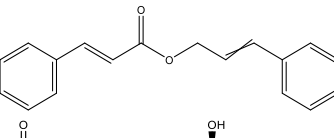
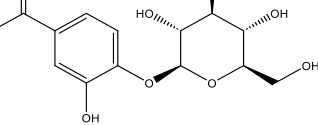
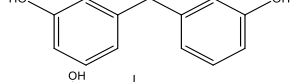
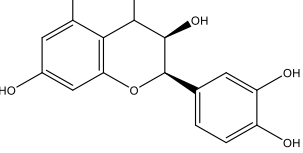
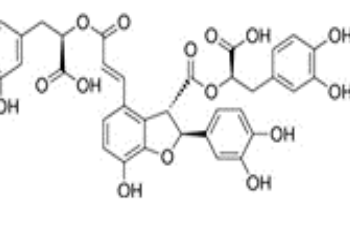
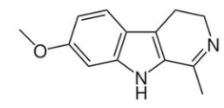
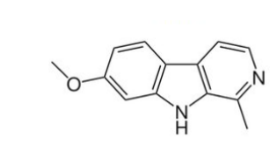
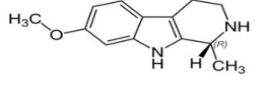
respectivement, suivie par la fraction 1B-E-Ac (33,9%). Ensuite, le taux d'harmaline a été important dans la fraction 1-B de l'extrait Hydrométhanol (29,7%) suivi par l'extrait brut Eau-Acétone qui a renfermé (21,2%). Tandis que, la tetrahydroharmine a été identifié dans la fraction Ae et 1-B de l'extrait brut Hydrométhanol (2,7 et 0,57%), respectivement.

Cette caractérisation chimique nous a indiqué que l'acétate d'éthyle peut être considéré comme un excellent solvant pour l'élimination des alcaloïdes β -carbolines, et le 1-B est le meilleur solvant pour extraire les dérivés flavonoïdes, en particulier les dérivés méthylés de la quercétine par rapport à l'acétate d'éthyle.

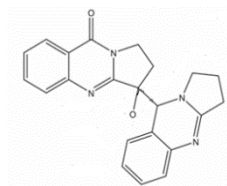
Tableau n°7 : Les composés phytochimiques identifiés par analyse UHPLC-DAD-ESI-MS dans extraits de graines de *P. harmala* de la région de Ouargla.

Pic	Rt (min)	λ (nm)	[M-H] – (m/z)	Identification	E-Ac- (%)	Ae-E-Ac (%)	1B-E-Ac (%)	H-m (%)	Ae-H-m (%)	1B-H-m (%)
1	1,47	204,264	189	Acide 3-Dihydroquinique	1,2	0,79	0,76	1,16	0,73	1,6
2	1,88	204,261	191	Acide quinique	0,44	0,42	0,45	0,82	0,42	0,39
3	3,13	206,273	297	Dérivé d'hydroxy-diméthoxyflavone	Ab	0,47	0,8	0,92	0,59	0,68
4	3,83	200,276	199	3,3'-Dérivé de méthylènediphénol	1,78	-	-	-	-	-
5	3,9	206,275	303	4-Méthyle épicatechine	-	-	1,39	1,52	-	1,48
6	4,55	220,298, 321	295	Acide caféique cinnamyle ester	-	-	-	-	-	0,96
7	5,7	214,285	315	Acide protocatéchique 4-glucoside	1,84	0,27	0,25	0,55	-	-
8	6,13	215,283	329*(375)	Quercétine diméthyléther	20,5	12,1	23,7	18,5	8,38	30,3
9	6,62	220,270,294	299	Kaempferol 5-méthyle éther	1,54	-	2,22	-	-	-
10	7,01	207,288	357	Quercétine 3,5,3',4'-tetraméthyléther	18,5	1,68	7,02	27,9	3,9	11,1
11	8,27	207,279	717	Acide salvianolique B	1,89	-	-	0,71	-	-
12	10,52	228,271, 316	579	Narirutine	1,26	1,05	1,64	1,09	1,3	1,69
13	11,23	207,266	615	Tellimoside	0,65	-	0,5	0,56	-	-
14	11,94	228,271, 302	216	Tetrahydroharmine	-	-	-	-	2,7	-
15	16,95	234,319	163	Acide p-coumarique	-	1,22	-	-	-	-
16	17,18	224,267, 298	371	Dipeginol	3,84	3,45	3,44	-	4,48	5,28
17	18,14	215,259, 375	213*(259)	Harmaline	21,2	14,3	13,1	18,2	13	29,7
18	20,34	204,247, 320	211*(257)	Harmine	24,1	58,6	33,9	22,2	63,3	16

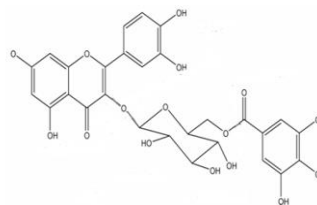
Tableau n°8 : Les structures chimiques des composés phytochimiques identifiés par analyse UHPLC-DAD-ESI-MS dans les graines de *P. harmala* de la région de Ouargla.

Composé bioactif	Structure chimique
Kaempférol 5-méthyle éther	
Quercétine 3,5,3',4'-tétraméthyle éther	
Acide Caffeique cinnamyle ester	
Acide Protocatéchique 4-glucoside	
3,3'-Méthylènediphénol	
Epicatechine 4-Méthyle	
Acide salvianolique B	
Harmaline	
Harmine	
Tetrahydroharmine	

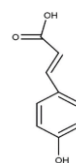
Dipeginol



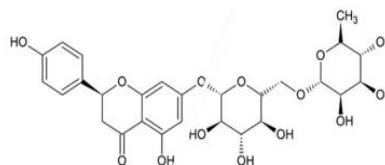
Tellimoside



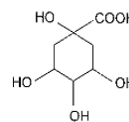
Acide p-coumarique



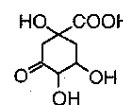
Narirutine



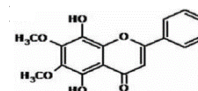
Acide quinique



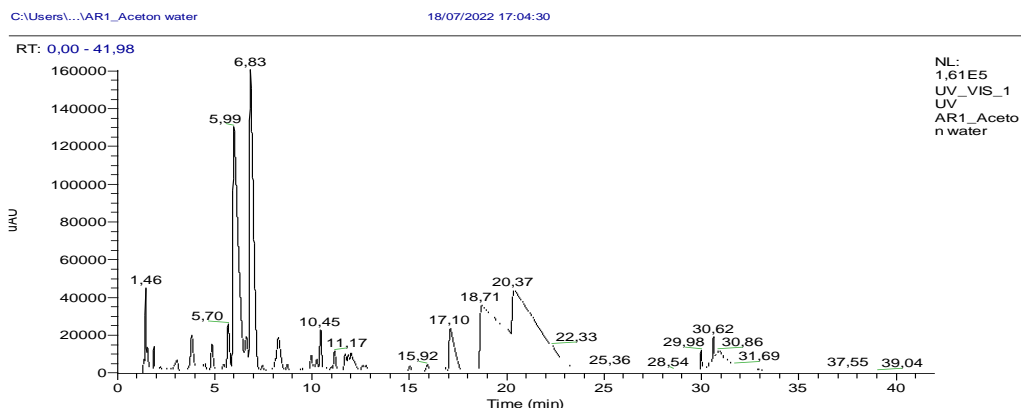
Acide 3-dihydroquinique



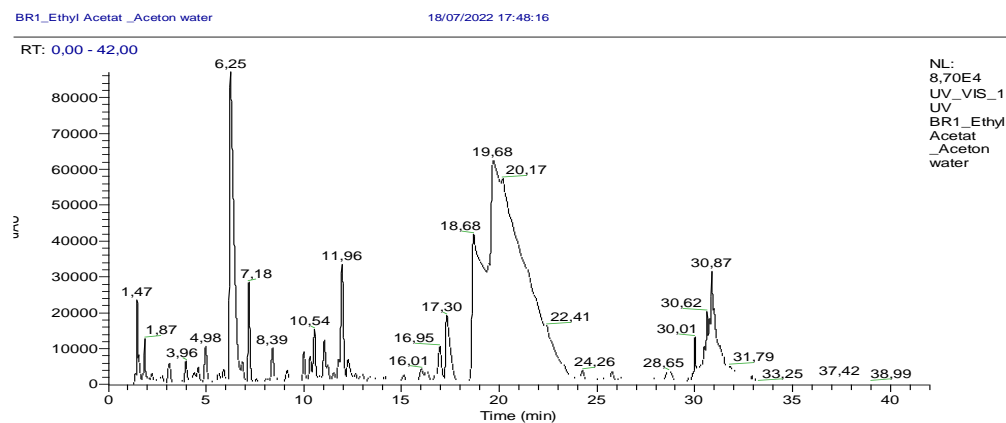
Dérivé de 5, 8-dihydroxy-6, 7-diméthoxyflavone



Extrait Eau-Acétone (E-Ac)



Extrait acétate d'éthyle Eau-Acétone (Ac-E-Ac)



Extrait Acétate d'éthyle Hydrométhanol (Ac-Hm)

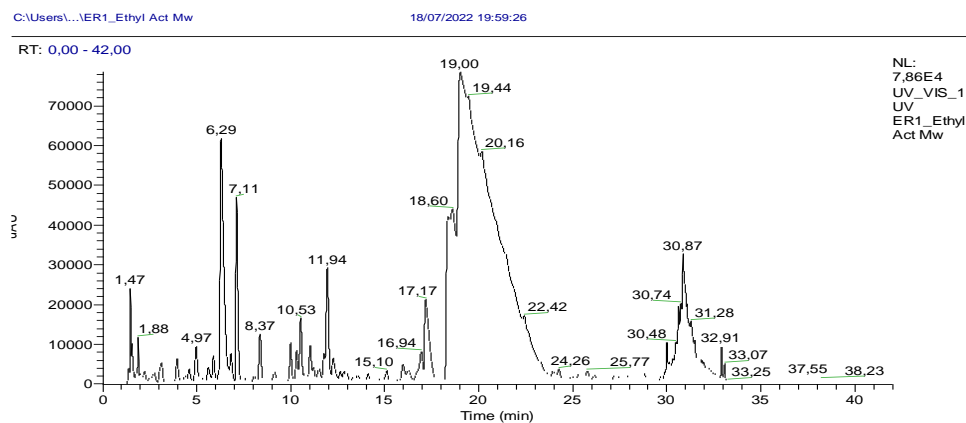
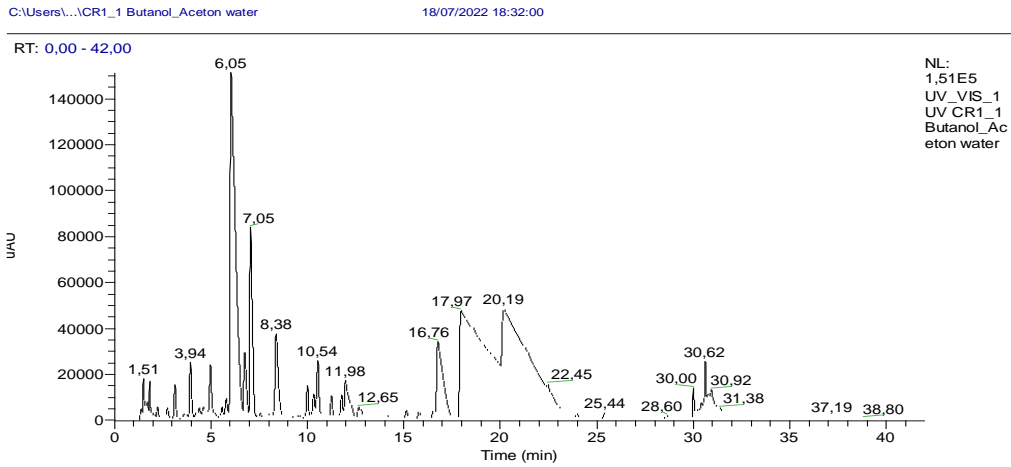
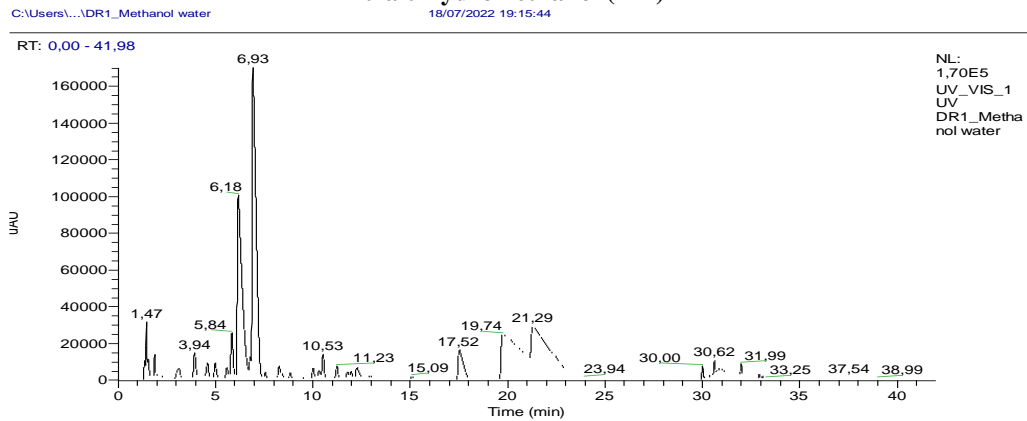


Figure n°12 : Les chromatogrammes UHPLC des extraits des graines de *Peganum harmala* enregistrés à 280 nm.

Extrait 1-butanol Eau-acétone (1B-E-Ac)



Extrait Hydrométhanol (Hm)



Extrait 1-butanol Hydrométhanol (1B-Hm)

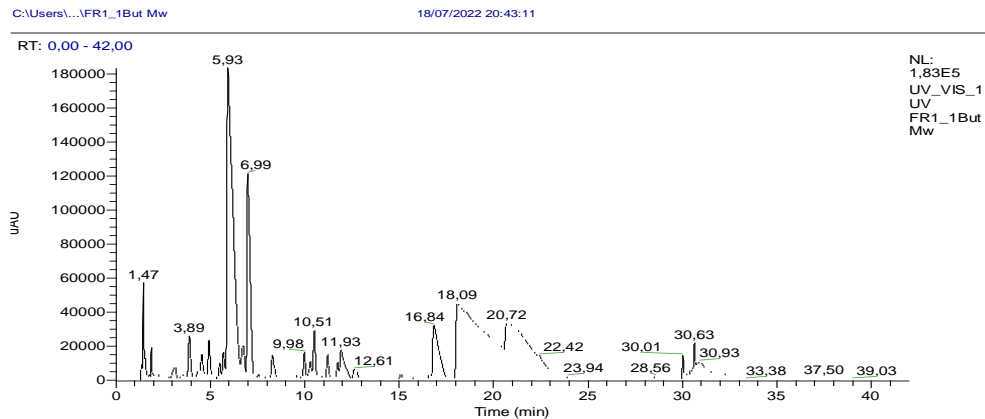


Figure n°13 : Les chromatogrammes UHPLC des extraits des graines de *Peganum harmala* enregistrés à 280 nm.

Partie 2 : Evaluation des activités biologiques des extraits de *P. harmala*

1. Effet des extraits sur l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des extraits de *Peganum harmala* a été évaluée *in vitro* par plusieurs tests dont le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur du fer (FRAP), le piégeage du radical libre ABTS, le blanchiment du β -Carotène, et le piégeage du radical AAPH responsable de l'hémolyse des érythrocytes humains. Les résultats ont été exprimés en CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) pour des concentrations nécessaires des extraits à inhiber 50% du radical libre présent dans la réaction d'oxydoréduction. Les résultats obtenus pour les 5 tests sont représentés dans le **Tableau n°9**, et les **figures n°12, 14, 16, 18 et 20**.

Tableau n°9 : Les valeurs de CI_{50} des activités antioxydantes des extraits de *Peganum harmala*.

	CI_{50} DPPH ($\mu\text{g/mL}$)	CE_{50} FRAP ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} ABTS ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} blanchiment β -Carotène ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} AAPH- induit l'hémolyse ($\mu\text{g/mL}$)
Aqueux	113,5 \pm 0,008 ^{c,d}	396,48 \pm 0,033 ^b	62,54 \pm 0,021 ^{c,d,e}	259,84 \pm 0,008 ^e	59,55 \pm 0,028 ^{d,e}
Ae-Aq	190,39 \pm 0,011 ^e	553,01 \pm 0,053 ^e	64,61 \pm 0,018 ^{d,e}	219,36 \pm 0,027 ^d	42,54 \pm 0,047 ^{c,d}
1B-Aq	174,94 \pm 0,016 ^e	570,81 \pm 0,043 ^e	73,82 \pm 0,014 ^e	171,76 \pm 0,013 ^c	47,76 \pm 0,021 ^d
Hydrométhanol	106,15 \pm 0,011 ^{c,d}	497,33 \pm 0,039 ^d	22,15 \pm 0,020 ^{a,b}	241,45 \pm 0,008 ^{c,d}	3,18 \pm 0,127 ^a
Ae-Hm	126,77 \pm 0,012 ^d	536,66 \pm 0,078 ^{d,e}	11,19 \pm 0,046 ^a	n.d	34,84 \pm 0,02 ^{b,c,d}
1B-Hm	83,66 \pm 0,009 ^{b,c}	424,22 \pm 0,063 ^c	35,43 \pm 0,077 ^{a,b,c,d}	n.d	11,02 \pm 0,027 ^{a,b}
Eau-Acétone	71,48 \pm 0,008 ^{a,b}	430,33 \pm 0,045 ^c	44,97 \pm 0,073 ^{b,c,d,e}	159,51 \pm 0,011 ^e	12,94 \pm 0,052 ^{a,b,c}
Ae-E-Ac	84,65 \pm 0,004 ^{b,c}	461,92 \pm 0,029 ^c	61,23 \pm 0,058 ^{c,d,e}	72,85 \pm 0,013 ^b	25,44 \pm 0,130 ^{b,c,d}
1B-E-Ac	49,36 \pm 0,009 ^a	326,55 \pm 0,024 ^a	34,60 \pm 0,042 ^{a,b,c}	47,40 \pm 0,054 ^b	73,17 \pm 0,081 ^e
Acide ascorbique	0,26 \pm 0,007	-	3,47 \pm 0,003	15,31 \pm 0,011	35,05 \pm 0,069
Catéchine	10,34 \pm 0,058	13,06 \pm 0,008	-	-	-
BHA	-	20,59 \pm 0,06	-	11,97 \pm 0,032	-

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol.
^{a-e} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à $p < 0,05$, comme déterminé par les tests à comparaisons multiples de Tukey et Sidak.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Peganum harmala* en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH, nous a permis de distinguer des valeurs de CI_{50} importantes pour l'extrait brut Eau-Acétone et ses deux fractions Ae-E-Ac et le 1B-E-Ac par rapport aux autres extraits, ils affichent 71,48 \pm 0,008 $\mu\text{g/mL}$, 84,65 \pm 0,004 $\mu\text{g/mL}$ et 49,36 \pm 0,009 $\mu\text{g/mL}$, respectivement, suivis par l'extrait brut Hydrométhanol et ses deux fractions Ae-Hm et le 1B-Hm, qui renferment 106,156 \pm 0,011 $\mu\text{g/mL}$, 126,774 \pm 0,012 $\mu\text{g/mL}$ et 83,66 \pm 0,009 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Tandis que, les valeurs enregistrées pour l'extrait aqueux et ses fractions ont été supérieures et varient entre 113,51 et 190,39 $\mu\text{g/mL}$.

L'ensemble des valeurs est supérieur à celle présentée pour le standards utilisé ; l'acide ascorbique. (Figure n°14 et n°15).

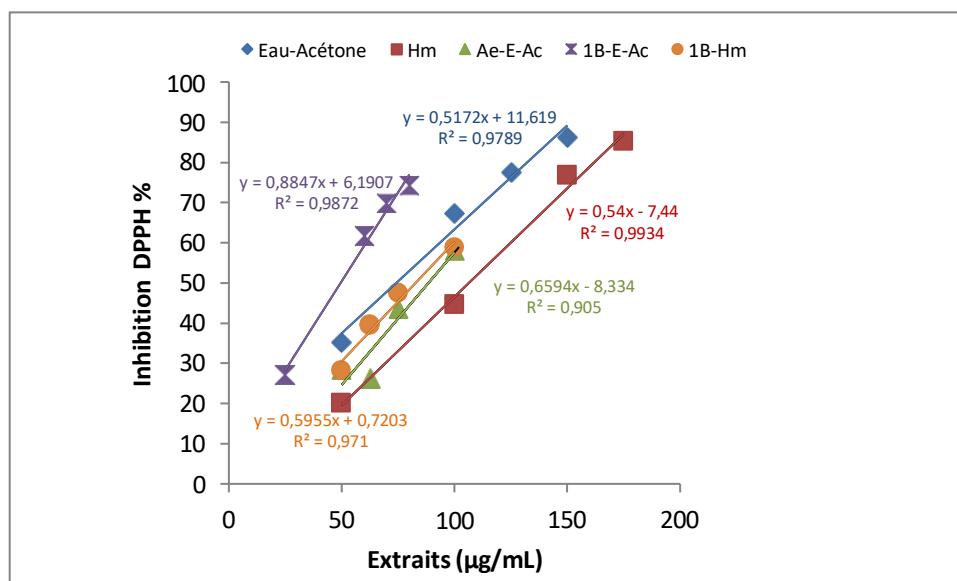


Figure n°14 : Effet des extraits de graines de *Peganum harmala* sur le piégeage du DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.

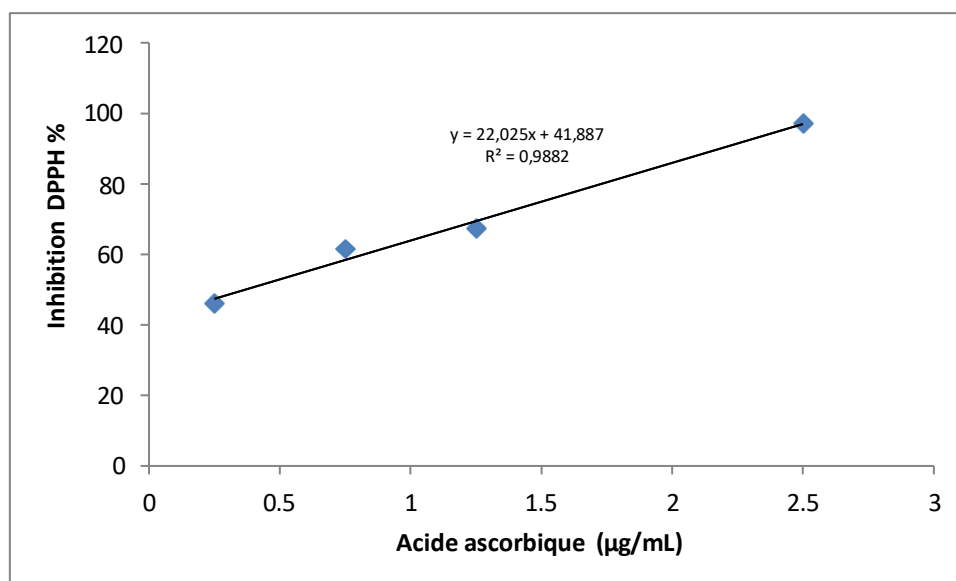


Figure n°15 : Effet d'acide ascorbique sur le piégeage du DPPH exprimé en pourcentage d'inhibition.

Selon les résultats obtenus, nous avons constaté que l'ensemble des extraits de *Peganum harmala* révélait un effet significatif de piégeage du radical DPPH, notamment les extraits et la fraction préparés à partir des mélanges de solvants organiques et d'eau distillée par rapport à l'extrait aqueux.

En ce qui concerne l'effet des extraits de *Peganum harmala* sur la réduction du fer en utilisant la méthode de FRAP, les valeurs de CE₅₀ les plus faibles ont été remarqués pour l'extrait brut Aqueux, suivi par Eau-Acétone et Hydrométhanol, qui ont affichés les valeurs suivantes 396,48±0,033µg/mL, 430,33±0,045µg/mL et 497,333±0,039µg/mL, respectivement.

Tandis que, les fractions 1B-E-Ac et Ae-E-Ac ont révélé des valeurs CE₅₀ de l'ordre de 326,55 ±0,024 µg/mL et 461,92 ±0,029 µg/mL, suivis par les fractions 1B-Hm et Ae-Hm. L'ensemble des valeurs est supérieur à celles présentées pour les standards utilisés comme la catéchine (13,06±0,008 µg/mL) et la BHA (20,59±0,06 µg/mL). Ces résultats obtenus, nous a montré que l'extrait Aqueux de *Peganum harmala* exerce le meilleur pouvoir réducteur de fer par rapport aux autres extraits (**Figure n°16 et n°17**).

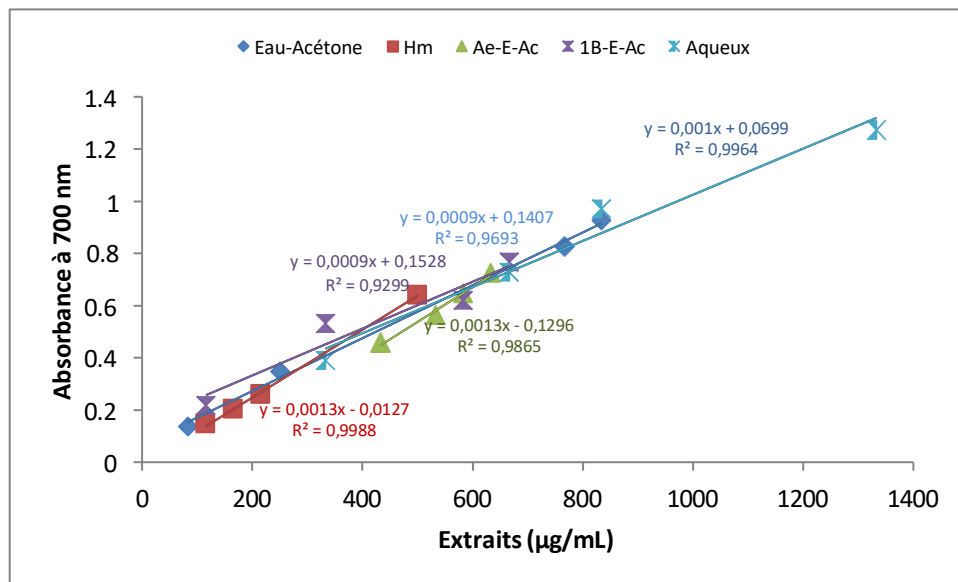


Figure n°16 : Pouvoir réducteur du Fer (FRAP) des extraits de graine de *Peganum harmala*.

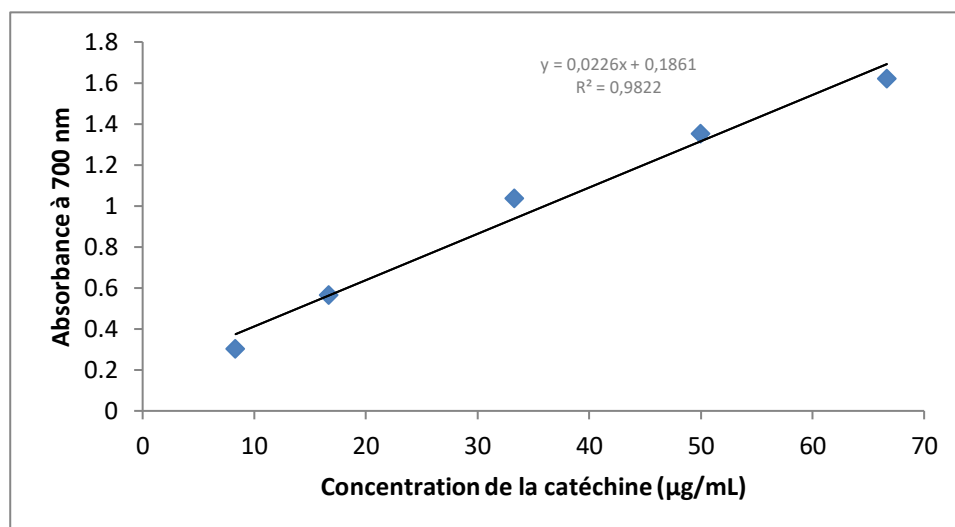


Figure n°17 : Pouvoir réducteur du Fer (FRAP) de la catéchine.

L'effet de *Peganum harmala*, évalué par la méthode du piégeage du radical ABTS, a montré que l'extrait Hydrométhanol présente le meilleur effet suivi par l'extrait Eau-Acétone $22,15 \pm 0,020 \mu\text{g/mL}$ et $44,97 \pm 0,073 \mu\text{g/mL}$, respectivement. La fraction Ae-Hm a enregistré une faible valeur de CI_{50} $11,19 \pm 0,046 \mu\text{g/mL}$, suivi par les fractions 1B-E-Ac et 1B-Hm ont présentés des valeurs similaires $34,60 \pm 0,042 \mu\text{g/mL}$, et $35,43 \pm 0,077 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Tandis que, les fractions Ae-E-Ac et Ae-Aq ont enregistré des valeurs moyennement importantes et comparables, $61,23 \pm 0,058$ et $64,61 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Les valeurs de CI_{50} obtenues sont supérieures aux valeurs obtenues pour la quercétine ($\text{CI}_{50} = 17,23 \pm 0,48 \mu\text{g/mL}$). D'après ces résultats, nous avons observé que l'extrait Hydrométhanol et sa fraction Ae sont les plus actifs à neutraliser le radical ABTS par rapport aux autres extraits (Figure n°18 et n°19).

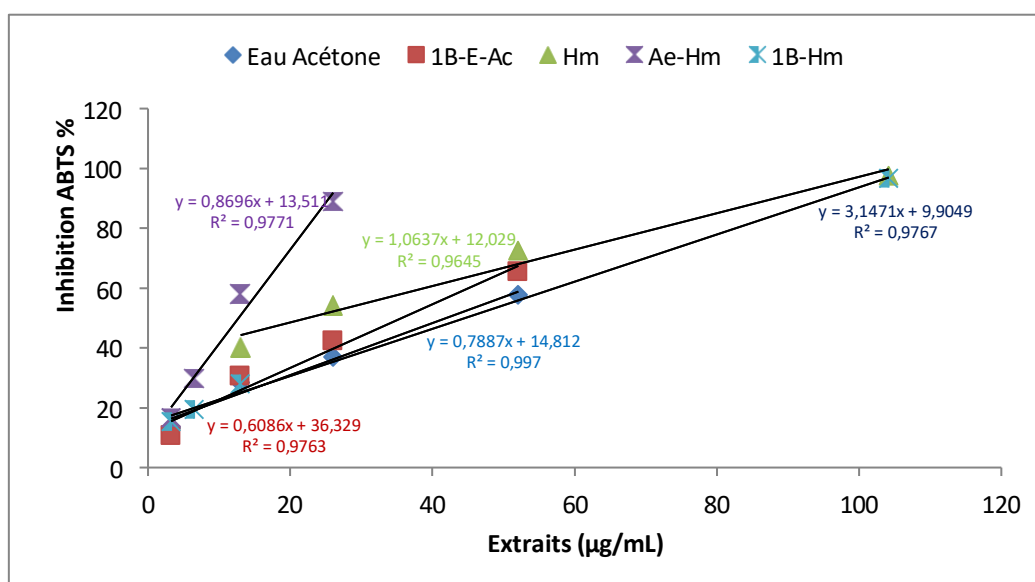


Figure n°18 : Effet des extraits de *P. harmala* sur le piégeage du radical ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.

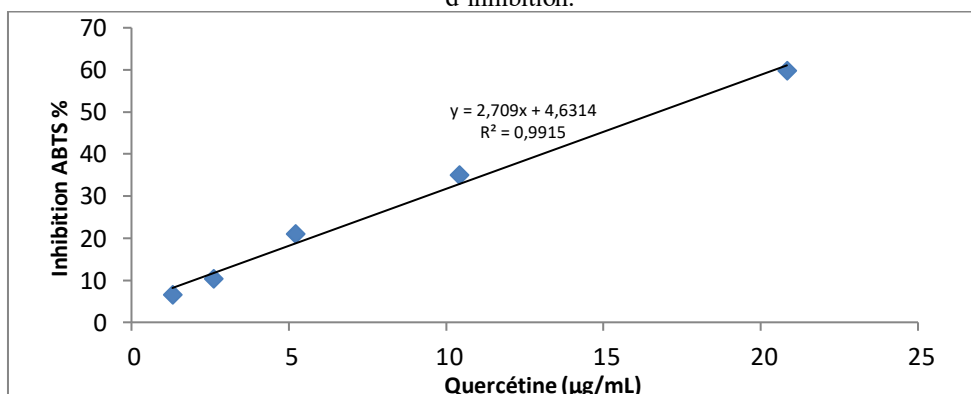


Figure n°19 : Effet de la quercétine sur le piégeage du radical ABTS exprimé en pourcentage d'inhibition.

Pour les résultats de test du blanchiment de β -Carotène, les résultats obtenus ont enregistré des valeurs CI_{50} importantes pour l'extrait brut Eau-Acétone et ses deux fractions Ae-E-Ac et 1B-E-Ac par rapport aux autres extraits, et qui sont comme suit, $159,51 \pm 0,011 \mu\text{g/mL}$, $72,85 \pm 0,013 \mu\text{g/mL}$, et $47,40 \pm 0,054 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Les valeurs obtenues pour les fractions Ae-E-Aq et 1B-E-Aq, sont moyennement élevées et sont de l'ordre de $219,36 \pm 0,027 \mu\text{g/mL}$, et $171,76 \pm 0,013 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Tandis que, la valeur enregistrée pour l'extrait aqueux a été la plus élevée $259,84 \pm 0,008 \mu\text{g/mL}$. Ces valeurs sont moins importantes que les valeurs obtenues par les standards acide ascorbique ($15,31 \pm 0,011 \mu\text{g/mL}$) et la BHA ($11,97 \pm 0,032 \mu\text{g/mL}$) (Figure n°20 et n°21).

Suivant ces résultats on constate que l'extrait brut Eau-Acétone et ses deux fractions Ae et 1-B de *Peganum harmala* sont les meilleurs à prévenir le blanchiment du β -Carotène par rapport aux autres extraits.

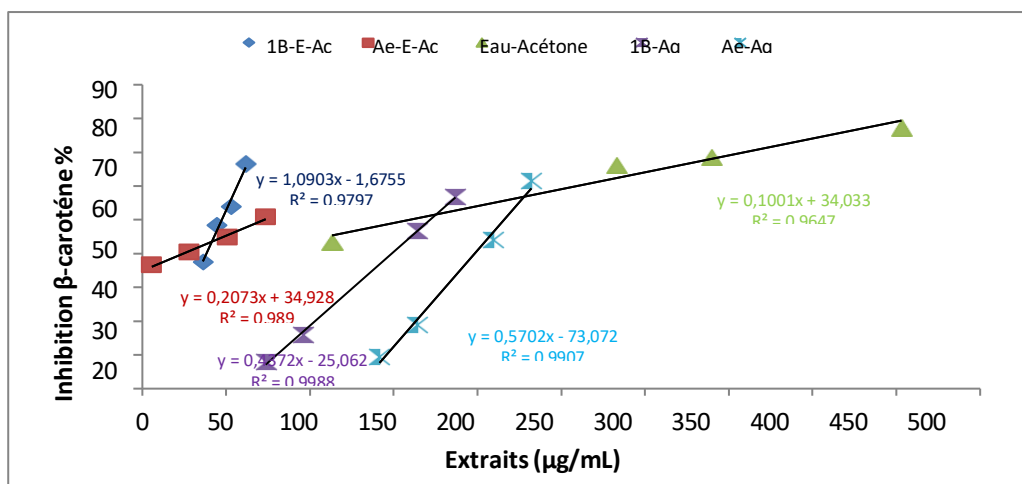


Figure n°20 : Effet des extraits de *P. harmala* sur l'inhibition du Blanchiment du β -Carotène.

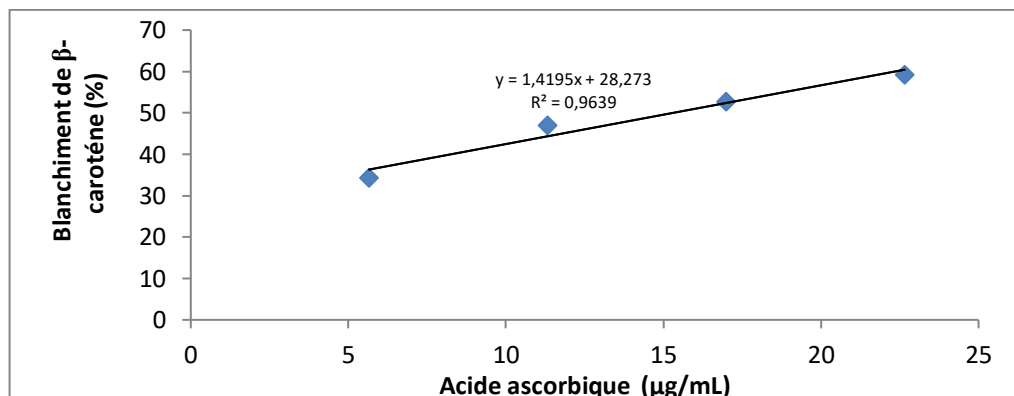


Figure n°21 : Effet de l'acide ascorbique sur l'inhibition du Blanchiment du β -Carotène.

L'effet des extraits de *P. harmala* sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges humains induite par l'AAPH, nous a permis de constater un effet inhibiteur intéressant pour l'ensemble des extraits, avec l'obtention de valeurs CI_{50} qui varient entre, notamment, au niveau des extraits bruts l'extrait Hydrométhanol qui a présenté l'effet le plus puissant avec à une valeur CI_{50} égale à $3,18 \pm 0,127 \mu\text{g/mL}$, suivi par l'extrait Eau-Acétone $12,94 \pm 0,052 \mu\text{g/mL}$. Cependant, la fraction 1B-Hm a enregistré une valeur CI_{50} égale à $11,02 \pm 0,027 \mu\text{g/mL}$ et qui reste inférieure à celle de la fraction Ae-E-Ac dont CI_{50} égale à $25,44 \pm 0,130 \mu\text{g/mL}$. Tandis que, les valeurs de l'extrait Aqueux et ses deux fractions ont été faiblement importantes. L'acide ascorbique a présenté un effet inhibiteur de l'hémolyse induite par l'AAPH avec une CI_{50} de $35,05 \pm 0,069 \mu\text{g/mL}$ (**Figure n°22**).

Selon les valeurs CI_{50} obtenues, le piégeage des radicaux libres issus de l'AAPH par les fractions a été significativement élevé par rapport extraits bruts et par rapport à l'acide ascorbique. Ses résultats indiquent que les extraits Hydrométhanol et ses fractions Ae et 1-B de *Peganum harmala* sont les plus efficaces par rapports aux extraits à protéger les érythrocytes de l'hémolyse induite par le générateur des radicaux libres AAPH.

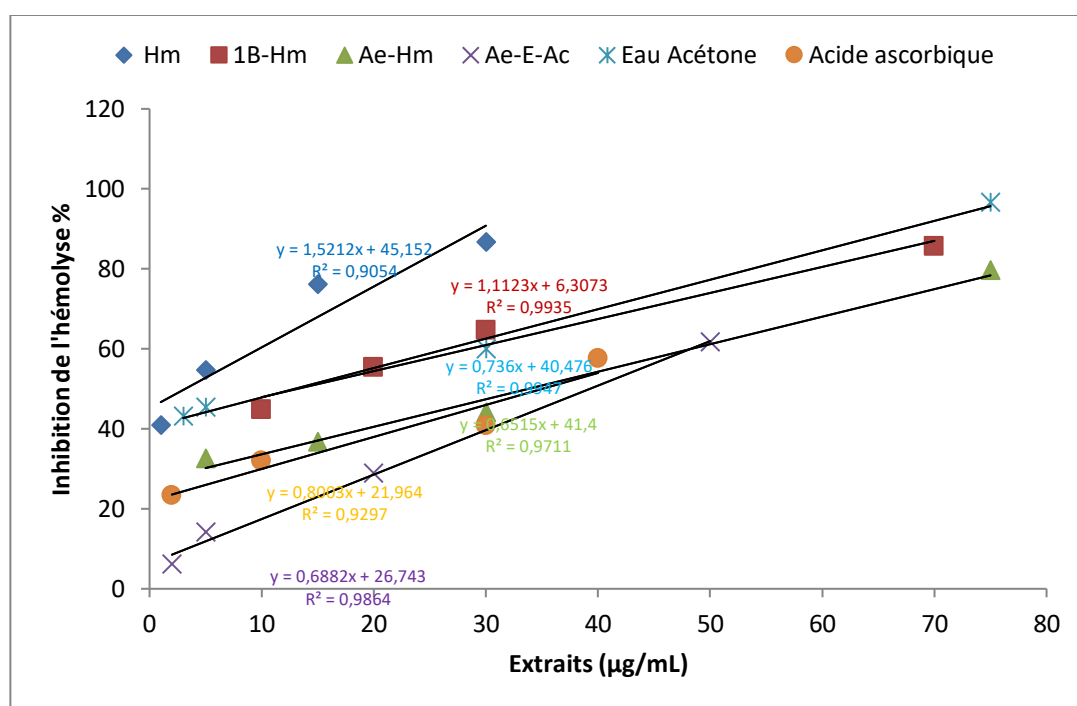


Figure n°22 : Effet des extraits de graine de *P. harmala* sur l'inhibition de l'hémolyse induite par AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition.

L'effet des extraits de graines de *P. harmala* sur le piégeage du radical oxyde nitrique représenté dans le **tableau n°8** et la **figure n°23** a révélé un effet piègeur intéressant et proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits. Les valeurs CI_{50} déterminées ont démontré l'effet antiradicalaire le plus puissant et plus au moins similaire de l'extrait Eau-Acétone ($145,22 \pm 0,071 \mu\text{g/mL}$) et sa fraction 1B-E-Ac ($147,20 \pm 0,037 \mu\text{g/mL}$), ainsi que la fraction 1B-Aq ($143,04 \pm 0,012 \mu\text{g/mL}$). L'effet de ces extraits a dépassé l'effet de l'acide ascorbique ($293,78 \pm 0,012 \mu\text{g/ml}$). Tandis que l'extrait aqueux et la fraction 1B-Hm ont enregistré des valeurs CI_{50} moyennement élevée $210,91 \pm 0,021 \mu\text{g/mL}$ et $390,44 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$, respectivement. De ce fait on constate que l'extrait d'Eau-Acétone et ses fractions Ae et 1-B de *Peganum harmala* sont les plus puissants à neutraliser le radical oxyde nitrique.

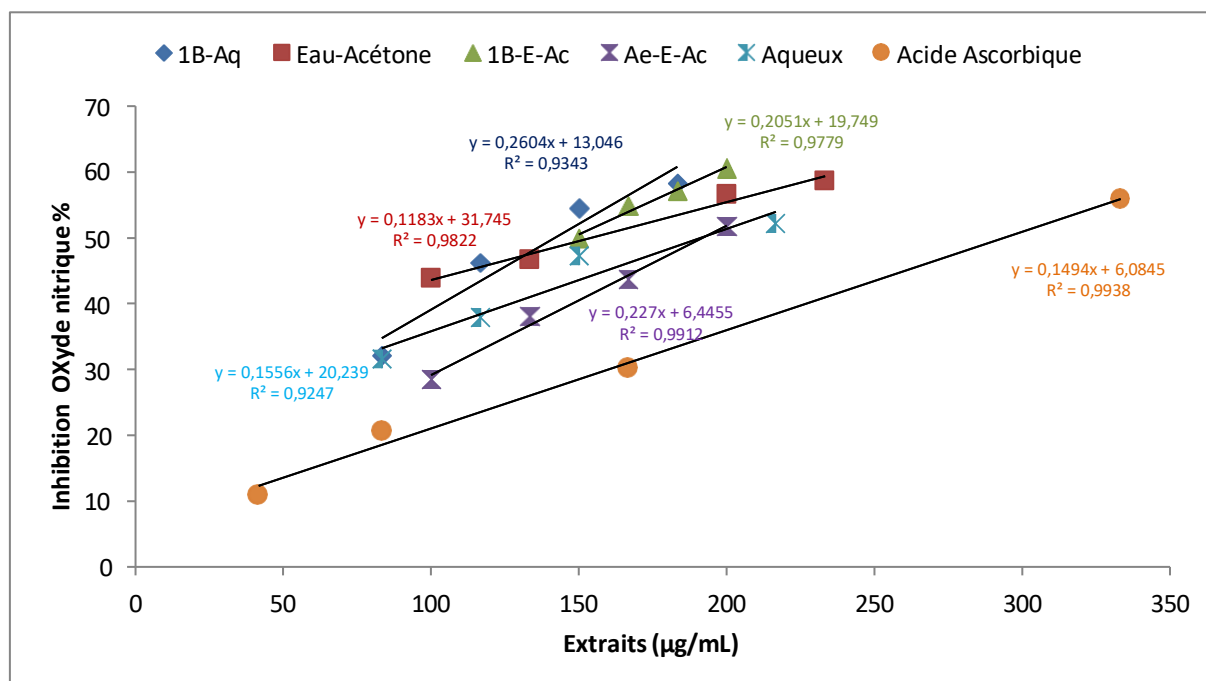


Figure 23 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur le piégeage du radical oxyde nitrique exprimé en pourcentage d'inhibition.

Concernant l'effet des extraits sur le piégeage du superoxyde, les résultats obtenus (**Tableau n°10 et la figure n°24**) montrent un effet antioxydant puissant pour l'ensemble des extraits, en particulier la fraction 1B-Aq qui a enregistré la CI_{50} la plus basse $188,52 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$, suivi par l'extrait Eau-Acétone et l'extrait Aqueux qui ont neutralisé ce radical à des valeurs de CI_{50} de l'ordre de $223,61 \pm 0,025 \mu\text{g/mL}$ et $235,49 \pm 0,012 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Tandis que, la fraction Ae-E-Ac a affiché une valeur CI_{50} égale à $946,16 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$.

Les différentes valeurs CI_{50} sont supérieures à la valeur déterminée pour le standard acide ascorbique ($CI_{50} = 28,28 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$). Par conséquent, nous avons noté que l'extrait Aqueux de *Peganum harmala* et ses fractions Ae et 1B sont les plus intéressants à neutraliser le radical superoxyde.

Tableau n°10 : Les résultats des CI_{50} de l'effet piègeur des radicaux libre de l'oxyde nitrique et le superoxyde par les extraits de *Peganum harmala*.

Les extraits	CI_{50} Oxyde nitrique (NO) ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} Superoxyde (SO) ($\mu\text{g/mL}$)
Aqueux	$210,91 \pm 0,021^b$	$235,49 \pm 0,012^b$
Ae-Aq	$326,75 \pm 0,005^d$	$445,49 \pm 0,007^c$
1B-Aq	$143,04 \pm 0,012^a$	$188,52 \pm 0,019^a$
Hydrométhanol	$379,86 \pm 0,014^e$	$545,06 \pm 0,013^e$
Ae-Hm	$252,34 \pm 0,012^c$	$506,11 \pm 0,004^d$
1B-Hm	$390,44 \pm 0,006^e$	$585,92 \pm 0,014^f$
Eau-Acétone	$145,22 \pm 0,071^a$	$223,61 \pm 0,025^b$
Ae-E-Ac	$192,06 \pm 0,137^b$	$946,16 \pm 0,007^g$
1B-E-Ac	$147,20 \pm 0,037^a$	$444,06 \pm 0,027^c$
Acide ascorbique	$293,78 \pm 0,012$	$24,74 \pm 0,004$

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol
^{a-g} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à $p < 0,05$, comme déterminé par les tests à comparaisons multiples de Tukey et Sidak.

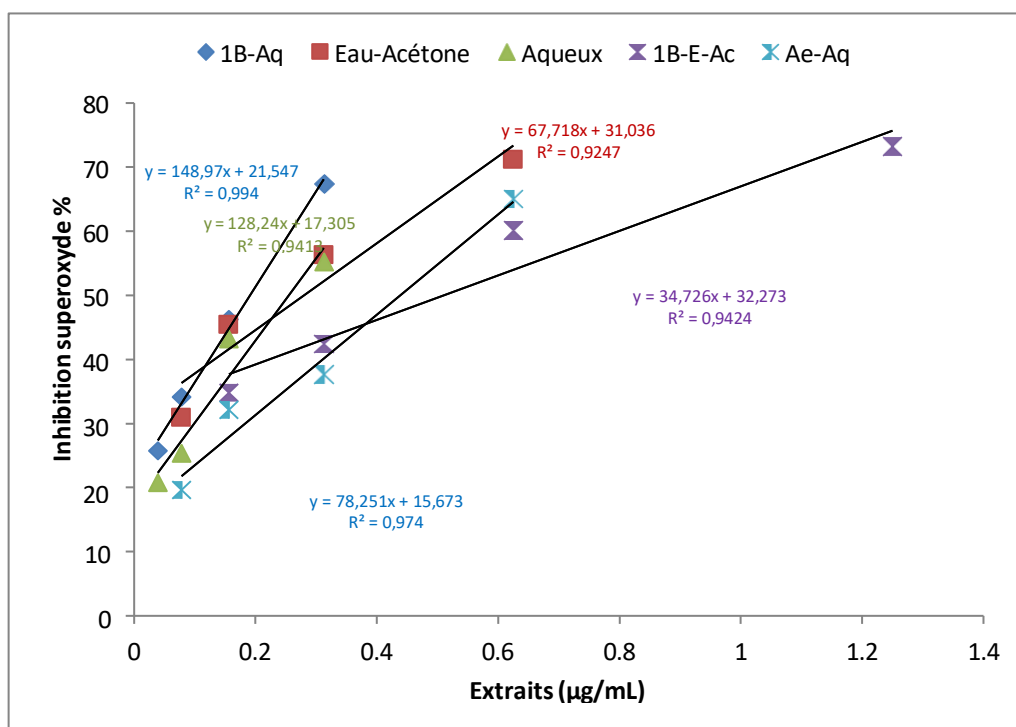


Figure n°24 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur le piégeage du radical superoxyde exprimé en pourcentage d'inhibition.

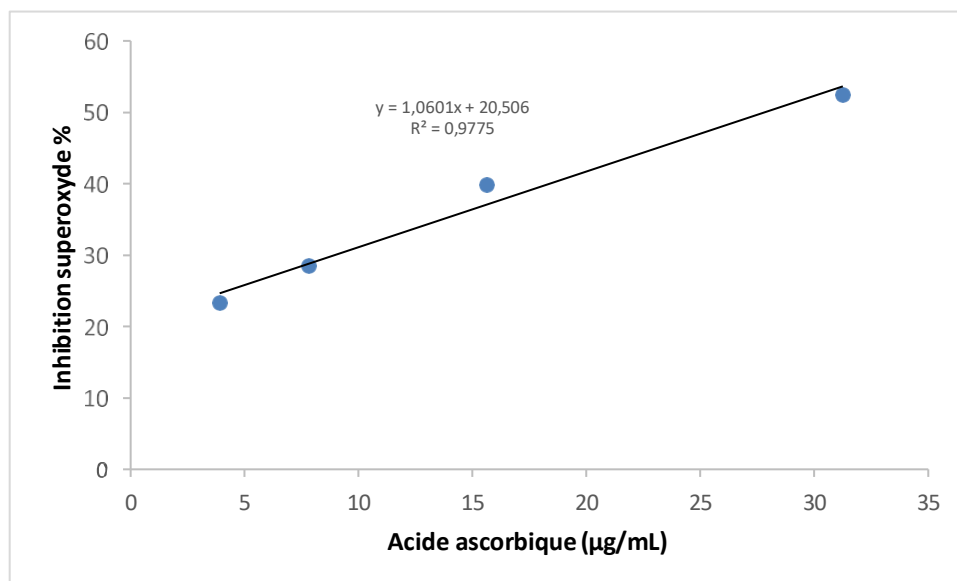


Figure n°25 : Effet d'acide ascorbique sur le piégeage du radical superoxyde exprimé en pourcentage d'inhibition.

2. Effet antidiabétique des extraits de graine de *P. harmala*

2.1. Effet des extraits sur l'activité de l' α -amylase

L'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l' α -amylase par les extraits de *Peganum harmala* a été évalué *in vitro*, les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau n°11**. Aucun effet inhibiteur considérable n'a été observé pour tous les extraits sur l'activité enzymatique de l' α -amylase. Les pourcentages d'inhibition obtenus ont été faibles pour tous les extraits, ils varient entre 0,18% et 11,81% pour des concentrations des extraits variables entre 0,250mg/ml et 5mg/l. Cependant, l'acarbose a révélé une inhibition proportionnelle à sa concentration (**Figure n° 26**), avec une valeur de CI_{50} égale à $19,88 \pm 0,10$ µg/mL.

Tableau n°11 : Les résultats en pourcentages de l'activité inhibitrice de l' α -amylase par les extraits de *Peganum harmala*.

Les extraits	% d'inhibition de l' α -amylase à 5 mg/mL d'extrait	% d'inhibition de l' α -amylase à 1 mg/mL d'extrait	% d'inhibition de l' α -amylase à 0.250 mg/mL d'extrait
Aqueux	9,61± 1,15 ^a	2,63±2,47 ^a	0,18±2,81 ^a
Ae-Aq	7,04 ± 1,01 ^a	3,96±5,90 ^a	1,81±2,44 ^a
1B-Aq	9,18 ±0,59 ^a	9,09±0,33 ^a	9,47±0,59 ^a
Eau-Acétone	11,16±1,55 ^a	8±1,09 ^a	7,67±1,73 ^a
Ae-E-Ac	6,79 ±1,61 ^a	5,16±2,37 ^a	0,56±1,70 ^a
1B-E-Ac	11,81±1,41 ^a	9,85±0,98 ^a	8,68±1,11 ^a
Hydrométhanol	2,29±0,86 ^a	1,99±1,94 ^a	1,07±0,21 ^a
Ae-Hm	9,75 ±0,74 ^a	6,13±1,23 ^a	5,023±0,33 ^a
1B-Hm	10,2±0,23 ^a	3,42±0,80 ^a	0,81±1,26 ^a

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B :1-Butanol
 Les valeurs (moyenne ± écart-type) portant la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test Tukey, $p < 0,05$.

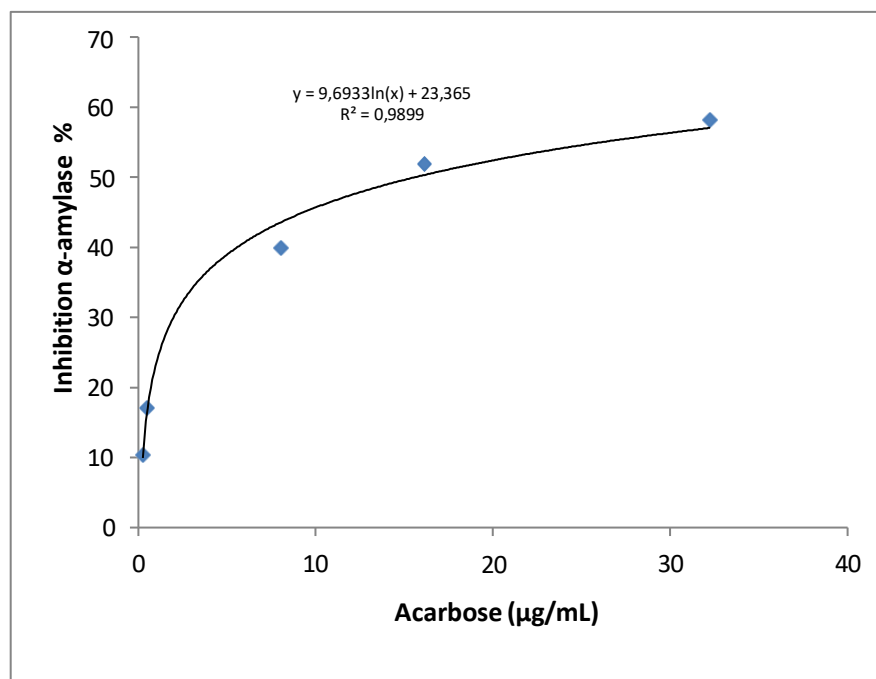


Figure n°26 : Effet de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase.

2.2. Effet des extraits sur l'activité de l' α -glucosidase

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition le **tableau n°12** et la **figure n°27**, les valeurs de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) sont déterminées à partir des équations de régression linéaire de courbes obtenues. Selon les résultats obtenus, tous les extraits ont révélé une inhibition proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits, avec l'obtention de

différentes valeurs de CI_{50} . Les fractions 1B-Hm et 1B-E-Ac ont montré l'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l' α -glucosidase le plus puissant par rapport aux autres extraits, dont les valeurs de CI_{50} enregistrées sont $141,18 \pm 4,00$ et $164,06 \pm 2,46$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement, et qui sont inférieures à la valeur de CI_{50} enregistrée par le standard de l'acarbose ($203,41 \pm 1,07$ $\mu\text{g/mL}$). L'extrait Eau- Acétone a également enregistré une forte inhibition de cette enzyme avec une CI_{50} de $207,93 \pm 4,22$ $\mu\text{g/mL}$, cet effet reste significativement élevé par rapport à l'effet des extraits Hydrométhanol et Aqueux ont présentés des effets plus au moins similaires, dont les valeurs de CI_{50} déterminées sont comparables, $618,82 \pm 2,76$ et $613,44 \pm 0,04$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Cependant, les fractions acétate d'éthyle ont été faiblement actives et ont révélé des valeurs élevées de CI_{50} qui arrivent à $1157,86 \pm 3,14$ $\mu\text{g/mL}$ notamment la fraction Ae-Aq. D'après ces résultats on constate que l'extrait Eau- Acétone et ces fractions Ae et 1-B de *Peganum harmala* sont de puissant inhibiteur de l'activité de l' α -glucosidase.

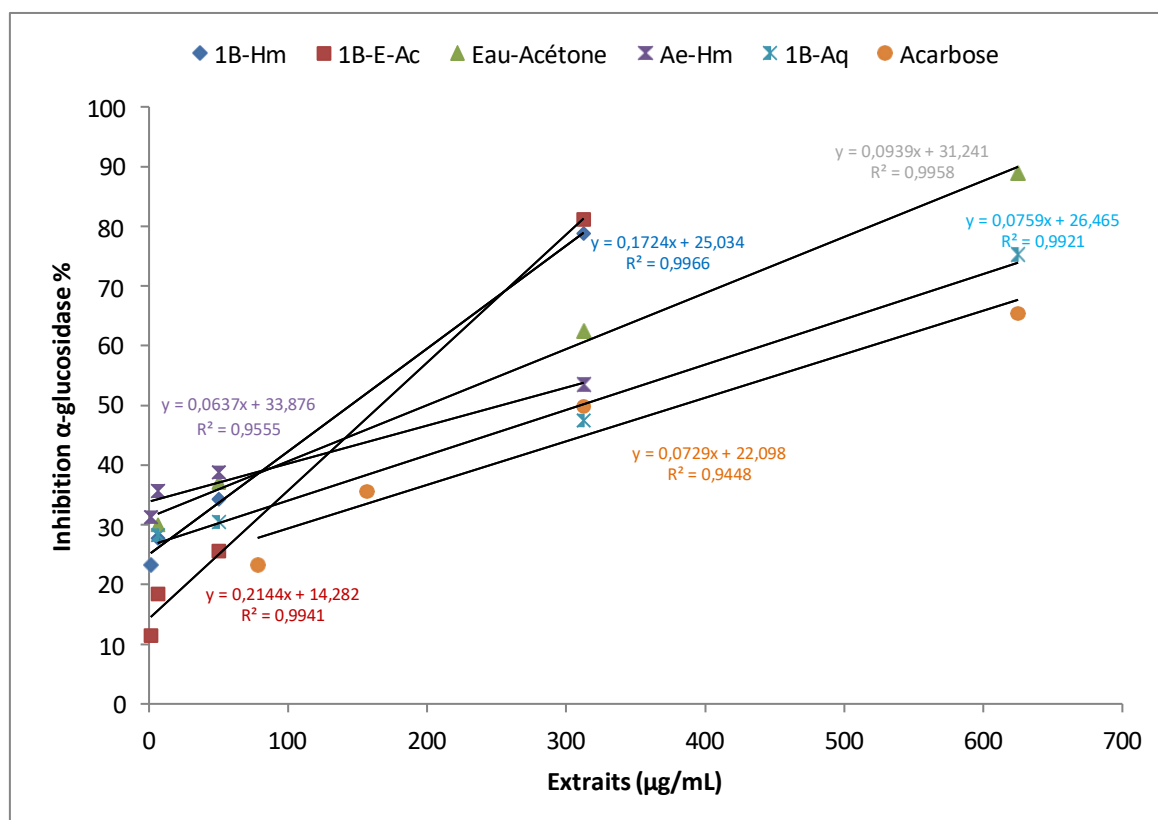


Figure n°27 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.

3. Effet antialzheimer des extraits de *Peganum harmala*

3.1. Effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) et la-butyrylcholinestérase (BChE)

L'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l'AChE et la BChE par les extraits de *Peganum harmala* exprimé en pourcentage d'inhibition est représenté dans le **tableau n°12**, les **figures n°28 et 29**, respectivement. Les valeurs des CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ont été calculé à partir l'équation de régression logarithmique des courbes obtenus.

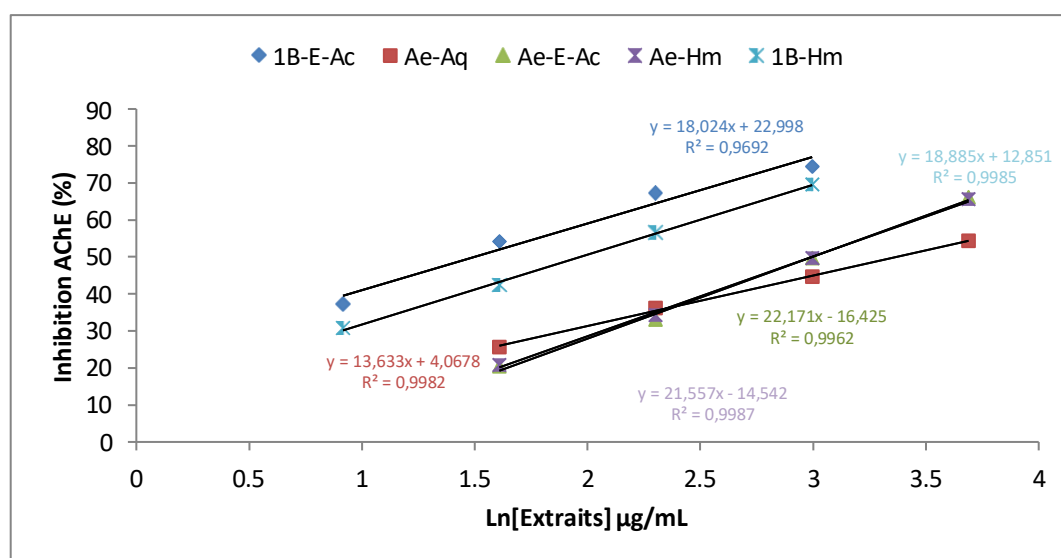


Figure n°28 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase exprimé en pourcentage d'inhibition.

Concernant l'effet inhibiteur des extraits bruts sur l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase, les extraits eau-acétone et hydrométhanol ont enregistré un effet important plus au moins similaire dont les valeurs CI_{50} sont $5,03 \pm 7,58$ et $5,19 \pm 7,13$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Cependant, l'extrait brut Aqueux a révélé un faible effet inhibiteur par rapport aux autres extraits, dont la valeur CI_{50} est égale à $9,37 \pm 5,39$ $\mu\text{g/mL}$. Tandis que, l'effet des fractions acétate d'éthyle et 1-butanol a été intéressantes avec des valeurs CI_{50} qui varient entre 3,07 et 3,09 $\mu\text{g/mL}$ à l'exception de la fraction 1B-Aq qui a enregistré une valeur élevée CI_{50} (**Figure 28**). Toutes les valeurs CI_{50} obtenues sont supérieures à celle enregistrée pour le standard le donépézil ($CI_{50} = 0,0093 \pm 0,002$ $\mu\text{g/mL}$) (**Figure 30**). D'après ses résultats calculés, nous avons constaté que tous les extraits et leurs fractions de *Peganum harmala* sont de puissant inhibiteur de l'acétylcholinestérase.

Concernant l'effet inhibiteur des extraits bruts sur l'activité enzymatique de la butyrylcholinestérase (**Figure n°29**), l'extrait Eau-Acétone a assuré l'effet le plus élevé.

Cependant, l'extrait Aqueux a enregistré un faible effet, les valeurs CI_{50} sont de l'ordre de $9,42 \pm 13,44$ et $26,26 \pm 0,11$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Tandis que, l'effet des fractions acétate d'éthyle et 1-butanol ont révélé un effet inhibiteur plus intéressant, avec des valeurs CI_{50} qui varient entre 6,18 et 8,86 $\mu\text{g/mL}$ à l'exception de la 1B-E-Ac qui a enregistré une valeur CI_{50} plus proche de celle enregistrée pour le donépézil, $5,86 \pm 1,81$ $\mu\text{g/mL}$ et $1,79 \pm 0,36$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement.

La comparaison des valeurs CI_{50} nous a permis de constater que les extraits bruts de *Peganum harmala* et leurs fractions sont de potentiel inhibiteur de la butyrylcholinestérase.

Tableau n°12 : Les résultats des CI_{50} des activités inhibitrices des enzymes par les extraits de *Peganum harmala*.

Les extraits	CI_{50} α -Glucosidase ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} AChE ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} BChE ($\mu\text{g/mL}$)
Aqueux	$613,44 \pm 0,04^e$	$9,37 \pm 5,39^a$	$26,26 \pm 0,11^a$
Ae-Aq	$1157,86 \pm 3,14^f$	$3,26 \pm 4,46^a$	$6,20 \pm 4,79^a$
1B-Aq	$315,18 \pm 0,05^c$	$6,79 \pm 5,82^a$	$8,86 \pm 3,75^a$
Hydrométhanol	$618,82 \pm 2,76^d$	$5,19 \pm 7,13^a$	$12,65 \pm 2,24^a$
Ae-Hm	$298,83 \pm 0,35^c$	$3,51 \pm 5,81^a$	$6,27 \pm 5,98^a$
1B-Hm	$141,18 \pm 4,00^a$	$3,96 \pm 11,70^a$	$6,34 \pm 13,83^a$
Eau-Acétone	$207,93 \pm 4,22^b$	$5,03 \pm 7,58^a$	$9,42 \pm 13,44^a$
Ae-E-Ac	$386,24 \pm 1,80^d$	$3,33 \pm 8,62^a$	$6,18 \pm 0,80^a$
1B-E-Ac	$164,06 \pm 2,46^a$	$3,07 \pm 1,97^a$	$5,86 \pm 1,81^a$
Acarbose	$203,41 \pm 1,07$	-	-
Donépézil	-	$0,0093 \pm 0,002$	$1,79 \pm 0,36$

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol
^{a-f} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à $p < 0,05$, comme déterminé par les tests à comparaisons multiples de Tukey et Sidak.

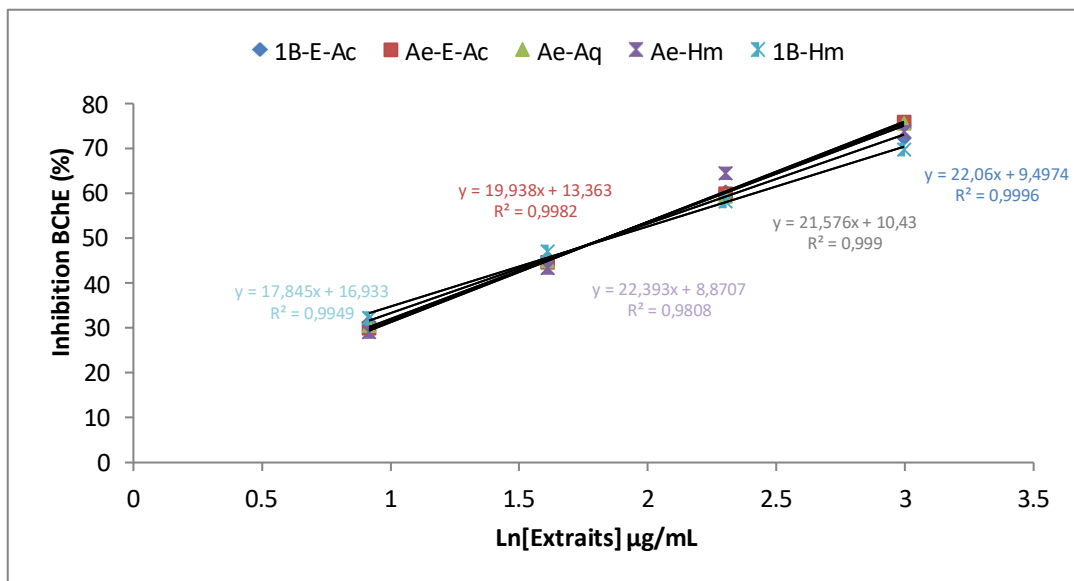


Figure n°29 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'inhibition de la butyrylcholinestérase exprimé en pourcentage d'inhibition.

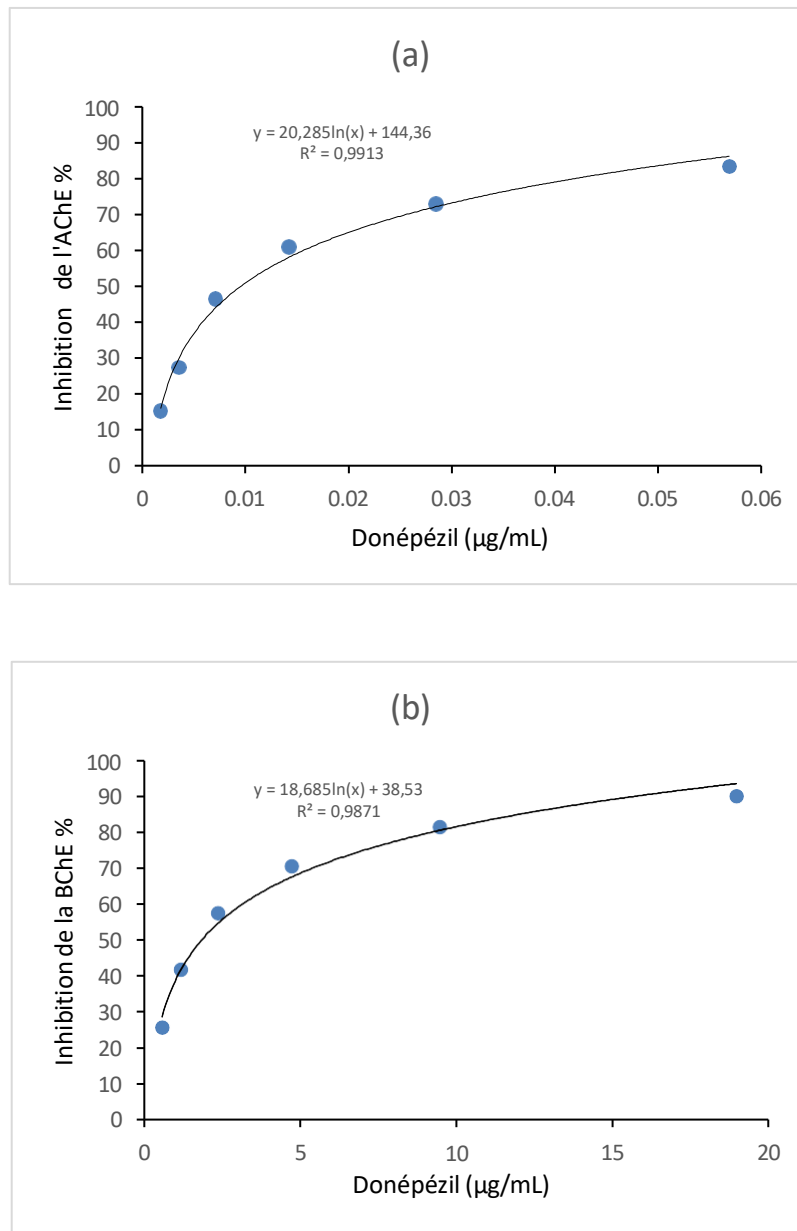


Figure n°30 : Effet de donépézil sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase (a) et la butyrylcholinestérase (b) exprimé en pourcentage de l'inhibition.

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

4.1. Effet inhibiteur de l'activité enzymatique de la cyclooxygénase par les extraits de *Peganum harmala*

L'effet anti-inflammatoire des extraits de *P. harmala* a été évalué par mesure de l'activité enzymatique des cyclooxygénases (COX).

Dans cette étude, nous avons utilisé les extraits de *P. harmala* pour tester son effet sur le taux d'inhibition de Cox 1 et Cox 2 par une méthode ELISA en mesurant la concentration de prostaglandine produite dans le milieu. Les résultats obtenus sont représentés dans les **tableaux n°13 et n°14**, et les **figures n°31,32,33 et n° 34**.

L'extrait Aqueux par rapport aux extraits a révélé une forte inhibition de COX 1 qui peut atteindre 91,53%, cette inhibition correspond un taux de prostaglandine libérée dans le milieu de 169,28 pg/mL. Tandis que, l'extrait Eau-Acétone assure une inhibition de 87,5% (250 pg/mL), suivi par la fraction 1B-Hm qui arrive à 65,61% (687.64 pg/mL).

En ce qui concerne l'effet des extraits sur l'activité de la Cox 2, l'extrait Hm a enregistré par rapport aux autres extraits le meilleur effet inhibiteur de cette enzyme estimé à 93,94% (121,20 pg/mL), suivi par l'extrait Eau-Acétone qui a affiché une inhibition de 91,21% (175.69 pg/mL) respectivement. Tandis que, la fraction 1B-Hm a faiblement inhibé la Cox-2 58,79% (824,09 pg/mL).

Tableau n°13 : Les résultats en pourcentages (%) de l'effet inhibiteur des enzymes Cox 1 par les extraits de *Peganum harmala*.

Les extraits	Traceur Pg (%B/B ₀)	Prostaglandine (pg/mL)	% d'inhibition à 20µM
E-Ac	39,70 ±13,75 ^a	250±12,89 ^{a,b}	87,50± 5,23 ^a
Hm	34,65±9,05 ^a	350,82±8,53 ^{c,d}	82,45±4,49 ^a
Aq	45,53±4,08 ^a	169,8±3,91 ^a	91,53±1,15 ^a
AE-E-Ac	29,24±5,36 ^a	503,86±5,00 ^e	74,80±3,54 ^a
AE-Hm	33,61±18,37 ^a	376,11±17,30 ^{c,d}	81,19±9,81 ^a
AE-Aq	29,03±3,03 ^a	510,92±2,83 ^{b,c}	74,45±2,08 ^a
1B-E-Ac	33,33±1,47 ^a	383,16±1,38 ^d	80,84±0,77 ^a
1B-Hm	24,60±7,56 ^a	687,64±6,97 ^f	65,61±6,55 ^a
1B-Aq	38,66±2,02 ^a	268,02±1,92 ^{b,c}	86,59±0,81 ^a

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol.
^{a-f} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à p <0,05, comme déterminé par le test à comparaisons multiples de Tukey.

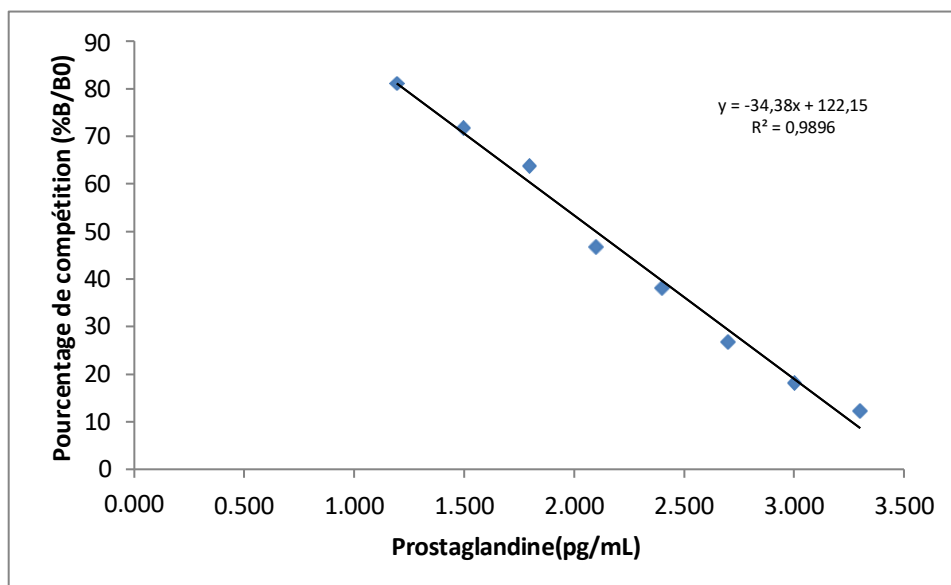


Figure n°31 : Courbe d'étalonnage pour l'inhibition de la Cox 1 et la Cox 2.

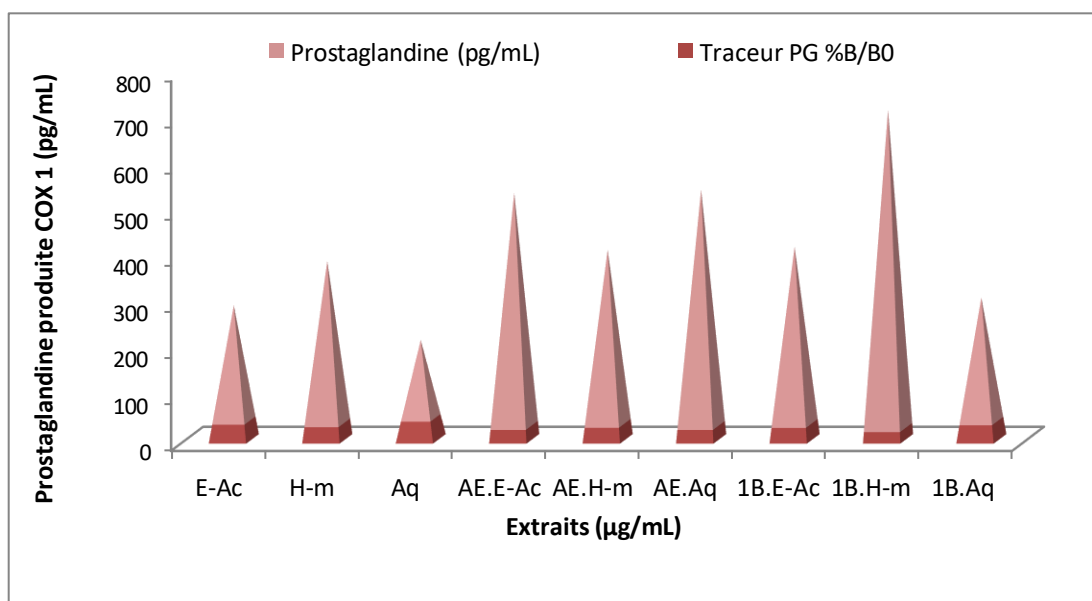


Figure n°32 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur le taux de prostaglandine libéré par Cox 1.

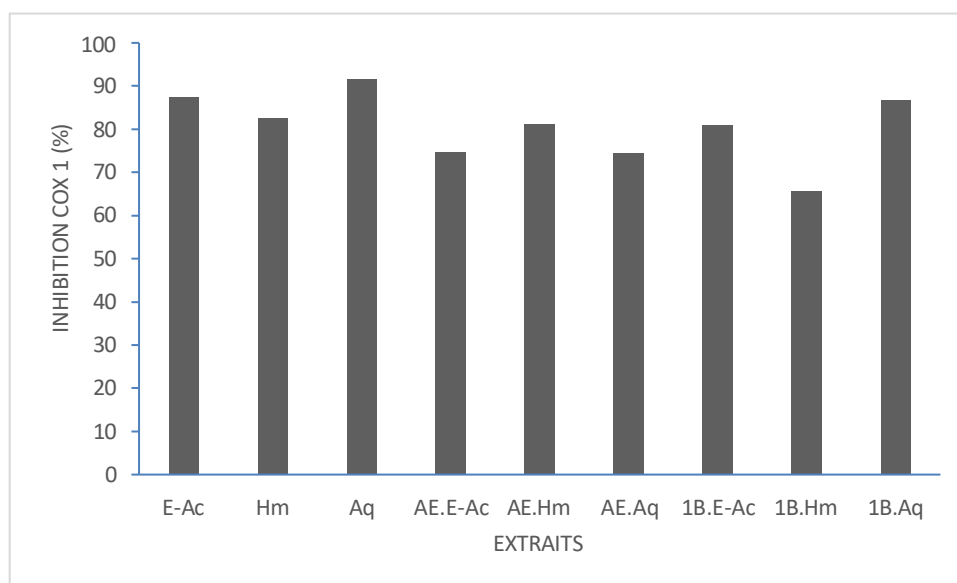


Figure n°33 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'inhibition de COX 1 exprimé en pourcentage d'inhibition.

Tableau n°14 : Les résultats en pourcentages (%) de l'effet inhibiteur des enzymes Cox 2 par les extraits de *Peganum harmala*.

Les extraits	Traceur Pg (%B/B ₀)	Prostaglandine (pg/mL)	% d'inhibition à 20µM
E-Ac	44,97±3,26 ^a	175,69±3,12 ^a	91,21±0,94 ^a
Hm	50,52±10,28 ^a	121,20±9,87 ^a	93,94±2,27 ^a
Aq	25,36±25,50 ^a	653,41±23,57 ^c	67,32±21,85 ^a
AE-E-Ac	34,30±9,42 ^a	359,06±8,88 ^b	82,04±4,77 ^a
AE-Hm	31,87±9,22 ^a	422,39±8,65 ^b	78,88±5,30 ^a
AE-Aq	22,45±9,60 ^a	794,05±8,78 ^e	60,29±9,55 ^a
1B-E-Ac	24,94±10,21 ^a	671,87±9,42 ^{c, d}	66,40±8,68 ^a
1B-Hm	21,89±12,53 ^a	824,09±11,44 ^e	58,79±12,99 ^a
1B-Aq	23,21±11,39 ^a	754,53±10,46 ^a	62,27±10,81 ^a

Aq : aqueux ; Hm : hydrométhanol ; E-Ac : eau acétone ; Ae : acétate d'éthyle ; 1B : 1-Butanol.
^{a-f} Les valeurs non reliées par la même lettre sont significativement différentes à p < 0,05, comme déterminé par le test à comparaisons multiples de Tukey.

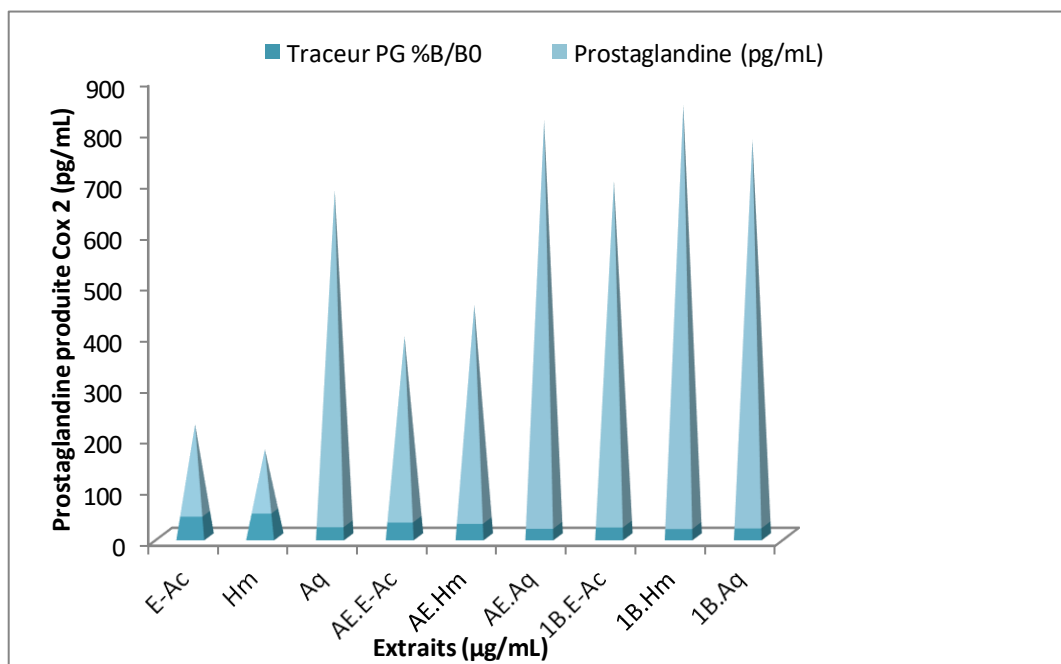


Figure n°34 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur le taux de prostaglandine libéré par Cox 2.

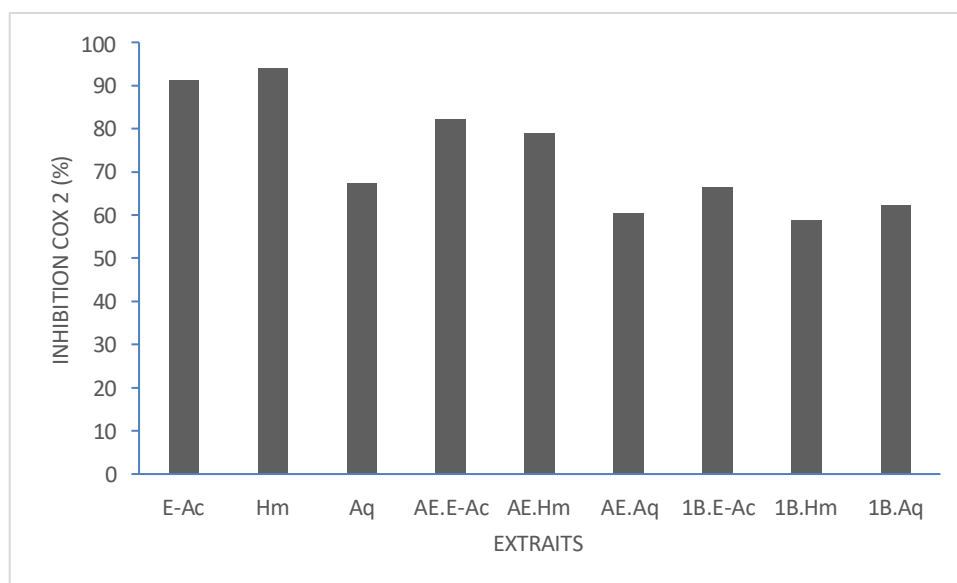


Figure n°35 : Effet des extraits de graines de *P. harmala* sur l'inhibition de COX 2 exprimé en pourcentage d'inhibition.

5. Analyse statistique des activités biologiques influencées par les différents solvants utilisés

Etant donné que les CI_{50} des activités biologiques étaient différentes d'un extrait à l'autre, et que la composition chimique était déterminée à différents niveaux, une étude statistique a été réalisée pour confirmer cette variance et définir les paramètres qui peuvent être responsable de cette variance. Un test ANOVA à deux voies et la matrice de corrélation (la carte thermique) ont été réalisés, ensuite, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée afin d'exprimer les relations établies entre les différentes variables.

Pour le test ANOVA à deux voies, le test de Shapiro-Wilk a été effectué et les échantillons ont analysés le test de normalité. En outre, le test de comparaison multiple de Sidak et de Tukey ont été réalisés pour déterminer les paires de groupes significatifs, indiquant ainsi l'effet des différents solvants d'extraction sur les activités biologiques évaluées et la composition chimique en métabolites secondaires.

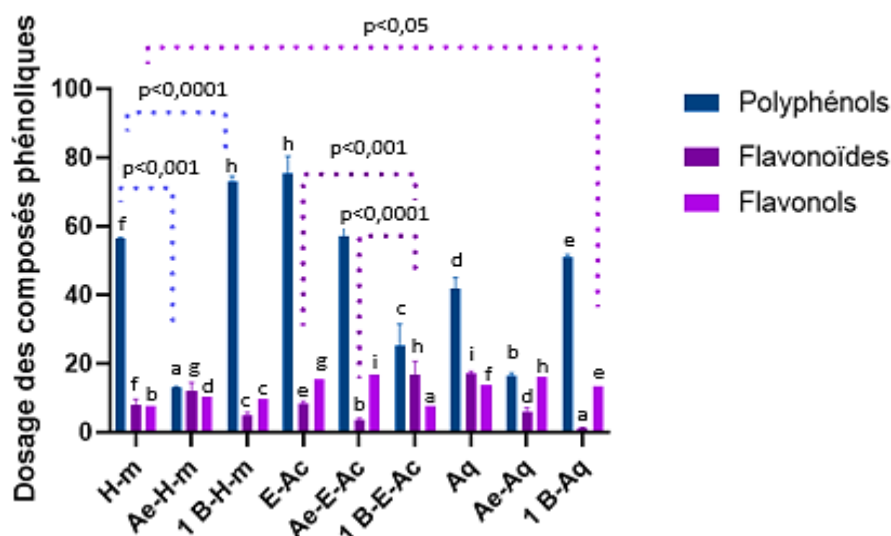
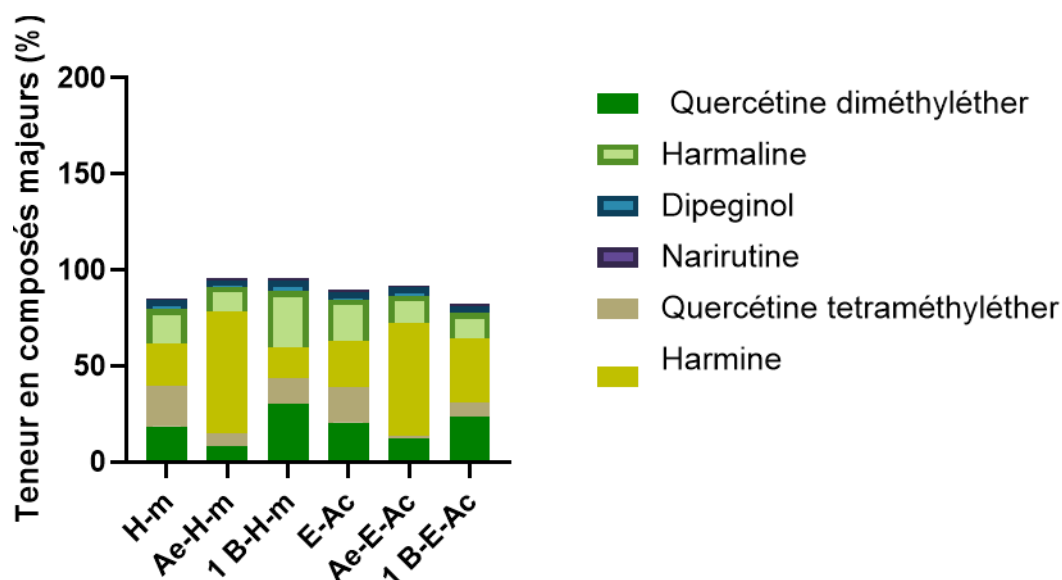


Figure n°36 : Taux des polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des flavonols dans les extraits de graines de *P. harmala*.

A propos de dosages des métabolites secondaires : Polyphénols, flavonoïdes et flavonols, une variance significative du test ANOVA à 2 voies a été observée ($p < 0,0001$) entre les différents extraits, leurs fractions, et leurs différents types de dosages incluant les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les flavonols (**Figure n°36**). Ces résultats obtenus indiquent que les échantillons sont extrêmement différents, et que notre plante *P. harmala* présente des teneurs variables en composés chimiques préalablement dosés.

Le test de Sidak a montré que la source de cette variance significative a été principalement trouvée entre les paires de groupes suivants : Hm vis-à-vis Ae-Hm ; Hm vis-à-vis 1 B-Hm ; Hm vis-à-vis E-Ac, particulièrement pour le dosage des polyphénols totaux. En conséquence, nous avons indiqué que les solvants utilisés pour l'extraction pouvaient influencer les extraits et leurs fractions en termes de composition chimique.



Les extraits bruts et les fractions Ae et 1 B

Figure n°37 : Taux en pourcentage de la quercétine diméthyl éther, quercétine tetraméthyl éther, la narirutine, l'harmine, l'harmaline et le dipeginol dans les extraits bruts de graines de *P. harmala* et leurs fractions Ae et 1-B.

Le test ANOVA à une voie a montré une variance significative ($p < 0,0001$) entre les différents composés bioactifs dans les extraits bruts et leurs fractions Ae et le 1-B (**Figure n°37**). Par conséquent nous avons suggéré que nos extraits de *P. harmala* est différents en composition chimique des alcaloïdes et des flavonoïdes. Une analyse en composante principale est nécessaire à réaliser pour mieux déterminer le composé qui contribue le plus à cette variance.

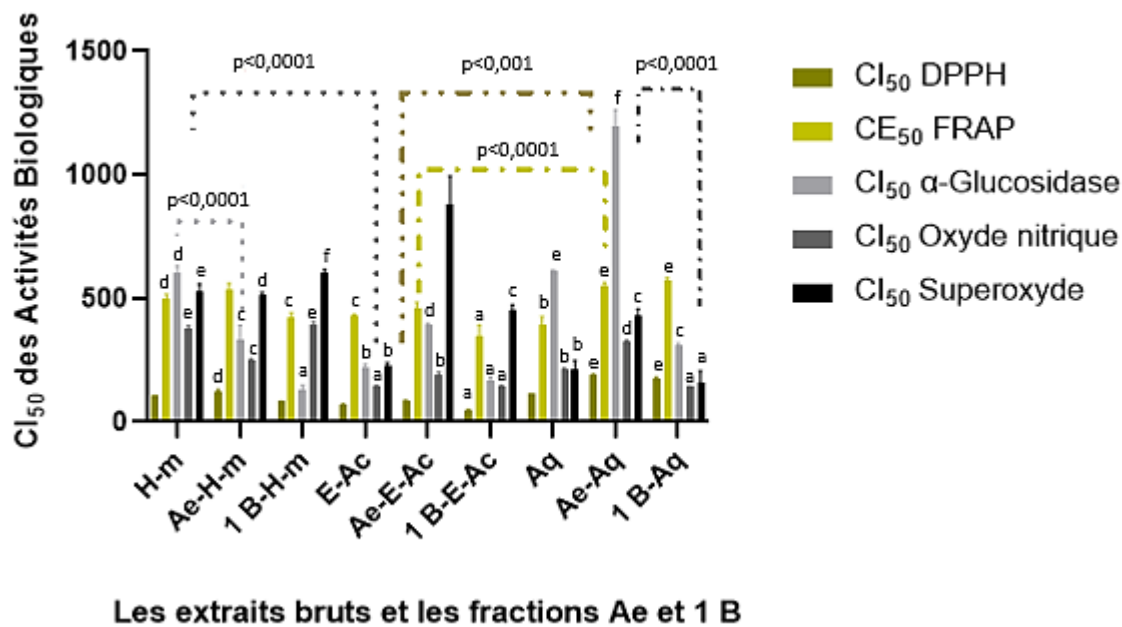


Figure n°38.A : CI₅₀ des activités inhibitrices incluant DPPH, FRAP, l'α-Glucosidase, l'oxyde nitrique et le superoxyde.

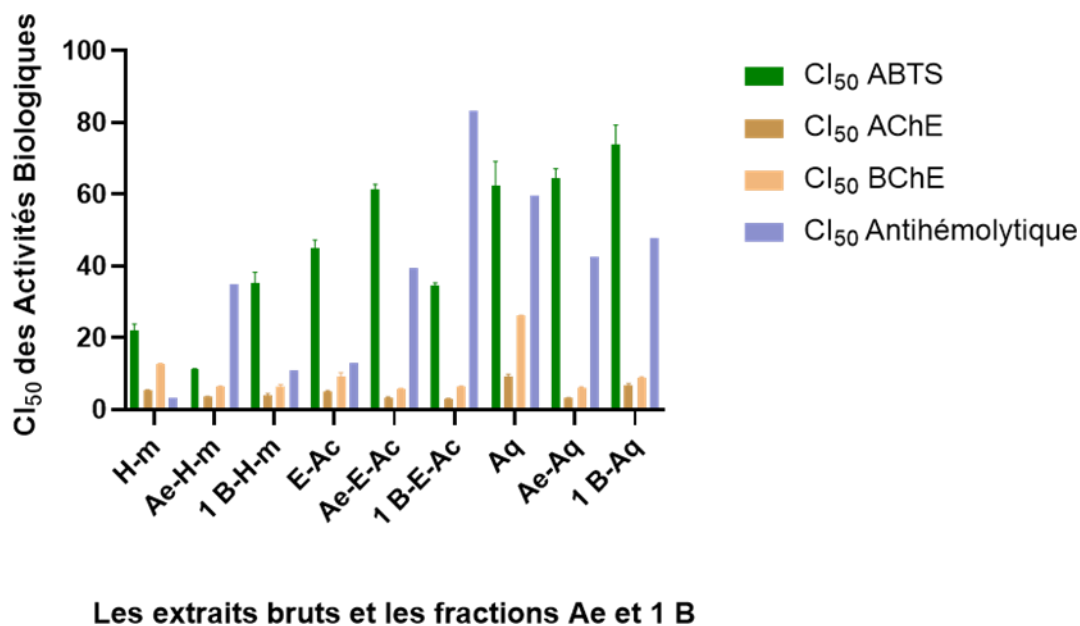


Figure n°38.B : CI₅₀ des activités inhibitrices incluant l'ABTS, AChE, BChE, et l'antihémolytique.

Concernant les CI_{50} des activités inhibitrices, une variance significative du test ANOVA à 2 voies a été observée ($p < 0,0001$) entre les différents extraits et les différents tests d'évaluation de l'activité antioxydante, comprennent le DPPH, FRAP, Oxyde nitrique et le superoxyde (**Figure n°38.A**). Ces résultats obtenus, ont montré que l'extraction solide-liquide, l'extraction liquide-liquide, et les solvants utilisés avaient un impact sur certaines activités biologiques, notamment les extraits obtenus avec l'Ae vs 1B ($p < 0,0001$). De plus, nous avons remarqué que, le FRAP, l'inhibition de l'anion superoxyde et de l'oxyde nitrique ont enregistré des variances significatives, malgré que, leurs valeurs CI_{50} ont été supérieures à celles marqués pour l'activité antioxydante la plus élevée de DPPH. Cependant, les extraits n'ont pas montré de différences significatives dans les inhibitions de l'ABTS, l'ACHé et le BChE, et l'activité antihémolytique (**Figure n°38.B**).

Quant à l'inhibition de l' α -Glc, le test de la multiple comparaison de Tukey a révélé des différences significatives entre les extraits testés ($p < 0,0001$), par rapport les autres inhibitions enzymatiques, les fractions 1B ($p < 0,0001$) ont enregistré les meilleurs résultats, montrant des valeurs CI_{50} 2 à 4 fois inférieures à celles des fractions d'Ae et les extraits bruts, respectivement, les fractions 1B semblaient contenir plus de métabolites bioactifs. Dans ce contexte, nous avons proposé que le 1-butanol pourrait être le meilleur solvant pour obtenir des fractions bioactives à potentiel inhibiteur contre l'activité de l' α -Glc.

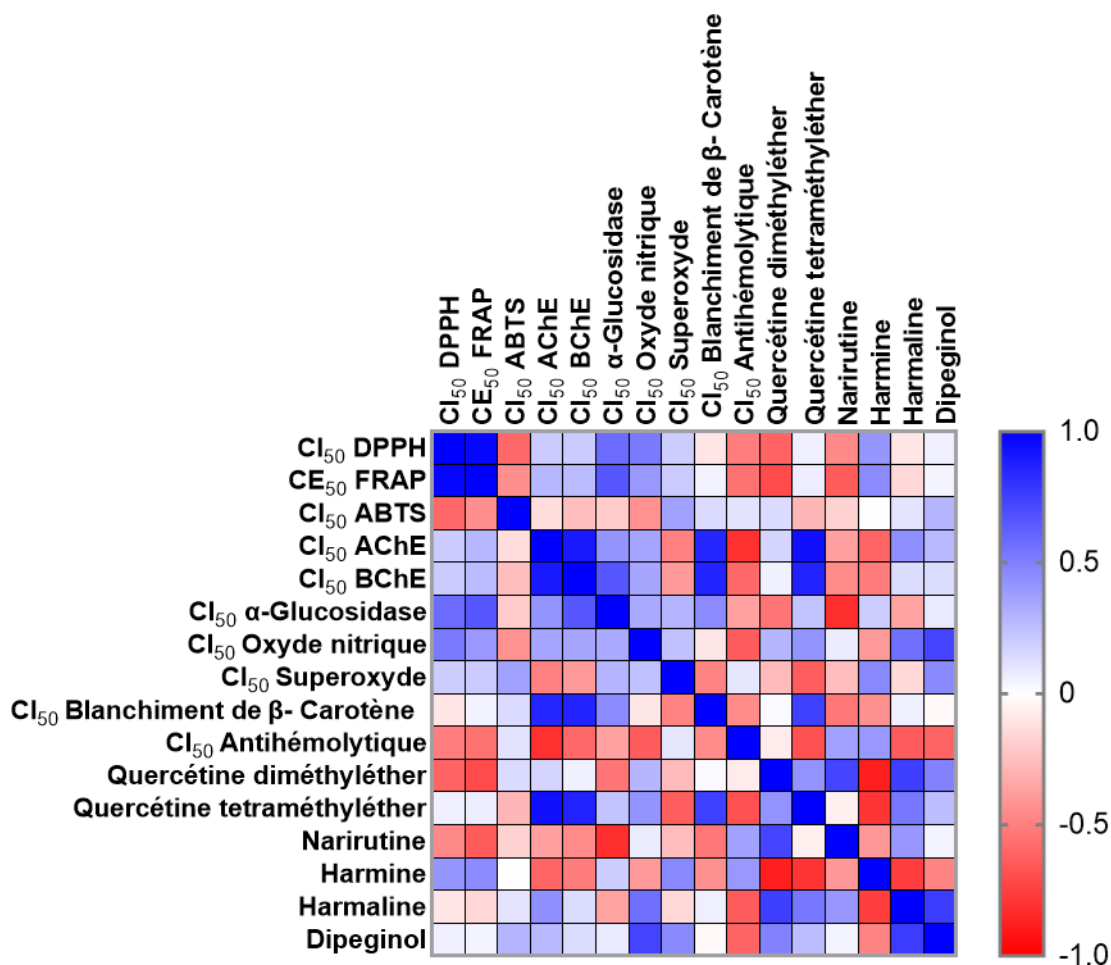


Figure n°39 .A : Matrice de corrélation entre les variables mesurées, les activités biologiques (CI₅₀) et les principaux composés phytochimiques.

En ce qui concerne la matrice de corrélation, le test de Shapiro-Wilk a été effectué et les échantillons ont passé le test de normalité. Ensuite, la corrélation entre les variables mesurées a été analysée par la corrélation de Pearson (**Figure n°39.A**). Dans cette partie d'analyse statistique, trois points ont été déterminés pour l'impact des solvants utilisés pour différents extraits sur les activités biologiques et leur composition chimique. Premièrement, la corrélation a été étudiée entre les valeurs CI₅₀ des activités biologiques afin de révéler les activités synergiques et antagonistes qui pourraient avoir lieu en même temps. Ensuite, la corrélation a été étudiée entre les composés majeurs, dont la quercétine diméthyléther, la quercétine tetraméthyléther, la narirutine, l'harmaline, l'harmine, et le dipeginol afin de confirmer l'effet des différents solvants sur les teneurs en composés chimiques. Enfin, une corrélation a été établie entre les valeurs CI₅₀ des activités biologiques et les composés qui pourraient être liés les uns aux autres ; plus la quantité de composés adéquats augmente, plus la valeur CI₅₀ diminue et plus l'activité biologique est élevée.

En haut à gauche de la carte thermique, nous avons observé un groupe bleu dans lequel les valeurs CI_{50} de DPPH et de FRAP étaient plus proches les unes des autres avec des valeurs r de Pearson élevées, ce qui pourrait indiquer que les variables sont positives et fortement corrélées entre elles. Par conséquent, les extraits utilisés peuvent exercer le même mécanisme d'action contre l'inhibition du DPPH et le FRAP.

En outre, en milieu à gauche de la carte thermique, nous avons également remarqué la présence d'un autre groupe bleu dans lequel les valeurs CI_{50} de l'AChE, BChE, l' α -Glc et l'oxyde nitrique étaient regroupés et plus proches les unes des autres avec des valeurs r de Pearson plus au moins intéressantes. Dans l'ensemble, cela pourrait indiquer que les variables sont positives et plus au moins corrélées entre elles, de plus, les valeurs CI_{50} de l' α -Glc et l'oxyde nitrique ont été modérément corrélées au DPPH et au pouvoir réducteur du fer. De plus, les valeurs CI_{50} de Blanchiment de β -carotène ont été également positivement corrélées aux inhibitions enzymatiques de l'AChE, BChE, et de l' α -Glc. Dans ce contexte, nos extraits pourraient être multifonctionnel vis à vis les différentes activités biologiques évaluées.

Par ailleurs, les valeurs CI_{50} de l'ABTS ont été négatives et fortement corrélées aux valeurs CI_{50} du DPPH et de la FRAP, de plus, les valeurs CI_{50} de l'activité antihémolytique ont été négatives et fortement corrélées aux valeurs CI_{50} du DPPH, FRAP, l'AChE, BChE, et l'oxyde nitrique, et ont été négatives et modérément corrélées au Blanchiment de β -carotène et à l' α -Glc. Ces résultats pourraient indiquer la présence des composés bioactifs dans nos extraits et qui, à forte concentration pourraient exercer un effet antagoniste sur les différentes activités biologiques.

Les teneurs en quercétine diméthyléther, en quercétine tetraméthyléther, en narirutine et en harmaline, composés bioactifs essentiels dans les extraits de *P. harmala*, se sont révélées positives et significativement corrélées entre elles. De plus, la teneur en dipeginol a été également positivement corrélée au taux d'harmaline. En revanche, elles sont négativement et fortement corrélées au taux d'harmine. Ces corrélations pourraient confirmer la richesse de notre plante en composés bioactifs, essentiellement identifier à différents pourcentages dans les extraits bruts et leurs fractions Ae et 1 B par l'analyse UHPLC-DAD-ESI-MS, ainsi, de révéler l'impact des solvants utilisés sur cette composition chimique. Par conséquent, nous avons proposé que ces contenus bioactifs des extraits de graines de *P. harmala* pourrait être

multifonctionnels et pourrait contribuer aux activités biologiques y compris le pouvoir antioxydant, antidiabétique, et anti-Alzheimer.

Dans cette étude, nous avons remarqué que certains flavonoïdes et alcaloïdes ont été négativement corrélés aux activités antioxydantes. D'abord l'activité de piégeage du radical DPPH et la réduction de fer ont été approuvées négativement corrélées à la quercétine diméthyléther, la narirutine et l'harmaline. Cependant, la neutralisation de l'ABTS a été trouvée négativement corrélée uniquement à la quercétine tetraméthyléther, de plus, le piégeage de l'oxyde nitrique a été corrélé négativement à l'harmine, seulement. De l'autre part, l'activité de blanchiment de β -carotène a été négativement corrélée à la narirutine et l'harmine. Concernant l'activité antihémolytique, nous avons constaté que la quercétine tetraméthyléther, l'harmaline et le dipeginol ont été significativement et négativement corrélés à la neutralisation des radicaux libres issus de l'AAPH, qui induit l'hémolyse des érythrocytes. Dans ce contexte, nous avons suggéré que les flavonoïdes et les alcaloïdes pourraient exercer un effet synergique vis-à-vis les activités antioxydantes. En outre, nous avons remarqué pour l'inhibition enzymatique que, la narirutine, la quercétine diméthyléther et l'harmaline ont été négativement corrélés à l'inhibition de l' α -Glc, de plus, l'harmine et la narirutine ont été négativement corrélés à l'inhibition de l'AChE et la BChE. Par suite, nous avons indiqué que le rôle multifonctionnel de la narirutine dans nos extraits pourrait être à l'origine de la corrélation positive entre les activités biologiques de l' α -Glc, l'AChE et la BChE, le DPPH et à la réduction du fer.

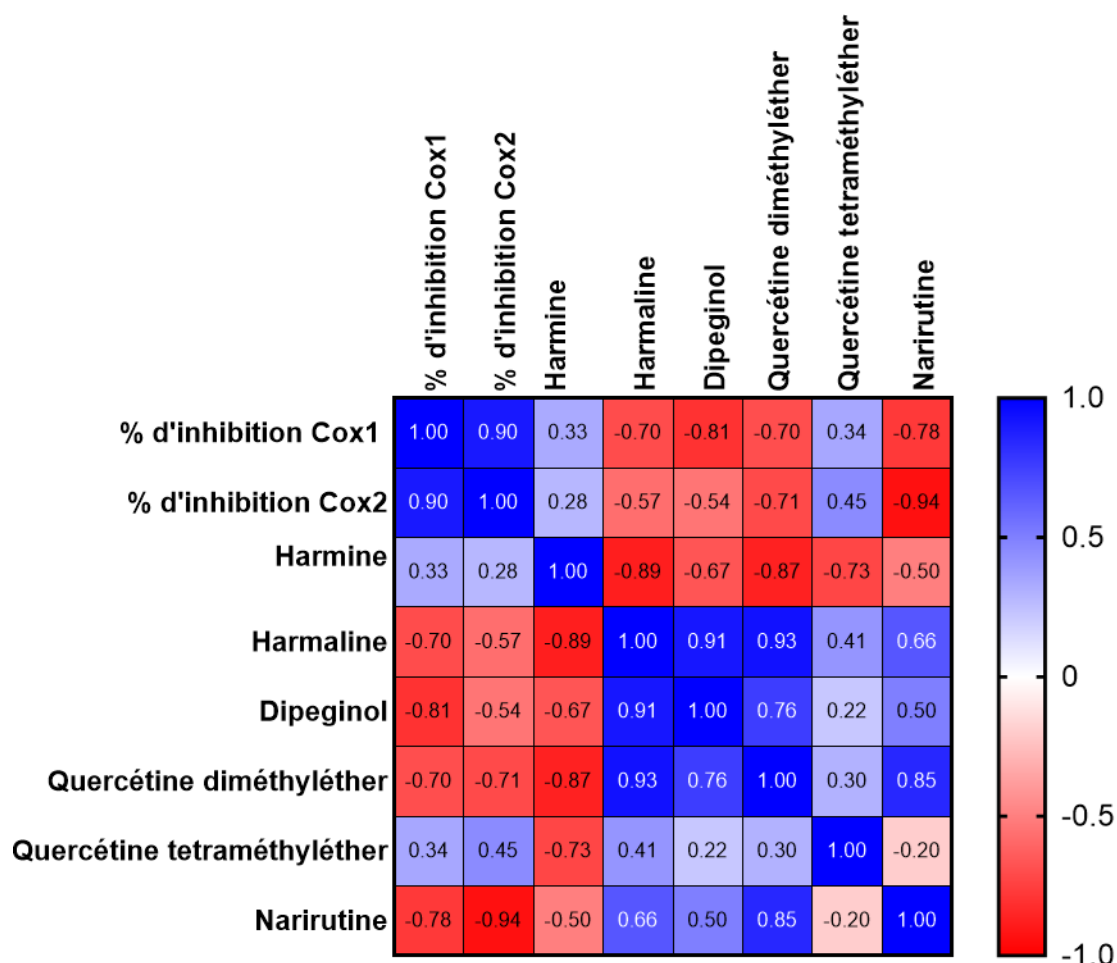


Figure n°39.B : Matrice de corrélation entre les variables mesurées, les inhibitions des Cox 1 et Cox 2 (%) et les principaux composés.

Concernant l'inhibition des cyclooxygénase type 1 et type 2, les résultats de corrélation de la (Figure n°39.B) ; a montré que, le dipeginol, la narirutine, la quercétine diméthyléther et l'harmaline ont été significativement et négativement corrélés à l'inhibition de Cox 1, également pour la Cox 2 qui était significativement et négativement corrélée à la narirutine, et la quercétine diméthyléther, tandis que, le dipeginol et l'harmaline ont été modérément et négativement corrélés à l'inhibition de Cox 2. En conséquence, nous avons conclu que l'inhibition puissante de ces enzymes est principalement due à l'effet synergique entre les flavonoïdes et les alcaloïdes présents dans les extraits de *P. harmala*.

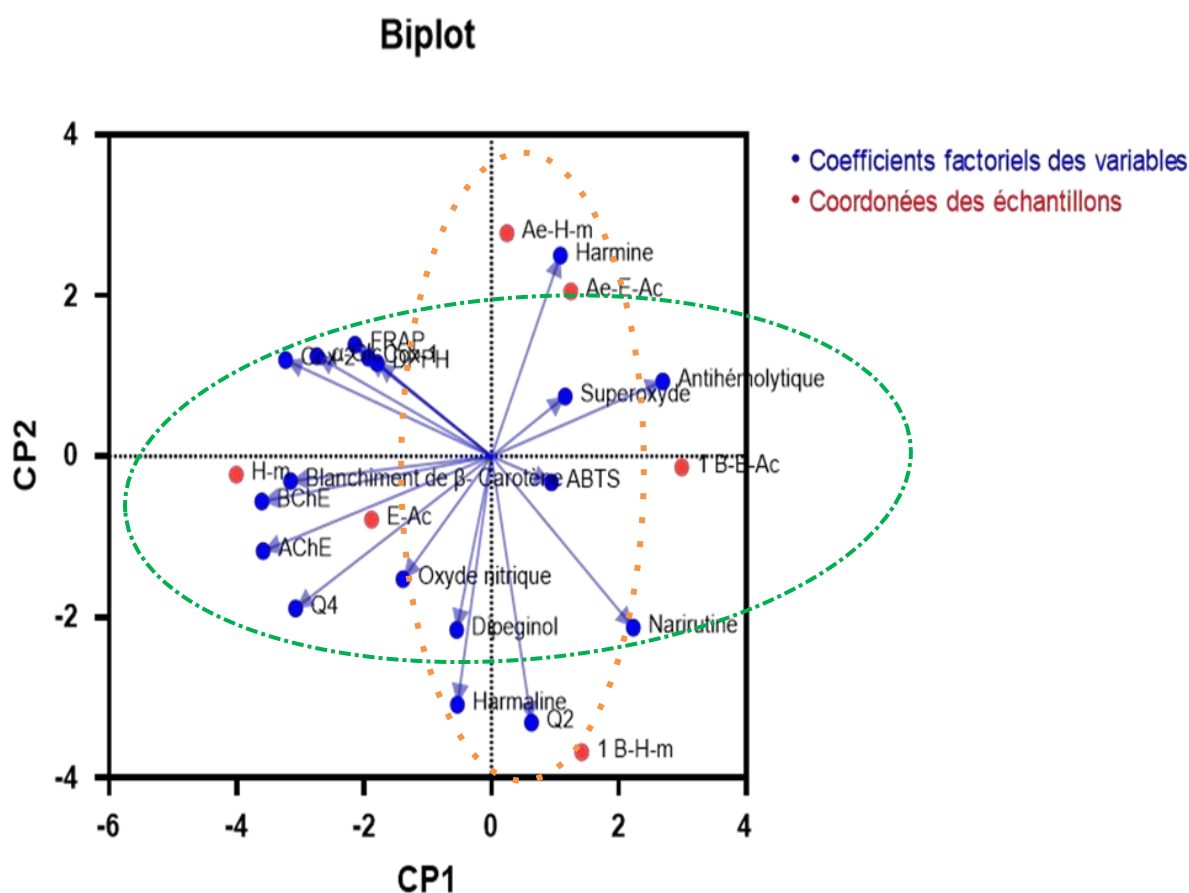


Figure n°40 : Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) des données multidimensionnelles des différents extraits de graines de *P. harmala*.

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée afin de réduire la structure multidimensionnelle des données et de produire une carte bidimensionnelle qui expliquerait la variation observée (**Figure n°40**). Premièrement, la normalisation des variables a été réalisée à l'aide de la normalisation du score z, où chaque variable a été mise à l'échelle par son écart-type et centrée en soustrayant sa moyenne. Les composantes principales (CP) ont été sélectionnées sur la base des valeurs propres.

D'après les résultats obtenus, quatre (CP) ont été sélectionnés par cette analyse, à des pourcentages de 35,67% ; 29,05% ; 20,01% ; 10,88% ; pour la CP1, CP2, CP3 et la CP4, respectivement.

La figure de Biplot a montré la présence des groupes spécifiques, les vecteurs des activités biologiques, qui vont dans la même direction, ont été rapprochés l'un à côté de l'autre, ce qui indique une forte corrélation (+) y compris l' α -Glc, le piégeage de DPPH, de FRAP, et le

pourcentage d'inhibition de Cox-1 et Cox2. Cependant, la direction de vecteur qui a été représenté par la narirutine, a été dans le sens opposé, ce que signifie une forte corrélation négative. Par conséquent, ce composé bioactif pourrait être multifonctionnel et essentiellement contribuer aux différents effets antioxydant, antidiabétique et anti-inflammatoire en inhibant l'activité enzymatique de l' α -Glc, la Cox-1 et la Cox-2.

D'autre part, un autre groupe a été présenté dans cette figure regroupant les CI_{50} de l'AChE, la BChE et le blanchiment de β -Carotène, les vecteurs dans ce cas ont été plus au moins proches, et qui vont également dans la même direction, sont considérés corrélés négativement. Cependant, les points en couleur rouge (les coordonnées des échantillons), qui représentent les extraits bruts et leurs fractions, ont été plus proches des vecteurs, ce que signifie que l'activité la plus faible a été marqué par ces extraits dont l'extrait Hm et E-Ac.

Concernant les CI_{50} de l'activité antihémolytique et le piégeage du superoxyde, leurs vecteurs ont été plus proche et vont dans la même direction, ils sont également considérés corrélés positivement, tandis que, le vecteur de la Q4 (Quercétine tetraméthyléther) a été orienté vers le sens opposé, ce que signifie une forte corrélation négative. Dans ce contexte, la Q4 pourrait contribuer aux piégeages des radicaux libres issus de l'AAPH, ainsi que ceux de l'anion superoxyde.

En outre, nous avons remarqué que le vecteur de l'harmine est plus proche des fractions d'Ae-Hm et d'Ae-E-Ac, ce que signifie que ce composé bioactif a différencié les fractions d'acétate d'éthyle des fractions 1-B. En plus, plus le vecteur est long plus il pourrait contribuer à la variation dans la CP1 ou la CP2. Ensuite, quand il s'agit de la Q2 (Quercétine diméthyléther), l'harmaline et le dipeginol, leurs vecteurs ont été orientés vers le sens opposé, ce que signifie une corrélation négative à la teneur en harmine, en plus, la fraction de 1B-Hm a été plus proche du vecteur Q2, ce que signifie que cette fraction a été essentiellement caractérisée par la teneur élevée en Q2 en comparant avec les fractions d'Ae.

En conclusion, nous avons confirmé notre hypothèse concernant l'impact des différents solvants utilisés sur les extractions réalisées à partir des graines de *P. haramla* qui pourraient influencer la composition chimique en alcaloïdes et en flavonoïdes. Par conséquent, leurs effets vis-à-vis les activités biologiques pourraient être également influencés par les solvants d'extraction utilisés.

Discussion

A travers des décennies, les graines de *Peganum harmala* ont été largement utilisées en raison de leurs vertus bénéfiques pour traiter de nombreuses maladies (**El Rifaie et M. El-Saad, 1980**), (**Kaasik et al., 2021**). Son mode d'extraction traditionnel a fait l'objet d'intérêt pour la recherche scientifique en variant le solvant d'extraction. Considérant qu'aucun solvant n'a été utile pour extraire tous les métabolites secondaires en raison de leurs différences en solubilité et polarité (**Juan et Chou, 2010**).

Dans notre étude, en utilisant la décoction des graines de *Peganum harmala*, sous reflux pendant 2h, le rendement le plus élevé a été enregistré dans l'extrait Aqueux (11,4%). Ce résultat a été supérieur à celui trouvé par **Dehiri et al (2022)**, dans lesquels, le rendement d'extrait aqueux obtenu par le même mode d'extraction a été (10,62%). Cependant, notre rendement enregistré pour l'extrait Hydrométhanol a été inférieur à celui obtenu par macération (16,5%) au cours de l'étude de **Fathi et al (2006)**. Par ailleurs, le rendement calculé du macérat hydro-acétone (2,01%) préparé par **Benarous et al (2015)** a été plus faible que celui enregistré dans notre étude. En ce qui concerne les fractions préparées, les rendements les plus marqués ont été toujours obtenus par les fractions 1-Butanol par rapport aux fractions acétate d'éthyle notamment celles préparées à partir de l'extrait hydrométhanol. En outre, nos résultats ont été plus au moins similaires aux résultats des fractions préparées à partir du macérat hydrométhanol pour l'étude de **Farouk et al (2008)**, dont 6,7 % pour le 1 B et 1,8% pour l'Ae, respectivement.

Apostolico et al., (2016) a noté que le stade de développement de la plante est parmi les facteurs qui influencent le rendement et la composition des extraits. Une autre étude de **Radjah et al., (2019)** a enregistré des concentrations élevées en composés antioxydants tels que les acides phénoliques et la quercétine dans le stade végétatif en utilisant le solvant Eau- éthanol 70% par rapport au stade de floraison.

Dans l'étude phytochimique, le dosage quantitatif des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé des teneurs différentes dans les extraits. Au niveau des extraits bruts, l'extrait Eau-acétone a enregistré la teneur la plus élevée en polyphénols, ce résultat a été plus au moins similaire aux résultats déterminés par **Kanwal et al., (2016)** pour le macérat Eau- acétone (70,96 µg EAG/mg d'extrait). En ce qui concerne les flavonoïdes quantifiés par le trichlorure d'aluminium, les teneurs supérieures ont été essentiellement affichées dans l'extrait Aqueux. Ce résultat est plus au moins similaire aux résultats de **Sanhaji et al., (2022)** pour l'extrait Aqueux préparé par décoction à partir des graines.

En fonction de nos résultats, la fraction 1B-Hm a enregistré la concentration la plus élevée en polyphénols ($73,08 \pm 1,89 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait), suivie par la fraction 1B-E-Ac qui a révélé la concentration la plus élevée en flavonoïdes ($16,63 \pm 3,89 \mu\text{g E Cat/mg}$ d'extrait), respectivement. Ces teneurs restent significativement inférieurs à l'étude de **Marzoug et al., (2023)** qui a montré que la fraction acétate d'éthyle obtenue de l'extrait hydrométhanol a été plus riche en polyphénols ($237,23 \pm 1,06 \mu\text{g EAG/mg}$) et en flavonoïdes ($82,58 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg}$), respectivement.

Les teneurs en flavonols dans nos extraits sont nettement inférieures aux valeurs déterminées par **Dehiri et al., (2022)** dans l'extrait qui contient ($2,81 \pm 0,87 \mu\text{g EQ/mg}$) de flavanols. Cette valeur dépasse environ trois fois notre teneur en flavanol dans la fraction Ae-E-Ac ($16,72 \pm 0,016 \mu\text{g EQ/mg}$).

Selon **Chandrasekara et al., (2016)**, il a été montré que la méthode d'extraction et les systèmes de solvants utilisés ont un impact sur l'extraction des composés phénoliques. En effet, l'étude de **Liu et al., (2022)** a rapporté que les solvants organiques peuvent influencer la concentration des flavonoïdes par l'ionisation, l'hydrolyse et l'oxydation des composés au cours du processus d'extraction. De même, **Zuorro et al., (2019)** a montré que plusieurs facteurs peuvent affecter la concentration des polyphénols et des flavonoïdes totaux, tels que la solubilité du matériel végétal dans le solvant, et l'affinité des composés phénoliques pour le solvant d'extraction, de plus, la solubilité des polyphénols est liée à leur degré d'hydroxylation, leur poids moléculaire et de leur structure carbonée. D'autre part, il a été suggéré d'utiliser une combinaison de solvants organiques avec l'eau distillée pour mieux extraire et isoler les polyphénols (**Mohammedi et al., 2011**).

L'analyse phytochimique de notre plante *Peganum harmala* a révélée la présence des composés phytochimiques en pourcentages variables, notamment les flavonoïdes et les alcaloïdes, y compris la quercétine diméthylether, la quercétine tetraméthylether, l'harmine, l'harmaline et le dipeginol.

L'étude de **Naimi et al. (2022)** a rapporté que le 3-O-Methylquercetine isomer 1 a été le composé phénolique majeur (25,14%) de l'extrait méthanolique des graines de *P. harmala*. Ces résultats sont significativement importants que notre étude, l'extrait brut Hydrométhanol a renfermé (18,52%) de la quercétine dimethyl ether. En outre, l'étude de **Lorenzo et al., (2020)** a montré la présence de la quercétine méthylether isomer 1 dans l'extrait éthanolique

des feuilles de *L. cuneifolia* qui appartient à la famille de Zygophyllaceae. Nous avons conclu que ces résultats approuvent la présence des dérivés méthylés la quercétine dans les extraits de graines de *P. harmala*.

Alara et al. (2021) ont montré que les niveaux de conjugaison et le nombre des groupements hydroxyles des polyphénols ont été importants pour leurs solubilités. De plus, l'étude de **Mateos et al. (2015)** a rapporté que la présence de deux groupements méthyl au niveau des composés phénoliques augmente leur lipophilie. De ce fait, on constate que la différence de la composition chimique de nos extraits en acides phénoliques et en flavonoïdes est probablement liée à la différence en polarité des solvants d'extraction utilisés.

Dans la bibliographie, l'étude de **Brobst et al. (2009)** a rapporté que l'acétate d'éthyle a été le meilleur solvant pour l'extraction des alcaloïdes de *P. harmala*. De plus, l'étude de **Elgubbi et al. (2016)** a montré que l'harmine a été l'alcaloïde le plus abondant dans la fraction d'acétate d'éthyle de graines de *P. harmala*. Ces résultats sont en accord avec notre étude, par conséquent, nous avons suggéré que la variété en composition chimique en alcaloïdes et polyphénols des extraits de graines de *P. harmala* est essentiellement lié aux différents solvants et processus d'extraction utilisés.

Plusieurs études ont en valeur le potentiel antioxydant des extraits de graines de *P. harmala* en neutralisant les radicaux libres. Dans le test de piégeage du radical DPPH, la fraction 1B-E-Ac a révélé la valeur de CI_{50} la plus faible $49,36 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$ suivie par l'extrait brut Eau-acétone $71,48 \pm 0,008 \mu\text{g/mL}$, ces résultats sont intéressants par rapport aux résultats de **AI. Adewale et al., (2021)** qui ont déterminé une CI_{50} de $179 \pm 7,32 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait éthanol des graines. Cependant, **Abbas et al. (2021)**, ont montré que l'extrait Hydrométhanolique (70%) des graines a enregistré une valeur de CI_{50} égale à $69 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$ qui est comparable à la valeur déterminée pour notre extrait Eau-acétone. De l'autre part, l'étude de **Merzoug et al., (2023)** a révélé que les fractions AE et 1-B de l'extrait hydrométhanolique (80%) des graines de *P. harmala* ont enregistré des valeurs de CI_{50} relativement élevées et qui sont de l'ordre de $92,02 \pm 1,30$ et $108,36 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

En ce qui concerne le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP), la fraction 1B-E-Ac a révélé le meilleur effet et enregistré une valeur de CE_{50} de $326,55 \pm 0,024 \mu\text{g/mL}$ suivie par l'extrait brut Aqueux $396,48 \pm 0,033 \mu\text{g/mL}$. Nos résultats restent meilleurs que les résultats

notés par **Dehiri et al., (2022)** qui ont définis des valeurs de CE_{50} supérieures à $800\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait éthanolique et aqueux des graines de *P. harmala* Contrairement à l'étude de **Merzoug et al., (2023)**, qui a souligné pour les extraits bruts et les fractions AE et le 1-B des valeurs de CE_{50} importantes et inférieures à celles enregistrées dans notre étude, moins de $187\mu\text{g/mL}$.

L'activité antioxydante a été ainsi évaluée par mesure de piégeage du radical ABTS. Nous avons constaté que les extraits de *P. harmala* ont puissamment neutralisé ce radical notamment la fraction Ae-Hm qui a enregistré la valeur de CI_{50} la plus faible à $11,19\pm 0,046\mu\text{g/mL}$, suivie par les extraits Hydrométhanol et Eau-acétone qui ont affiché $22,153\pm 0,020\mu\text{g/mL}$ et $44,97\pm 0,073\mu\text{g/mL}$, respectivement. En effet, dans l'étude de **Benarous et al., (2015)** les extraits bruts MeOH et EtOH de graines de *P. harmala* ont assuré une activité antiradicalaire contre le radical ABTS, intéressante et plus au moins similaire à celle enregistrée dans notre travail, dont les valeurs de CI_{50} sont de l'ordre de $44,63\pm 1,08$ et $20,36\pm 2,04\mu\text{g/mL}$, respectivement. Cependant, l'étude de **Kaya et Akbas (2023)** a montré une activité de piégeage du radical ABTS moyennement faible par rapport à nos résultats dans les extraits bruts aqueux, méthanolique et éthanolique des graines avec des valeurs de $58,81\pm 0,24$, $64,83\pm 0,56$ et $72,06\pm 0,80\mu\text{g/mL}$, respectivement.

Concernant la méthode de blanchiment de β -Carotène, les résultats obtenus ont montré que les fractions 1B-E-Ac et Ae-E-Ac ont fortement empêché le blanchiment du β -Carotène en neutralisant les radicaux libres générés par l'acide linoléique, dont les valeurs de CI_{50} sont l'ordre de $47,40\pm 0,054$ et $72,85\pm 0,013\mu\text{g/mL}$, respectivement, contrairement à l'extrait aqueux, qui a faiblement limité le blanchiment de β -Carotène avec une valeur élevée de CI_{50} égale à $259,84\pm 0,008\mu\text{g/mL}$. L'étude de **Elansry et al., (2020)** a révélé que l'extrait méthanolique des feuilles de *P. harmala* préparé par sonification pendant 30 min, a fortement inhibé le blanchiment de β -Carotène avec une valeur de CI_{50} de $26,8\pm 2,9\mu\text{g/mL}$. Nous avons constaté que ce résultat est plus significatif que celui enregistré par notre étude dont la valeur de CI_{50} d'extrait hydrométhanolique égale à $241,45\pm 0,008\mu\text{g/mL}$. D'autre part, l'étude de **Kamran et al., (2024)** a prouvé que les extraits des feuilles macérées de *P. harmala* dans différents solvants organiques acétone, éthanol, chloroforme et n-hexane, ont mieux empêché le blanchiment de β -Carotène par rapport à l'extrait aqueux, avec des valeurs de CI_{50} variables entre $218,45\pm 3,02$ et $523,50\pm 4,98\mu\text{g/mL}$. Ces résultats sont comparables à ceux enregistrés dans notre étude.

En ce qui concerne le piégeage du radical libre de l'oxyde nitrique généré par le nitroprusside, la fraction 1B-Aq et l'extrait brut Eau-acétone ont significativement neutralisé ce radical libre par rapport aux autres extraits de graines de *P. harmala*, dont les valeurs de CI_{50} enregistrés sont de l'ordre de $143,04 \pm 0,012$ et $145,22 \pm 0,071$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. D'autre part, nous avons ainsi évalué le piégeage de radical libre de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) généré à l'aide du système non enzymatique phénazine méthosulfate-nicotinamide adénine dinucléotide (PMS/NADH). Les résultats obtenus ont révélés que la fraction 1B-Aq et l'extrait Eau-acétone ont essentiellement réduit ce radical libre, avec des valeurs de CI_{50} intéressantes, $188,52 \pm 0,019$ et $223,61 \pm 0,025$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Dans la bibliographie, aucune étude n'a été réalisée sur l'effet antiradicalaire de *P. harmala* contre l'oxyde nitrique et l'anion superoxyde.

Au cours de cette étude nous avons également évalué l'effet protecteur des extraits sur l'hémolyse induite par l'AAPH ; générateur des radicaux peroxyde, dans les érythrocytes humains. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits préparés et leurs fractions ont fortement protégé les érythrocytes contre l'hémolyse provoquée par les radicaux libres, essentiellement l'extrait brut hydrométhanolique et sa fraction 1-B, avec des valeurs de CI_{50} très faibles $3,188 \pm 0,127$ et $11,023 \pm 0,027$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement, cet effet a été puissant par rapport à celui de l'acide ascorbique. Ces résultats sont en accord avec une étude récente réalisée par **Djarmouni et al., (2024)**, qui ont évalué l'effet de l'extrait brut méthanolique et la fraction acétate d'éthyle des graines de *P. harmala* pour la même activité, il a été rapporté que l'extrait brut a inhibé l'hémolyse des érythrocytes à 100 $\mu\text{g/mL}$ avec un pourcentage égal à 56 %, suivi par la fraction acétate d'éthyle.

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antidiabétique de *P. harmala* en mesurant l'effet inhibiteur des enzymes α -amylase et α -glucosidase par les extraits de graines. Concernant l'activité enzymatique de l' α -amylase, aucun effet n'a été enregistré par nos extraits. Cependant, ces derniers ont enregistré une inhibition importante contre l' α - glucosidase, notamment les fractions 1B-Hm et 1B-E-Ac suivies par l'extrait brut Eau- acétone, dont les valeurs de CI_{50} ont été dans l'ordre suivant $141,18 > 164,06 > 207,9$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Nous avons constaté que ces extraits ont exercé un effet inhibiteur plus efficace que celui déterminé par l'acarbose, dont la valeur de CI_{50} égale à $203,41 \pm 1,07$ $\mu\text{g/mL}$. Nos résultats sont en désaccord avec l'étude de **Hellal et al., (2020)**, qui ont montré que les extraits de graines de *P. harmala* macérés dans différents pourcentages de l'éthanol, soumis à une extraction par sonication pendant 1 h, n'ont révélés aucun effet inhibiteur de l'activité de l' α -glucosidase.

Dans notre étude, nous avons ainsi évalué l'activité anti-alzheimer en déterminant l'effet inhibiteur des enzymes acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase par les extraits de graines *P. harmala*. Nous avons obtenu des résultats intéressants pour tous les extraits contre les deux types d'enzymes, essentiellement les fractions 1-B et Ae, dont les valeurs de CI_{50} varient entre 3,07 $\mu\text{g/mL}$ (1B-E-Ac) et 3,96 $\mu\text{g/mL}$ (1B-Hm). Ces résultats sont inférieurs aux résultats enregistrés par l'étude de **Adhami et al., (2011)** sur l'effet de l'extrait méthanolique des graines de *P. harmala*, qui présente une valeur de CI_{50} 41,2 $\mu\text{g/mL}$ de l'AChE Tandis que, l'étude de **Merzoug et al., (2023)** a montré que la fraction chloroforme de l'extrait hydrométhanol des graines de *P. harmala* a significativement inhibé l'activité de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase avec des valeurs de CI_{50} égale à 14,69 \pm 0,10 et 7,36 \pm 0,77 $\mu\text{g/mL}$, respectivement ; tandis que les fractions 1-B et Ae, ont enregistré des valeurs de CI_{50} aux moyennes de 86,08 $\mu\text{g/mL}$ pour l'inhibition de l'AChE et de 14,87 $\mu\text{g/mL}$ pour l'inhibition de la BChE. Ces résultats restent moins importants aux résultats enregistrés dans notre étude.

A propos de l'activité anti-inflammatoire de *P. harmala*, l'ensemble des extraits ont révélé un effet inhibiteur des enzymes cyclooxygénases de type 1 et type 2, essentiellement l'extrait brut Hm, qui a atteint 93,94 % d'inhibition de Cox 2 et l'extrait brut Aqueux qui arrive à 91,53 % contre Cox-1. Tandis que, la fraction 1B-Hm a enregistré le pourcentage d'inhibition le plus bas contre Cox-1 (65,61%) et Cox-2 (58,79%), respectivement. En effet, l'étude de **Kular et al., (2015)** a noté que l'extrait acétate d'éthyle de graines de *P. harmala* a significativement contribué à une activité anti-inflammatoire, en inhibant l'activité de Cox 2 (70,34 %) sur les modèles d'œdème de la patte de rat induit par la carragénine, suivi par l'extrait éthanolique (64,38%). Dans notre étude, les fractions acétate d'éthyle ont inhibé les Cox à des pourcentages qui varient entre 60,29% et 81,19%.

Plusieurs études récentes ont rapporté que les polyphénols et les alcaloïdes par leur le potentiel antioxydant pouvant remplacer les antioxydants chimiques dans les préparations de l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique (**Acimovic et al., 2020 ; Hügel et al., 2021**). En effet, le rôle antioxydant de ces composés bioactifs a été primordialement lié à la présence des groupements hydroxyles au niveau leurs structures chimiques en particulier les polyphénols, qui assurent le piégeage des radicaux libres en tant que donneur d'hydrogène, et agents réducteurs ou chélateurs du fer (**Dae Ok et Yong, 2004**).

Les résultats de l'identification chimique par UHPLC-MS des fractions 1B-E-Ac et 1B-Hm ont révélé la richesse de ces extraits en flavonoïdes méthylés y compris la quercétine diméthylether, la quercétine tetraméthylether, suivi par les alcaloïdes β -Carbolines dont l'harmaline, l'harmine, le dipeginol, et les acides phénoliques. Cette composition chimique des extraits diversifiée pourra essentiellement contribuer à l'effet antioxydant des extraits de *P. harmala*.

En effet, il a été montré que l'extrait des alcaloïdes des graines de *P. harmala* a neutralisé le radical libre DPPH et enregistré une valeur de CI_{50} égale à 118,96 $\mu\text{g/mL}$ (**Derouiche et al., 2023**). Cet effet reste inférieur à l'effet de nos extraits, ce qui nous permet de suggérer un effet synergique entre les composés phénoliques et les alcaloïdes contenant nos extraits et ce qui augmente leurs potentiel antioxydant.

Dans la littérature des études ont montré que la présence des groupements fonctionnels n'est pas suffisante pour le piégeage du radical ABTS, divers facteurs pourraient être impliqués, tels que l'arrangement d'hydroxylation (**Evans et al., 1995**). De plus, il a été montré que l'activité de la quercétine semble être en fonction de la molécule dans son ensemble, et ne peut être considérée comme une propriété additive des hydroxyles actifs, bien que la méthylation sur certains sites de ce métabolite puisse détruire le radical libre (**Letan et al., 1996**). En plus, l'étude de **Herrais et Galisteo (2004)** a rapporté que le piégeage de l'ABTS a été principalement additif lorsque les polyphénols ont été testés en combinaison avec le groupe indoles des alcaloïdes β -Carbolines. De plus, une étude a montré que les substituants chimiques ; carboxyméthyle ($-\text{CH}_2\text{COOH}$) et l'acryloyle ($-\text{CH}=\text{CHCOOH}$), de certains acides phénoliques tels que l'acide caféique neutralise les radicaux libres du DPPH et réduisent le fer ferrique en fer ferreux, par un transfert d'électron de ses groupements fonctionnels. Parallèlement, cet acide phénolique a été identifié dans nos extraits, notamment dans la fraction brut 1B-Hm qui a significativement neutralisé le radical DPPH. En outre, le type et le comportement des antioxydants pourraient également conduire à la formation d'adduits avec le radical ABTS ou pourraient subir une oxydation sans couplage avec le radical ABTS (**Herrais et al., 2004 ; Ilyasov et al., 2020**). De plus, il a été rapporté que la présence d'un groupement méthoxy ($-\text{OCH}_3$) peut également renforcer l'activité antiradicalaire des acides phénoliques, tandis que la quercétine tetraméthyl s'est révélée complètement inactive par rapport à la quercétine diméthyl, présente une activité antiradicalaire (**Chen et al. 2020**).

Ainsi dans nos extraits, la neutralisation de ce radical a été intéressante soit dans ceux qui ont présenté un taux élevé en composés phénoliques ou en alcaloïdes, ou bien les deux métabolites en quantités identiques. De ce fait, les effets synergiques de différents composés phénoliques et non-phénoliques, dans un même extrait, sur la réaction antioxydante doivent être prise en compte (**Akhtar et al., 2022**).

Concernant le blanchiment de β -Carotène, il a été noté que la couleur du β -carotène provient de son vaste système de doubles liaisons conjuguées qui absorbent la lumière dans le domaine visible. Lorsque le β -Carotène est oxydé et que son système conjugué est perturbé, il perd sa capacité à absorber la lumière de la même manière. Il en résulte une perte de la couleur orange caractéristique de la solution de β -Carotène (**Benchikh et al., 2018**). Cependant, dans notre étude les extraits de graines de *P. harmala* ont inhibé de manière significative le blanchiment du β -Carotène, notamment les fractions 1-B de l'extrait Eau- acétone et Aqueux. Il a été primordiallement rapporté que la richesse d'un extrait en antioxydant phénolique peut prolonger la dégradation du β -carotène en neutralisant le radical libre linoléate par le potentiel d'oxydoréduction et tout autre radical libre formé dans le système (**Amarowicz et al., 2004**). De plus, il a été enregistré par **Costa et al., (2021)** que la capacité des phénols à céder des atomes d'hydrogène dépend fortement de la nature et de la position des substituants dans le cycle aromatique des polyphénols. Les substituants donneurs d'électrons en position ortho- et/ou para- du groupe -OH diminuent l'enthalpie de dissociation de la liaison O-H phénolique, et augmentent ainsi les taux de réaction avec les radicaux peroxydes et rend les antioxydants plus efficaces, la détermination de l'antioxydant le plus efficace pour un système d'émulsion particulier est restée inconnue. Cependant, une autre étude a enregistré que des antioxydants ont été évalués à différentes concentrations contre la décoloration et la protection des caroténoïdes du paprika, leur effet protecteur apparu comme suit, BHT > α -tocophérol > gallate d'épigallocatechine > quercétine > acide rosmarinique \geq acide caféique et acide férulique > acide coumarique > catéchine (**Cuvelier et Berset, 2005**). En comparant avec la bibliographie l'effet de notre fraction 1-B qui a exercé l'effet protecteur le plus intéressant (47,40 $\mu\text{g/mL}$) contre le blanchiment du β -Carotène, on constate que cet effet pourrait être expliquer par sa teneur élevée en quercétine diméthyl ether, en acide caféique (**Elansary et al., 2020**).

Les globules rouges peuvent subir une hémolyse par le processus d'oxydation au niveau de leur membrane en présence des acides gras polyinsaturés, d'oxygène et de l'hémoglobine (**Guemmaz et al., 2018**). Tandis que, les enzymes endogènes tels que la catalase, la superoxyde dismutase et le glutathion neutralisent les radicaux libres et protègent ainsi la membrane des érythrocytes (**Chisté et al., 2014**). De ce fait, il est important de mentionner qu'une source externe d'antioxydants par le biais de plantes médicinales est nécessaire à découvrir pour la protection des globules rouges humaines contre ce stress oxydatif. Par conséquent, les extraits de *P. harmala* ont été évalués pour leur effet protecteur de la membrane des érythrocytes contre l'hémolyse induite par les radicaux libres issus de la décomposition de l'AAPH responsable de la peroxydation des lipides et protéines (**Jesus et al., 2019**).

En fonction des résultats obtenus, nous avons constaté que les extraits de *P. harmala* possèdent un effet protecteur significatif essentiellement l'extrait brut Hydrométhanol (CI₅₀=3,18 µg/mL), sa fraction 1-B (CI₅₀=11,02 µg/mL). Nous avons suggéré que la teneur élevée en polyphénols y compris les flavonoïdes dans ces extraits peuvent neutraliser les radicaux libres issus de l'AAPH. Selon des études, les polyphénols préviennent l'oxydation des érythrocytes en se fixant à proximité des résidus de tryptophane des protéines membranaires des globules rouges, et ils retardent l'hémolyse en préservant l'intégrité de la membrane des globules rouges (**Rubnawaz et al., 2021**). De plus, il a été rapporté, par transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET), que l'effet antihémolytique est principalement lié à l'insertion des flavonoïdes au niveau membranaire des GR (**Chaudhuri et al., 2007**). En outre, il a été enregistré que la quercétine et ses dérivés glycosylés ralentissent l'apparition de l'hémolyse induite par l'AAPH de manière dose-dépendante, en raison de leur activité de donneur d'électron (**Kitagawa et al., 2004**). Une autre étude a également montré que les groupements méthyles au niveau structural des méthylflavanones, augmentent leur hydrophobicité et améliorent leurs affinités à la membrane des érythrocytes, de plus, leurs groupement hydroxyles contribuent à la formation des liaisons hydrogènes avec les têtes polaires des lipides de la membrane, de ce fait, elles augmentent la résistance de la membrane en limitant par la suite l'entrée des molécules qui provoquent l'hémolyse (**Cyboran-Mikolajczyk et al., 2022**).

Dans notre étude, l'extrait hydrométhanol et sa fraction 1-B, sont riches en flavonoïdes méthylés, notamment la quercétine diméthyl et tetraméthyl ether. Par conséquent, on suggère que ces composés confèrent à nos extraits leur effet protecteur des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH, ces composés confèrent à nos extraits leur effet protecteur des

globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH, particulièrement par leur capacité d'interagir avec la membrane des GR, et grâce à leur capacité antioxydante. Concernant les alcaloïdes, β -Carbolines. Bien qu'aucune étude n'ait été publiée sur leur interaction avec la bicouche lipidique des GR, leur caractère hydrophobe et leur capacité de donateurs d'électrons leur confèrent la capacité de s'incorporer dans la membrane des érythrocytes et de piéger les radicaux libres.

Il a été mentionné que les flavonoïdes sont efficaces pour piéger les radicaux anions superoxydes en inhibant l'initiation ou la propagation des réactions oxydatives en chaîne. En outre, l'emplacement des groupement hydroxyles et le taux élevé en composés phénoliques contenant dans les extraits des plantes sont cruciaux pour lutter contre ce type de radicaux libres (**Gulçin et al., 2010 ; Moteriya et al, 2017**). Dans notre étude nos extraits neutralisent l'anion superoxyde de manière significative, notamment la fraction 1-B de l'extrait Aqueux, et l'extrait brut Eau-acétone, qui sont riches en flavonoïdes.

Selon la bibliographie la quercétine à faible concentration (0,025 mM) est capable de piéger les superoxydes, en raison de ses groupements hydroxyles libres sur le cycle B qui constituent sites privilégiés pour le piégeage des superoxydes (**Velloso et al., 2011**). Malgré que, la quercétine diméthyléther a été le composé essentiel dans nos extraits leur effet piégeur du superoxyde été faible, cela peut être lié à la présence des groupement méthyles qui pourrait diminuer leur effet antioxydant contre le radical anion superoxyde (**Zhao et al., 2008 ; Duenas et al., 2010**), de plus, les flavanols, particulièrement la quercétine (0,256 mM) et le kaempferol (0,172 mM) assurent un effet antioxydant contre le radical oxyde nitrique (**Velloso et al., 2011**). Ces composants renferment des groupements methoxy au niveau de l'hydroxyle du cycle B, et le groupement hydroxyle sur le cycle C est libre. Tandis que, le groupement hydroxyle libre en position 3 du cycle C et les deux autres groupements hydroxyles sur le cycle B de la quercétine ont été considérable pour le piégeage du radical oxyde nitrique (**Velloso et al., 2011**). Par conséquent, nous avons suggéré que la méthylation des groupements fonctionnels au niveau structural des flavanols pourrait diminuer la neutralisation du radical oxide nitrique.

Concernant les alcaloïdes identifiés dans nos extraits, leurs structures chimiques peuvent contribuer à un effet anti-radicalaire, particulièrement par la réactivité de la partie indole vis-à-vis des radicaux dérivés de l'oxygène, l'hydrogénation de la partie pyridine en tétrahydro β -

carbolines y compris la tétra-hydroharmine présente dans nos extraits, ainsi que la présence des groupements hydroxyles au niveau de ces alcaloïdes citant l'harmaline déterminée à différentes teneurs dans nos extraits, tout cela augmente généralement la capacité antioxydante en piégeant les radicaux de l'anion superoxyde et le radical de l'oxyde nitrique (**Lehmann 2012**). Par ailleurs, dans une étude sur les β -carbolines lenticulaires isolés de certains patients atteints de cataracte, en comparaison avec l'harmine, il a été rapporté que cet alcaloïde neutralise les radicaux de l'anion superoxyde issus de la ferricytochrome C en concluant que l'harmine et les β -carbolines accumulés ont exercés un effet antioxydant et protecteur contre le stress oxydatif des tissus humains notamment le tissu cristallin de l'œil (**Pari et al., 2000**). Cependant, dans nos extraits les moins actifs à neutralisé les anions superoxydes ont été ceux riches en alcaloïdes particulièrement la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut Eau-acétone avec une CI_{50} égale à 946.16 $\mu\text{g/mL}$, cette notion peut être expliqué par la faible teneur en composé phénolique particulièrement les flavanols y compris la quercétine diméthyléther. Par conséquent, nous avons suggéré que l'effet significatif antioxydant contre l'anion superoxyde ont été à l'origine de l'effet synergique entre les composés phénoliques et les alcaloïdes de β -carbolines contenant dans les extraits, contrairement à leurs effets significatifs contre le radical oxyde nitrique, où les fractions acétate d'éthyle sont riches en alcaloïdes.

En conclusion, nous avons suggéré que les activités antiradicalaires des alcaloïdes et des flavanols de nos extraits, varient en fonction de leur concentration dans chaque extrait, et de la présence ou l'absence des groupements méthylés. En ce qui concerne les flavanols, leurs groupements hydroxyles sont essentiels pour le piégeage des radicaux libres de l'oxyde nitrique et de l'anion superoxyde.

En ce qui est pour l'activité enzymatique de l' α -glucosidase, plusieurs études ont identifié les polyphénols et les flavonoïdes comme de puissants inhibiteurs de cette enzyme y compris la quercétine, qui inhibent l' α -Glc en tant que ligand compétitif avec une valeur CI_{50} de 17 $\mu\text{mol/L}$ (**Zhu et al., 2019**). De même, l'acide caféique a été déterminé comme un puissant inhibiteur de l' α -Glc, avec des valeurs CI_{50} de 4,98 $\mu\text{g/mL}$ (**Oboh et al., 2015**). De plus, des études *in vitro* et *in silico* ont rapporté que la narirutine exerce une inhibition avec une valeur CI_{50} de 91 $\mu\text{g/mL}$ et présente une forte affinité avec les résidus du site actif en formant des liaisons hydrogènes (**Qurtam et al., 2021 ; Cheng et al., 2022 ; Akhtar et al., 2023**).

En outre, l'inhibition de l' α -Glc est principalement liée à la structure moléculaire caractéristique des composés phénoliques. Ainsi, plusieurs facteurs peuvent influencer l'affinité au site actif avec lequel les polyphénols réagissent différemment contre l' α -Glc, tels que les groupes hydroxyle, galloyle et caféoyloyle qui peuvent augmenter l'interaction par la formation de liaisons hydrogène et la conjugaison π entre les résidus du site actif et les composés phénoliques (Zhu et al., 2019 ; Fu et al., 2021). À leur tour, l'hydrogénation, la méthylation, et la glycosylation des polyphénols peuvent affaiblir l'activité inhibitrice de l' α -Glc (Cao et al., 2012). En conclusion, le potentiel d'inhibition des fractions est probablement lié à l'effet synergique de l'ensemble des composés phénoliques présents dans l'extrait de graines de *P. harmala*.

A propos de l'activité anti-inflammatoire testée par inhibition de l'AChE et la BChE, nos résultats sont en accord avec la bibliographie, des études antérieures ont montré que l'harmaline (8,4 $\mu\text{g/mL}$) et l'harmine (8,4 $\mu\text{g/mL}$), isolés à partir des graines de *P. harmala* inhibent significativement l'activité de l'AChE (Adhami et al., 2011 ; Nasibova et Garaev, 2021). Ceci a été également déterminé pour nos extraits et fractions qui renferment des taux élevés en harmine et harmaline et qui ont significativement inhibé l'AChE et la BChE. En outre, il a été rapporté qu'une série des alcaloïdes de β -carboline inhibent les activités de l'AChE et BChE par oxydation du substituant en C7 pour l'harmine et l'harmaline (Zhao et al., 2013).

D'autre part, il a été montré que les polyphénols inhibent considérablement l'activité de l'AChE, selon Abbou et al., (2022) la fraction Ea, préparée à partir de *Mentha peltatum*, a inhibé l'AChE à ($\text{CI}_{50} = 3,13 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$) et la BChE à ($\text{CI}_{50} = 12,97 \pm 0,20 \mu\text{g/mL}$) où la quercétine a été le composé phénolique principal de cette fraction, et déterminé comme de puissants inhibiteurs de l'AChE en assurant un effet meilleur que l'effet du standard et de la galantamine. Le mécanisme d'action des polyphénols est lié à leurs groupements hydroxyles qui forment des liaisons hydrogènes avec les acides aminés des sites actifs de la cholinestérase et renforce l'inhibition de cette enzyme (Blaszczak et al., 2020). De plus, l'alcaloïde présente une interaction avec le site d'actif des cholinestérases notamment l'harmine (Sun et al., 2021). Les phénols naturels, flavonoïdes, stilbènes, terpénoïdes, quinones et alcaloïdes ont été classés parmi les inhibiteurs naturels de la Cox 2 en raison de leurs caractéristiques structurales qui peuvent contribuer au développement de nouveaux médicaments anti-inflammatoires puissants et sélectifs (Cui et Jia., 2021). L'étude de Bar et al., (2022) a montré que les résultats du docking moléculaire ont

déterminé l'interaction de l'harmaline hydrochloride et la nor-harmaline hydrochloride avec les résidus de Cox 2, en formant des liaisons hydrogènes essentiellement avec les résidus Tyr385, Tyr355 et Arg120. Dans notre étude, les extraits préparés de graines de *P. harmala* ont révélés une richesse en alcaloïdes y compris l'harmaline. Par conséquent, nous avons suggéré que cet alcaloïde a significativement inhibé la Cox 2. D'autre part, **O'Leary et al., (2004)** ont montré que la quercétine et ses dérivés pourraient inactiver la Cox 1 en neutralisant le radical tyrosyl formé par l'oxydation de la tyrosine par le fer Fe^{3+} de l'hème, au niveau de site actif de l'enzyme, au cours de processus catalytique de l'acide arachidonique en prostaglandine (**Rouzer et al., 2009**). De plus, il a été noté que les différents dérivés de la quercétine réagissent différemment au niveau du site actif des cyclooxygénases de type 1 et de type 2 en raison de leurs variabilités stériques (**O'Leary et al., 2004**).

En ce qui concerne la relation structure-activité, il a été enregistré que le groupe catéchol dans le cycle B, la fonction C2=C3 insaturée, le groupe 4-céto et les hydroxylations en C5 et C7 jouent un rôle crucial dans l'inhibition de la Cox 2 (**Catarino et al., 2016**). La présence des groupements méthyles peut différencier l'activité inhibitrice des dérivés de la quercétine, de même la présence des O-méthylation au niveau des flavonoïdes peut améliorer l'inhibition enzymatique des cyclooxygénases (**Catarino et al., 2016**). En outre, la quercétine forme des liaisons hydrogènes entre le groupement catéchol du cycle B et les résidus Tyr-385 et Ser- 530 au niveau du site d'actif de cet enzyme (**Catarino et al., 2016**).

En effet, il a été rapporté que la tamarixetine (méthyl quercétine), la penthaméthyl quercétine et l'isorhamnetine (méthyl quercétine) sont plus efficaces que la quercétine sur l'inhibition de la Cox 1 (**Lesjak et al., 2018**). Quant à nos extraits, ils sont riches en dérivés méthylés de la quercétine, notamment la quercétine diméthyl ether et la quercétine tétraméthyl ether, en particulier la fraction 1B-Hm qui renferme le taux le plus élevé en quercétine diméthyl ether, qui a faiblement inhibé ces enzymes. Tandis que, l'extrait brut Hm riche en quercétine tétraméthyl ether, a significativement inhibé la Cox 2 par rapport aux autres extraits. Par contre, l'extrait brut Eau-Acétone, contenant les flavonoïdes méthylées (quercétine diméthyl ether et la quercétine tétraméthyl ether) et les alcaloïdes (harmine et harmaline) a significativement inhibé les deux types de Cox. En termes de cette composition chimique qui varie d'un extrait à l'autre nous avons suggéré que la présence d'un groupement hydroxyle sur ces flavonoïdes méthylés n'a pas été l'origine absolue de cette inhibition. De plus, un effet synergique entre les polyphénols et les alcaloïdes peut être considéré dans cet effet inhibiteur important.

Conclusion et perspectives

La présente étude est une contribution à l'étude phytochimique et à l'évaluation *in vitro* des activités biologiques ; antioxydante, antidiabétique, anti-Alzheimer et anti-inflammatoire des extraits bruts Aqueux, Hydrométhanolique, Eau-Acétone et leurs fractions Acétate d'éthyle et 1-butanol, isolés des graines *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) récoltées dans la région de Ouargla.

A la lumière des résultats obtenus, on constate que l'utilisation des différents solvants organiques, notamment acétate d'éthyle et 1-butanol, a influencé la composition chimique des extraits de graines de *P. harmala*, notamment en alcaloïdes et en flavonoïdes méthylés, et par conséquent leurs activités biologiques. De fortes corrélations statistiques ont été déterminées entre la composition chimique des extraits et leurs activités biologiques. La composition chimique diversifiée riche en harmine, harmaline, dipeginol, quercétine diméthylether et la quercétine tetraméthylether a essentiellement modulée l'activité antioxydante des extraits de *P. harmala* en neutralisant les différents radicaux libres DPPH[•], l'ABTS^{•+}, FRAP, l'oxyde nitrique ($\cdot\text{NO}$), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), les radicaux issus du test de β -carotène, et également ceux générés par la décomposition du AAPH[•]. Elle a également géré les réponses des enzymes vis-à-vis des extraits de *P. harmala* en assurant une activité antidiabétique par inhibition significative de l'activité l' α -glucosidase sans inhibé l' α - amylase ; une activité anti-inflammatoire par inhibition de l'activité des cyclooxygénases Cox-1 et Cox-2, et une activité anti-Alzheimer par inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. Ces résultats préliminaires nécessitent des études complémentaires qui s'intéressent à ;

- Tester *in vivo* l'activité antioxydante, antidiabétique, anti-inflammatoire, et anti-Alzheimer des extraits de *P. harmala*,
- Chercher le mécanisme d'action antioxydant, anti-inflammatoire, anti- Alzheimer, et antidiabétique des composés phytochimiques majoritaires identifiés dans les extraits de *P. harmala*,
- Réaliser des études du docking moléculaire pour mieux identifier les interactions qui peuvent avoir lieu entre les composés phytochimiques et les enzymes cibles,
- Etudier *in vitro* l'activité anticancéreuse, antimicrobienne et immunomodulatrice des extraits ou des composés phytochimiques de *P. harmala*.

Références bibliographiques

- 1) Abbas, M. W., Hussain, M., Qamar, M., Ali, S., Shafiq, Z., Wilairatana, P., & Mubarak, M. S. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Peganum harmala* extracts: An *in vitro* and *in vivo* study. *Molecules*, 26(19), 6084.
- 2) Abbou, F., Azzi, R., Ouffai, K., El Hacı, I. A., Belyagoubi-Benhammou, N., Bensouici, C., & Benamar, H. (2022). Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory properties of phenolic-rich fractions from the aerial parts of *Mentha pulegium* L. *South African Journal of Botany*, 146, 196-204.
- 3) Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., Fekhikher, Z., Daoud, I., Terki, M., ... & Ghalem, S. (2021). *In silico* evaluation of phenolic compounds as inhibitors of A-amylase and A-glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(3), 816-822.
- 4) Aćimović, M., Kiproviski, B., & Gvozdenac, S. (2020). Application of *Cymbopogon citratus* in Agro-Food Industry. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management (JATEM)*, 3(3), 423-436.
- 5) Adhami, H. R., Farsam, H., & Krenn, L. (2011). Screening of medicinal plants from Iranian traditional medicine for acetylcholinesterase inhibition. *Phytotherapy Research*, 25(8), 1148-1152.
- 6) Afonso, A. F., Pereira, O. R., Válega, M., Silva, A. M., & Cardoso, S. M. (2018). Metabolites and biological activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides*, and *Thymus fragrantissimus* grown under organic cultivation. *Molecules*, 23(7), 1514.
- 7) Ahmad, P., & Wani, M. R. (Eds.). (2013). *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment: Volume 2* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- 8) Allaq, A. A., Sidik, N. J., Abdul-Aziz, A., & Ahmed, I. A. (2021). Antioxidant, antibacterial, and phytochemical screening of ethanolic crude extracts of Libyan *Peganum harmala* seeds. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(13), 74-82.
- 9) Ahmed, S., Khan, S. T., Zargaham, M. K., Khan, A. U., Khan, S., Hussain, A., ... & Al-Harrasi, A. (2021). Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111609.
- 10) Ahmed, S. (1998). *Isolation and Structural elucidation of chemical constituents from Fumaria indica, Ferula oopoda and Withania somnifera* (Doctoral dissertation, University of Karachi Karachi).
- 11) Akhtar, N., & Mirza, B. (2018). Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian journal of chemistry*, 11(8), 1223-1235.

- 12) Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, 4, 200-214.
- 13) Ali, A., Cottrell, J. J., & Dunshea, F. R. (2023). Antioxidant, alpha-glucosidase inhibition activities, *in silico* molecular docking and pharmacokinetics study of phenolic compounds from native australian fruits and spices. *Antioxidants*, 12(2), 254.
- 14) Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.
- 15) Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition journal*, 15(1), 99.
- 16) Apostolico, I., Aliberti, L., Caputo, L., De Feo, V., Fratianni, F., Nazzaro, F., ... & Khadhr, M. (2016). Chemical composition, antibacterial and phytotoxic activities of *Peganum harmala* seed essential oils from five different localities in Northern Africa. *Molecules*, 21(9), 1235.
- 17) Arndt, J. W., Qian, F., Smith, B. A., Quan, C., Kilambi, K. P., Bush, M. W., ... & Weinreb, P. H. (2018). Structural and kinetic basis for the selectivity of aducanumab for aggregated forms of amyloid- β . *Scientific reports*, 8(1), 6412.
- 18) Arslan, S. A. Y. (2024). Peganum Harmala: A comprehensive study. Prof. Dr. Hasan Akgul. Prof. Dr Engin sahna. Prof. Dr. Zeliha slemaglu,137.
- 19) Asgarpanah, J., & Ramezanloo, F. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of pharmacy and pharmacology*, 6(22), 1573-1580.
- 20) Ashraf, M. F. M. R., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.
- 21) Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst.
- 22) Baghiani, A., Djarmouni, M., Boumerfeg, S., Trabsa, H., Charef, N., Khennouf, S., & Arrar, L. (2012). Xanthine oxidase inhibition and antioxidant effects of *Peaganum harmala* seed extracts.

- 23) Bai, H. W., & Zhu, B. T. (2008). Strong activation of cyclooxygenase I and II catalytic activity by dietary bioflavonoids. *Journal of lipid research*, 49(12), 2557-2570.
- 24) Bakiri, N., Bezzi, M., Khelifi, L., & Khelifi-Slaoui, M. (2016). Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala l.* dans la région de M'sila. *Revue Agriculture*, 1, 38-42.
- 25) Bar, F. M. A., Sameti, M., Foudah, A. I., Haque, A., & Elsbaey, M. (2022). *In vitro* and *in silico* inhibition of COX-2 and 5-LOX by beta-carboline alkaloids from the seeds of *Peganum harmala L.* *South African Journal of Botany*, 147, 926-936.
- 26) Benarous, K., Bombarda, I., Iriepa, I., Moraleda, I., Gaetan, H., Linani, A., ... & Yousfi, M. (2015). Harmaline and hispidin from *Peganum harmala* and *Inonotus hispidus* with binding affinity to *Candida rugosa* lipase: *In silico* and *in vitro* studies. *Bioorganic chemistry*, 62, 1-7.
- 27) Benchikh, F., Amira, S., & Benabdallah, H. (2018). The evaluation of antioxidant capacity of different fractions of *Myrtus communis L.* leaves. *Annual Research & Review in Biology*, 22(5), 1-14.
- 28) Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5(1), 9-19.
- 29) Blair, M. (2016). Diabetes mellitus review. *Urologic nursing*, 36(1).
- 30) Błaszczak, W., Jeż, M., & Szewngiel, A. (2020). Polyphenols and inhibitory effects of crude and purified extracts from tomato varieties on the formation of advanced glycation end products and the activity of angiotensin-converting and acetylcholinesterase enzymes. *Food chemistry*, 314, 126181.
- 31) Blobaum, A. L., & Marnett, L. J. (2007). Structural and functional basis of cyclooxygenase inhibition. *Journal of medicinal chemistry*, 50(7), 1425-1441.
- 32) Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *NOV'AE-Ingénierie et savoir-faire innovants*, (spécial Cahier des techniques), 79-82.
- 33) Botterweck, A. A., Verhagen, H., Goldbohm, R. A., Kleinjans, J., & Van den Brandt, P. A. (2000). Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food and Chemical Toxicology*, 38(7), 599-605.
- 34) Bouafia, M., Amamou, F., Gherib, M., Benaissa, M., Azzi, R., & Nemmiche, S. (2021). Ethnobotanical and ethnomedicinal analysis of wild medicinal plants traditionally used in Naâma, southwest Algeria. *Vegetos*, 34(3), 654-662.

- 35) Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids: a review. *Asian journal of botany*, 1(1), 1-6.
- 36) Brobst, A., Lewis, J., Klett, B., Hausteiner, C., & Shriver, J. (2009). The free base extraction of harmaline from *Peganum harmala*. *Am J Undergrad Res*, 8, 2-3.
- 37) Brown, R. E., Jarvis, K. L., & Hyland, K. J. (1989). Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Analytical biochemistry*, 180(1), 136-139.
- 38) Bureau, A., Lahet, J. J., Lenfant, F., Bouyer, F., Petitjean, M., Chaillot, B., & Freysz, M. (2005). Optimization of a model of red blood cells for the study of anti-oxidant drugs, in terms of concentration of oxidant and phosphate buffer. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 59(7), 341-344.
- 39) Calabrò, M., Rinaldi, C., Santoro, G., & Crisafulli, C. (2020). The biological pathways of Alzheimer disease: A review. *AIMS neuroscience*, 8(1), 86.
- 40) Câmara, J. S., Perestrelo, R., Ferreira, R., Berenguer, C. V., Pereira, J. A., & Castilho, P. C. (2024). Plant-derived terpenoids: A plethora of bioactive compounds with several health functions and industrial applications—A comprehensive overview. *Molecules*, 29(16), 3861.
- 41) Cao, H., & Chen, X. (2012). Structures required of flavonoids for inhibiting digestive enzymes. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 12(8), 929-939.
- 42) Catarino, M. D., Talhi, O., Rabahi, A., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2016). The antiinflammatory potential of flavonoids: mechanistic aspects. *Studies in natural products chemistry*, 48, 65-99.
- 43) Catarino, M. D., Silva, A. M., Cruz, M. T., & Cardoso, S. M. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Geranium robertianum* L. decoctions. *Food & function*, 8(9), 3355-3365.
- 44) Chandrasekara, A., Rasek, O. A., John, J. A., Chandrasekara, N., & Shahidi, F. (2016). Solvent and extraction conditions control the assayable phenolic content and antioxidant activities of seeds of black beans, canola and millet. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(2), 275-283.
- 45) Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- 46) Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., & Sengupta, P. K. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *International journal of biological macromolecules*, 41(1), 42-48.

- 47) Chen, J., Yang, J., Ma, L., Li, J., Shahzad, N., & Kim, C. K. (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific reports*, *10*(1), 2611.
- 48) Cheng, L., Wang, F., Cao, Y., Cai, G., Wei, Q., Shi, S., & Guo, Y. (2022). Screening of potent α -glucosidase inhibitory and antioxidant polyphenols in *Prunella vulgaris* L. by bioreaction–HPLC–quadrupole-time-of-flight-MS/MS and *in silico* analysis. *Journal of Separation Science*, *45*(18), 3393-3403.
- 49) Chi, H., Chang, H. Y., & Sang, T. K. (2018). Neuronal cell death mechanisms in major neurodegenerative diseases. *International journal of molecular sciences*, *19*(10), 3082.
- 50) Chisté, R. C., Freitas, M., Mercadante, A. Z., & Fernandes, E. (2014). Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. *Life Sciences*, *99*(1-2), 52-60.
- 51) Costa, M., Losada-Barreiro, S., Paiva-Martins, F., & Bravo-Diaz, C. (2021). Polyphenolic antioxidants in lipid emulsions: Partitioning effects and interfacial phenomena. *Foods*, *10*(3), 539.
- 52) Cuendet, M., Mesecar, A. D., DeWitt, D. L., & Pezzuto, J. M. (2006). An ELISA method to measure inhibition of the COX enzymes. *Nature protocols*, *1*(4), 1915-1921.
- 53) Cui, J., & Jia, J. (2021). Natural COX-2 inhibitors as promising anti-inflammatory agents: an update. *Current Medicinal Chemistry*, *28*(18), 3622-3646.
- 54) Cuvelier, M. E., & Berset, C. (2005). Phenolic compounds and plant extracts protect paprika against UV-induced discoloration. *International journal of food science and technology*, *40*(1), 67-73.
- 55) Cyboran-Mikołajczyk, S., Bonarska-Kujawa, D., Męczarska, K., Krawczyk-Łebek, A., & Kostrzewa-Susłow, E. (2022). Novel O-methylglucoside derivatives of flavanone in interaction with model membrane and transferrin. *Membranes*, *12*(10), 978.
- 56) Da Silva, A. P. G., Sganzerla, W. G., John, O. D., & Marchiosi, R. (2025). A comprehensive review of the classification, sources, biosynthesis, and biological properties of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids. *Phytochemistry Reviews*, *24*(2), 1061-1090.
- 57) Da Silva, S. L., Calgarotto, A. K., Chaar, J. S., & Marangoni, S. (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA2 activity. *Toxicon*, *52*(6), 655-666.

- 58) Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F., & Bammens, B. (2019). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric nephrology*, 34(6), 975-991.
- 59) Dahlén, A. D., Dashi, G., Maslov, I., Attwood, M. M., Jonsson, J., Trukhan, V., & Schiöth, H. B. (2022). Trends in antidiabetic drug discovery: FDA approved drugs, new drugs in clinical trials and global sales. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 807548.
- 60) Dar, R. A., Shahnawaz, M., & Qazi, P. H. (2017). General overview of medicinal plants: A review. *The journal of phytopharmacology*, 6(6), 349-351.
- 61) Davies, M. J., Aroda, V. R., Collins, B. S., Gabbay, R. A., Green, J., Maruthur, N. M., ... & Buse, J. B. (2022). Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2022. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*, 65(12), 1925-1966.
- 62) Derouiche, S., Ahmed, F. Z. B., & Gherib, M. (2023). Evaluation of the Antioxidant Activity of Alkaloids Extracted from *Peganum harmala* Seeds.
- 63) Derridj, A., Ghemouri, G., Meddour, R., & Meddour-Sahar, O. (2009, March). Approche ethnobotanique des plantes médicinales en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou, Algérie). In *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM2009* 853 (pp. 425-434).
- 64) Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., & Yousef, L. F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049-1079.
- 65) Djarmouni, M., Boucheffa, S., & Baghiani, A. (2024). Investigation of potential activities of *Peganum harmala* seeds: *In silico* and *in vitro* analyses. *Cellulose Chemistry and Technology*, 58(3-4), 303-312.
- 66) Dueñas, M., González-Manzano, S., González-Paramás, A., & Santos-Buelga, C. (2010). Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin and quercetin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 443-449.
- 67) Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Al-Mana, F. A., & El-Shafei, A. A. (2020). Polyphenols of *Frangula alnus* and *Peganum harmala* leaves and associated biological activities. *Plants*, 9(9), 1086.
- 68) Elgubbi, S. H., Ghaith, S. G., Alnaas, M., & Balto, M. (2016). Cytotoxicity Studies of Harmine Isolated and Purified from *Peganum Harmala L.* Seeds. In *The Third Symposium on Theories and Applications of Basic and Biosciences*.

- 69) Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- 70) El-Rifaie, M. E. S. (1980). *Peganum harmala*: its use in certain dermatoses. *International Journal of Dermatology*, 19(4), 221-222.
- 71) Farouk, L., Laroubi, A., Ouachrif, A., Aboufatima, R., Benharref, A., & Chait, A. (2009). Antinociceptive activity of various extracts of *Peganum harmala L.* and possible mechanism of action.
- 72) Fathi, A. F., Azarmi, Y., & Khodaie, L. (2006). Pharmacological effects of *Peganum harmala* seeds extract on isolated rat uterus.
- 73) Fermor, B., Weinberg, J. B., Pisetsky, D. S., Misukonis, M. A., Banes, A. J., & Guilak, F. (2001). The effects of static and intermittent compression on nitric oxide production in articular cartilage explants. *Journal of Orthopaedic Research*, 19(4), 729-737.
- 74) Fu, M., Shen, W., Gao, W., Namujia, L., Yang, X., Cao, J., & Sun, L. (2021). Essential moieties of myricetins, quercetins and catechins for binding and inhibitory activity against α -Glucosidase. *Bioorganic Chemistry*, 115, 105235.
- 75) Garcia-Mouronte, E., Pérez-González, L. A., Naharro-Rodriguez, J., & Fernández Guarino, M. (2024). Understanding Active Photoprotection: DNA-Repair Enzymes and Antioxidants. *Life*, 14(7), 822.
- 76) Gökkaya, İ., Renda, G., Subaş, T., & Özgen, U. (2023). Phytochemical, pharmacological, and toxicological studies on *Peganum harmala L.*: An overview of the last decade. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 13(3), 664-678.
- 77) Gu, L. H., Liao, L. P., Hu, H. J., Bligh, S. A., Wang, C. H., Chou, G. X., & Wang, Z. T. (2015). A thin-layer chromatography-bioautographic method for detecting dipeptidyl peptidase IV inhibitors in plants. *Journal of Chromatography A*, 1411, 116-122.
- 78) Guemmaz, T., Zerargui, F., Boumerfeg, S., Arrar, L., Aouachria, S., Khenouf, S., ... & Baghiani, A. (2018). Anti-hemolytic, anti-lipid peroxidation, antioxidant properties and acute toxicity of *Xanthium strumarium* leaves extracts.
- 79) Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H. Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian journal of chemistry*, 3(1), 43-53.
- 80) Ha, M. T., Kim, M., Kim, C. S., Park, S. E., Kim, J. A., Woo, M. H., ... & Min, B. S. (2020). Tetra-aryl cyclobutane and stilbenes from the rhizomes of *Rheum undulatum* and their α -glucosidase inhibitory activity: Biological evaluation, kinetic analysis, and molecular docking simulation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(8), 127049.

- 81) Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.
- 82) Hamberg, M., & Samuelsson, B. (1973). Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(3), 899-903.
- 83) Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., & GOETZ, P. (2013). *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen* (Vol. 8). Springer Paris.
- 84) Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.
- 85) Harrison, S. A., Alkhouri, N., Davison, B. A., Sanyal, A., Edwards, C., Colca, J. R., ... & Dittrich, H. C. (2020). Insulin sensitizer MSDC-0602K in non-alcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb study. *Journal of hepatology*, 72(4), 613-626.
- 86) Heck, C. I., & De Mejia, E. G. (2007). Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *Journal of food science*, 72(9), R138-R151.
- 87) Heerspink, H. J., Perkins, B. A., Fitchett, D. H., Husain, M., & Cherney, D. Z. (2016). Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors in the treatment of diabetes mellitus: cardiovascular and kidney effects, potential mechanisms, and clinical applications. *Circulation*, 134(10), 752-772.
- 88) Hellal, K., Maulidiani, M., Ismail, I. S., Tan, C. P., & Abas, F. (2020). Antioxidant, α -glucosidase, and nitric oxide inhibitory activities of six Algerian traditional medicinal plant extracts and 1H-NMR-based metabolomics study of the active extract. *Molecules*, 25(5), 1247.
- 89) Heraiz, A. A., Abdelwahab, M. F., Saleh, A. M., Ragab, E. A., & Eldondaity, S. A. (2023). Antidiabetic activity of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet leaves: *in-vitro* and *in-silico* antidiabetic potential of isolated flavonoid glycosides and sulphated flavonoids. *Natural Product Research*, 37(24), 4251-4255.
- 90) Herraiz, T., & Galisteo, J. (2004). Endogenous and dietary indoles: a class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay. *Free radical research*, 38(3), 323-331.
- 91) Hong, D. J., Jung, S. H., Kim, J., Jung, D., Ahn, Y. G., Suh, K. H., & Min, K. H. (2020). Synthesis and biological evaluation of novel thienopyrimidine derivatives as diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT-1) inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 227-234.

- 92) Hu, S., Wang, S., Fanelli, B., Bell, P. A., Dunning, B. E., Geisse, S., ... & Boettcher, B. R. (2000). Pancreatic β -cell KATP channel activity and membrane-binding studies with nateglinide: a comparison with sulfonylureas and repaglinide. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 293(2), 444-452.
- 93) Huang, L. K., Chao, S. P., & Hu, C. J. (2020). Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. *Journal of biomedical science*, 27(1), 18.
- 94) Hugel, H. M., de Silva, N. H., Siddiqui, A., Blanch, E., & Lingham, A. (2021). Natural spirocyclic alkaloids and polyphenols as multi target dementia leads. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 43, 116270.
- 95) Hunter, R. W., Hughey, C. C., Lantier, L., Sundelin, E. I., Peggie, M., Zeqiraj, E., ... & Sakamoto, K. (2018). Metformin reduces liver glucose production by inhibition of fructose-1-6-bisphosphatase. *Nature medicine*, 24(9), 1395-1406.
- 96) Im, J. H., Jin, Y. R., Lee, J. J., Yu, J. Y., Han, X. H., Im, S. H., ... & Yun, Y. P. (2009). Antiplatelet activity of β -carboline alkaloids from *Perganum harmala*: a possible mechanism through inhibiting PLC γ 2 phosphorylation. *Vascular pharmacology*, 50(5-6), 147-152.
- 97) Irshad, M., & Chaudhuri, P. S. (2002). Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian journal of experimental biology*, 40(11), 1233-1239.
- 98) Jelic, V., & Darreh-Shori, T. (2010). Donepezil: a review of pharmacological characteristics and role in the management of Alzheimer disease. *Clinical Medicine Insights: Therapeutics*, 2, CMT-S5410.
- 99) Jesus, F., Gonçalves, A. C., Alves, G., & Silva, L. R. (2019). Exploring the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and anti-hemolytic potential of *Prunus avium* vegetal parts. *Food Research International*, 116, 600-610.
- 100) Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499-2574.
- 101) Jones, B. A., Wang, X. X., Myakala, K., & Levi, M. (2021, July). Nuclear receptors and transcription factors in obesity-related kidney disease. In *Seminars in nephrology* (Vol. 41, No. 4, pp. 318-330). WB Saunders.
- 102) Juan, M. Y., & Chou, C. C. (2010). Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715. *Food microbiology*, 27(5), 586-591.

- 103) Kaasik, H., Souza, R. C., Zandonadi, F. S., Tófoli, L. F., & Sussulini, A. (2021). Chemical composition of traditional and analog ayahuasca. *Journal of Psychoactive Drugs*, 53(1), 65-75.
- 104) Kamran, M., Ud din, M., Sahu, M, et al. (2024). Bioactivities of Cholistani harmal (Peganum harmala) with exploration of bioactive phytochemicals. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, vol.25,p. 105-116.
- 105) Kanwal, Z. G., Hafeez, A., Haq, I. U., Rehman, T. U., Muhammad, S. A., Shahzadi, I., ... & Rehman, N. (2016). Antioxidant, antimicrobial and antileishmanial study of different parts of *Peganum harmala*. *International Journal of Biosciences*, 9(1), 45-58.
- 106) Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A., (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407.
- 107) Kaya, E et Akbas, P., (2023). Determination of the Antimicrobial, Antioxidant Activities and Fatty Acid Composition of *Peganum harmala* Seed. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. 66, p. e23220237.
- 108) Khawar, K. M., Ozel, C. A., Balci, S. E. M. I. H. A., Ozcan, S. E. B. A. H. A. T. T. I. N., & Arslan, O. R. H. A. N. (2005). Efficient shoot regeneration in Syrian rue (*Peganum harmala* L.) under *in vitro* Conditions. *Int. J. Agric. Biol*, 7(5), 790-793.
- 109) Kim, D. O., & Lee, C. Y. (2004). Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4), 253-273.
- 110) Kitagawa, S., Sakamoto, H., & Tano, H. (2004). Inhibitory effects of flavonoids on free radical-induced hemolysis and their oxidative effects on hemoglobin. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 52(8), 999-1001.
- 111) Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(1), 8-17.
- 112) Kouider, H., Mohammed, B., Mohammed, M., Abdelkader, O., & Abdelkarim, R. (2019). Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud ouest algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique*.
- 113) Kumar, M. P., Joshi, S. D., Kulkarni, V. H., & Savant, C. (2015). Phytochemical screening and evaluation of analgesic, anti-inflammatory activities of *Peganum harmala* Linn., seeds in rodents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(5), 052-055.

- 114) Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013(1), 162750.
- 115) Lakhdari, W., Dehliz, A., Acheuk, F., Mlik, R., Hammi, H., Doumandji-Mitche, B., ... & Chergui, S. (2016). Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara).
- 116) Lamchouri, F., Settaf, A., Cherrah, Y., Hassar, M., Zemzami, M., Atif, N., ... & Lyoussi, B. (2000). In vitro cell-toxicity of *Peganum harmala* alkaloids on cancerous cell-lines. *Fitoterapia*, 71(1), 50-54.
- 117) Lansky, E. S., Lansky, S., & Paavilainen, H. M. (2017). *Harmal: The genus peganum*. CRC Press.
- 118) Laufer, S., & Luik, S. (2010). Different methods for testing potential cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 inhibitors. In *Cyclooxygenases: Methods and Protocols* (pp. 91-116). Totowa, NJ: Humana Press.
- 119) Lee, V. M., Goedert, M., & Trojanowski, J. Q. (2001). Neurodegenerative tauopathies. *Annual review of neuroscience*, 24(1), 1121-1159.
- 120) Lee, Y. S., & Jun, H. S. (2014). Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism*, 63(1), 9-19.
- 121) Lehmann, J. (2011). Antioxidant properties of β -carbolines. In *Isoquinolines And Beta-Carbolines As Neurotoxins And Neuroprotectants: New Vistas In Parkinson's Disease Therapy* (pp. 133-144). Boston, MA: Springer US.
- 122) Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., ... & Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of functional foods*, 40, 68-75.
- 123) Letan, A. (1966). The relation of structure to antioxidant activity of quercetin and some of its derivatives I. Primary activity. *Journal of Food Science*, 31(4), 518-523.
- 124) Li, D. D., Zhang, Y. H., Zhang, W., & Zhao, P. (2019). Meta-analysis of randomized controlled trials on the efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease. *Frontiers in neuroscience*, 13, 472.
- 125) Li, H., Wang, Z., Wang, Y., Xu, J., & He, X. (2020). Triterpenoids with anti-proliferative effects from the seeds of *Peganum harmala L.* *Phytochemistry*, 174, 112342.
- 126) Li, J., Zhu, Z., & Gerendás, J. (2008). Effects of nitrogen and sulfur on total phenolics and antioxidant activity in two genotypes of leaf mustard. *Journal of Plant Nutrition*, 31(9), 1642-1655.

- 127) Li, S., Cheng, X., & Wang, C. (2017). A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the genus *Peganum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 203, 127-162.
- 128) Li, T., Martin, E., Abada, Y. S., Boucher, C., Cès, A., Youssef, I., ... & Delatour, B. (2020). Effects of chronic masitinib treatment in APP^{swe}/PSEN1^{dE9} transgenic mice modeling Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 76(4), 1339-1345.
- 129) Li, Y., He, Q., Du, S., Guo, S., Geng, Z., & Deng, Z. (2018). Study of methanol extracts from different parts of *Peganum harmala L.* using 1H-NMR plant metabolomics. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2018(1), 6532789.
- 130) Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 757-772.
- 131) Lin, Y., & Sun, Z. (2011). Thyroid hormone potentiates insulin signaling and attenuates hyperglycemia and insulin resistance in a mouse model of type 2 diabetes. *British journal of pharmacology*, 162(3), 597-610.
- 132) Lipinski, C. A., & Reaume, A. G. (2020). High throughput in vivo phenotypic screening for drug repurposing: discovery of MLR-1023 a novel insulin sensitizer and novel Lyn kinase activator with clinical proof of concept. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(9), 115425.
- 133) Liu, X. M., Liu, Y., Shan, C. H., Yang, X. Q., Zhang, Q., Xu, N., ... & Song, W. (2022). Effects of five extraction methods on total content, composition, and stability of flavonoids in jujube. *Food Chemistry: X*, 14, 100287.
- 134) Lorenzo, M. E., Gómez, P. E., Sabatino, E., Segovia, A. F., Figueroa, L. C., & Baroni, M. V. (2020, November). Phenolic profile and antioxidant activity of ethanolic extract of *Larrea cuneifolia* Cav. leaves. In *Proceedings* (Vol. 70, No. 1, p. 37). MDPI.
- 135) Ma, X., Liu, D., Tang, H., Wang, Y., Wu, T., Li, Y., ... & Zhang, F. (2013). Purification and characterization of a novel antifungal protein with antiproliferation and anti-HIV-1 reverse transcriptase activities from *Peganum harmala* seeds. *Acta Biochim Biophys Sin*, 45(2), 87-94.
- 136) Maamar Sameut, Y. (2021). Étude ethnobotanique dans le sud-est de Chlef (Algérie occidentale). *Agrobiologia*, 10(3), 2044-2061.
- 137) Machado-Carvalho, L., Martins, T., Aires, A., & Marques, G. (2023). Optimization of phenolic compounds extraction and antioxidant activity from *Inonotus hispidus* using ultrasound-assisted extraction technology. *Metabolites*, 13(4), 524.
- 138) MacIsaac, R. J., & Jerums, G. (2004). Clinical indications for thiazolidinediones. *Australian Prescriber*, 27(3).

- 139) Maclouf, J., Grassi, J., & Pradelles, P. (1987). Development of enzyme-immunoassay techniques for measurement of eicosanoids. In *Prostaglandin and Lipid Metabolism in Radiation Injury* (pp. 355-364). Boston, MA: Springer US.
- 140) MacMicking, J., Xie, Q. W., & Nathan, C. (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annual review of immunology*, 15(1), 323-350.
- 141) Majid, A. (2018). A review study of the chemical constituents and therapeutic effects of *Peganum harmala L.* *Global J Pure Appl Chem Res*, 6(2), 12-9.
- 142) Mamelak, M. (2007). Alzheimer's disease, oxidative stress and gammahydroxybutyrate. *Neurobiology of aging*, 28(9), 1340-1360.
- 143) Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3), 411-420.
- 144) Marco, G. J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45(9), 594-598.
- 145) Martono, Y., Yanuarsih, F. F., Aminu, N. R., & Muninggar, J. (2019, August). Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1307, No. 1, p. 012014). IOP Publishing.
- 146) Marwat, S. K., & ur Rehman, F. (2011). Medicinal and pharmacological potential of harmala (*Peganum harmala L.*) seeds. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* (pp. 585-599). Academic Press.
- 147) Mateos, R., Madrona, A., Pereira-Caro, G., Domínguez, V., Cert, R. M., Parrado, J., ... & Espartero, J. L. (2015). Synthesis and antioxidant evaluation of isochroman-derivatives of hydroxytyrosol: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, 173, 313-320.
- 148) Maulidiani, M., Mediani, A., Abas, F., Park, Y. S., Park, Y. K., Kim, Y. M., & Gorinstein, S. (2018). ¹H NMR and antioxidant profiles of polar and non-polar extracts of persimmon (*Diospyros kaki L.*)—metabolomics study based on cultivars and origins. *Talanta*, 184, 277-286.
- 149) Medina, M., & Avila, J. (2014). The role of extracellular Tau in the spreading of neurofibrillary pathology. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 113.
- 150) Metodiewa, D., Kochman, A., & Karolczak, S. (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N, N-Diethylaminoethyl ethers of flavone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life*, 41(5), 1067-1075.

- 151) Meziat, L., Bachir-bey, M., Bensouici, C., Saci, F., Boutiche, M., & Louaileche, H. (2021). Assessment of inhibitory properties of flavonoid-rich fig (*Ficus carica L.*) peel extracts against tyrosinase, α -glucosidase, urease and cholinesterases enzymes, and relationship with antioxidant activity. *European Journal of Integrative Medicine*, 43, 101272.
- 152) Michaels, M. L., Cruz, C., Grollman, A. P., & Miller, J. H. (1992). Evidence that MutY and MutM combine to prevent mutations by an oxidatively damaged form of guanine in DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(15), 7022-7025.
- 153) Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- 154) Mittal, A., Vashistha, V. K., & Das, D. K. (2022). Recent advances in the antioxidant activity and mechanisms of chalcone derivatives: a computational review. *Free Radical Research*, 56(5-6), 378-397.
- 155) Moazeni, M., Saadaty Ardakani, Z. S., Saharkhiz, M. J., Jalaei, J., Khademolhoseini, A. A., Shams Esfand Abad, S., & Mootabi Alavi, A. (2017). In vitro ovicidal activity of *Peganum harmala* seeds extract on the eggs of *Fasciola hepatica*. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(2), 467-472.
- 156) Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M. H., & Shayegh, J. (2013). Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy reviews*, 7(14), 199.
- 157) Mosihuzzman, M., Naheed, S., Hareem, S., Talib, S., Abbas, G., Khan, S. N., ... & Israr, M. (2013). Studies on α -glucosidase inhibition and anti-glycation potential of *Iris loczyi* and *Iris unguicularis*. *Life sciences*, 92(3), 187-192.
- 158) Moteriya, P., Padalia, H., Pande, J., Ram, J., & Chanda, S. (2017). Superoxide radical scavenging activity and reducing capacity assessment of some important medicinal plants of Gujarat, India. *OSR-JPB*, 12, 41-50.
- 159) Mounira, D., Abdelouahab, D., Widad, F., Riadh, B. M., Farid, B., & Ahmed, B. (2022). Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities of *Peganum harmala L.* extracts. *Biotechnologia Acta*, 15(1), 61-71.
- 160) Moussa, T. A., & Almaghrabi, O. A. (2016). Fatty acid constituents of *Peganum harmala* plant using Gas Chromatography–Mass Spectroscopy. *Saudi journal of biological sciences*, 23(3), 397-403.
- 161) Mulvihill, E. E., & Drucker, D. J. (2014). Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocrine reviews*, 35(6), 992-1019.
- 162) Naimi, I., Zefzoufi, M., Bouamama, H., & M'hamed, T. B. (2022). Chemical composition and repellent effects of powders and essential oils of *Artemisia absinthium*, *Melia azedarach*, *Trigonella foenum-graecum*, and *Peganum harmala* on *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Industrial Crops and Products*, 182, 114817.

- 163) Nait Marzoug, A., Khaldi, F., Ayari, A., Gali, L., & Gheid, A. (2023). Antioxidant and Anticholinesterase Effects of Methanol Extract, and Consecutive Fractions of *Peganum harmala* L. *Egyptian Journal of Chemistry*, 66(6), 431-440.
- 164) Nanjan, M. J., Mohammed, M., Kumar, B. P., & Chandrasekar, M. J. N. (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. *Bioorganic chemistry*, 77, 548-567.
- 165) Nasibova, T., & Garaev, E. (2021). Potential anti-Alzheimer alkaloids of *Peganum harmala*. *Alzheimer's & Dementia*, 17, e056722.
- 166) Negi, R., Pande, D., Karki, K., Kumar, A., Khanna, R. S., & Khanna, H. D. (2012). Trace elements and antioxidant enzymes associated with oxidative stress in the pre-eclamptic/eclamptic mothers during fetal circulation. *Clinical nutrition*, 31(6), 946-950.
- 167) Neto, R. T., Marçal, C., Queirós, A. S., Abreu, H., Silva, A. M., & Cardoso, S. M. (2018). Screening of *Ulva rigida*, *Gracilaria* sp., *Fucus vesiculosus* and *Saccharina latissima* as Functional Ingredients. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 2987.
- 168) Ni, M., Hu, X., Gong, D., & Zhang, G. (2020). Inhibitory mechanism of vitexin on α -glucosidase and its synergy with acarbose. *Food Hydrocolloids*, 105, 105824.
- 169) Nugteren, D. H., & Hazelhof, E. (1973). Isolation and properties of intermediates in prostaglandin biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 326(3), 448-461.
- 170) O'Leary, K. A., de Pascual-Tereasa, S., Needs, P. W., Bao, Y. P., O'Brien, N. M., & Williamson, G. (2004). Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 551(1-2), 245-254.
- 171) Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., & Ademiluyi, A. O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 26(2), 165-170.
- 172) O'brien, R. J., & Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual review of neuroscience*, 34(1), 185-204.
- 173) Oguntibeju, O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 11(3), 45.

- 174) Otto-Buczowska, E., & Jainta, N. (2017). Pharmacological treatment in diabetes mellitus type 1—insulin and what else?. *International journal of endocrinology and metabolism*, 16(1), e13008.
- 175) Ouachinou, J. M. A. S., Dassou, G. H., Agbankpé, A. J., Koudoro, Y. A., Agbangnan, P., Triana, N. H., ... & Adomou, A. C. (2022). Variation of secondary metabolite contents and activities against bovine diarrheal pathogens among Zygophyllaceae species in Benin and implications for conservation. *Planta Medica*, 88(03/04), 292-299.
- 176) Ozenda, P. (1991). Flora and vegetation of the Sahara In: CNRS. *Record Number: 19926785765*.
- 177) Pari, K., Sundari, C. S., Chandani, S., & Balasubramanian, D. (2000). β -Carbolines that accumulate in human tissues may serve a protective role against oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 275(4), 2455-2462.
- 178) Pereira, O. R., Catarino, M. D., Afonso, A. F., Silva, A. M., & Cardoso, S. M. (2018). *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* decoctions: Antioxidant activities and inhibition of carbohydrate and lipid metabolic enzymes. *Molecules*, 23(12), 3169.
- 179) Petruzza, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A. (2013). Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 14950-14973.
- 180) Petruzza, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A. (2013). Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 14950-14973.
- 181) Pradelles, P., Grassi, J., & Maclouf, J. (1985). Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. *Analytical Chemistry*, 57(7), 1170-1173.
- 182) Preiser, J. C. (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147-154.
- 183) Priscilla, D. H., Roy, D., Suresh, A., Kumar, V., & Thirumurugan, K. (2014). Naringenin inhibits α -glucosidase activity: A promising strategy for the regulation of postprandial hyperglycemia in high fat diet fed streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 210, 77-85.
- 184) Pryor, R., & Cabreiro, F. (2015). Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochemical Journal*, 471(3), 307-322.
- 185) Quinlan, G. J., Martin, G. S., & Evans, T. W. (2005). Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology*, 41(6), 1211-1219.

- 186) Qurtam, A. A., Mechchate, H., Es-Safi, I., Al-Zharani, M., Nasr, F. A., Noman, O. M., ... & Alqahtani, A. S. (2021). Citrus flavanone narirutin, *in vitro* and *in silico* mechanistic antidiabetic potential. *Pharmaceutics*, *13*(11), 1818.
- 187) Rachid, A., Rabah, D., Farid, L., Zohra, S. F., Houcine, B., & Nacéra, B. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of medicinal plants research*, *6*(10), 2041-2050.
- 188) Radjah, A., Chorfi, H., & Bouatrous, Y. (2019). Stage of development and solvent effects on Phytochemistry and antioxidant activity of three algerian plants. *Analele Univ din Oradea Fasc Biol*, *26*(2), 91-99.
- 189) Rajput, A., Sharma, R., & Bharti, R. (2022). Pharmacological activities and toxicities of alkaloids on human health. *Materials Today: Proceedings*, *48*, 1407-1415.
- 190) Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, *136*, 109298.
- 191) Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.
- 192) Revuelta, M., Urrutia, J., Villarroel, A., & Casis, O. (2022). Microglia-mediated inflammation and neural stem cell differentiation in Alzheimer's disease: possible therapeutic role of KV1. 3 channel blockade. *Frontiers in cellular neuroscience*, *16*, 868842.
- 193) Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, *22*(4), 375-383.
- 194) Riddle, M. C., Cefalu, W. T., Evans, P. H., Gerstein, H. C., Nauck, M. A., Oh, W. K., ... & Twenefour, D. (2022). Consensus report: definition and interpretation of remission in type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *107*(1), 1-9.
- 195) Ritter, K., Buning, C., Halland, N., Pöverlein, C., & Schwink, L. (2016). G protein-coupled receptor 119 (GPR119) agonists for the treatment of diabetes: recent progress and prevailing challenges. *Journal of medicinal chemistry*, *59*(8), 3579-3592.
- 196) Robak, J., & Gryglewski, R. J. (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology*, *37*(5), 837-841.

- 197) Rosak, C., & Mertes, G. (2012). Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 357-367.
- 198) Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of lipid research*, 50, S29-S34.
- 199) Roy, S., Roy, S. C., Zehravi, M., Sweilam, S. H., Das, R., Palanisamy, M., ... & Emran, T. B. (2025). Exploring the neuroprotective benefits of phytochemicals extracted from indigenous edible fruits in Bangladesh. *Animal Models and Experimental Medicine*, 8(2), 239-265.
- 200) Rubnawaz, S., Okla, M. K., Akhtar, N., Khan, I. U., Bhatti, M. Z., Duong, H. Q., ... & Mirza, B. (2021). Antibacterial, antihemolytic, cytotoxic, anticancer, and antileishmanial effects of *Ajuga bracteosa* transgenic plants. *Plants*, 10(9), 1894.
- 201) Safiri, S., Noori, M., Nejadghaderi, S. A., Mousavi, S. E., Sullman, M. J., Araj-Khodaei, M., ... & Gharagozli, K. (2023). The burden of Alzheimer's disease and other types of dementia in the Middle East and North Africa region, 1990–2019. *Age and ageing*, 52(3), afad042.
- 202) Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- 203) Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., & Sharma, P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale pharmaceutica scientia*, 1(1), 25-41.
- 204) Seaver, B., & Smith, J. R. (2004). Inhibition of COX isoforms by nutraceuticals. *Journal of herbal pharmacotherapy*, 4(2), 11-18.
- 205) Selkoe, D. J. (1991). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6(4), 487-498.
- 206) Senhaji, S., Lamchouri, F., Boulfia, M., Lachkar, N., Bouabid, K., & Toufik, H. (2022). Mineral composition, content of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. *South African Journal of Botany*, 147, 697-712.
- 207) Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2021). Improving health benefits with considering traditional and modern health benefits of *Peganum harmala*. *Clinical Phytoscience*, 7(1), 18.
- 208) Sharma, A., Sharma, A., Wahengbam, S., Cooper, R., Singh, H., & Bhardwaj, G. (2022). Overview of Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Peganum Harmala* L. In *Frontiers in Natural Product Chemistry* (pp. 95-124). Bentham Science Publishers.

- 209) Simmons, L. R., Molyneaux, L., Yue, D. K., & Chua, E. L. (2012). Steroid-induced diabetes: is it just unmasking of type 2 diabetes?. *International Scholarly Research Notices*, 2012(1), 910905.
- 210) Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants—A review. *Journal of pharmacy research*, 7(9), 828-835.
- 211) Smith, P. E., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M., ... & Klenk, D. C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical biochemistry*, 150(1), 76-85.
- 212) Soliman, A. M., & Fahmy, S. R. (2011). Protective and curative effects of the 15 KD isolated protein from the *Peganum harmala L.* seeds against carbon tetrachloride induced oxidative stress in brain, tests and erythrocytes of rats. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 15(8).
- 213) Spears, J. W., & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 70-76.
- 214) Sreejayan, X. X., & Rao, M. N. A. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of pharmacy and Pharmacology*, 49(1), 105-107.
- 215) Sridhar, G. R. (2022). Acetylcholinesterase inhibitors (galantamine, rivastigmine, and donepezil). In *NeuroPsychopharmacotherapy* (pp. 2709-2721). Cham: Springer International Publishing.
- 216) Sulis, P. M., Dambrós, B. F., Mascarello, A., Dos Santos, A. R. S., Yunes, R. A., Nunes, R. J., ... & Barreto Silva, F. R. M. (2019). Sulfonyl (thio) urea derivative induction of insulin secretion is mediated by potassium, calcium, and sodium channel signal transduction. *Journal of cellular physiology*, 234(7), 10138-10147.
- 217) Sultana, N., Saini, P. K., Kiran, S. R., & Kanaka, S. (2023). Exploring the antioxidant potential of medicinal plant species: A comprehensive review. *Journal of Plant Biota*, 2(2).
- 218) Sun, Q., Liu, C., Jiang, K., Fang, Y., Kong, C., Fu, J., & Liu, Y. (2021). A preliminary study on the neurotoxic mechanism of harmine in *Caenorhabditis elegans*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 245, 109038.
- 219) Syed, FZ. (2022). Type 1 diabetes mellitus. *Annals of internal medicine*, vol. 175, no 3, p. ITC33-ITC48.
- 220) Tan, C. C., Yu, J. T., Wang, H. F., Tan, M. S., Meng, X. F., Wang, C., ... & Tan, L. (2014). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 41(2), 615-631.

- 221) Tejchman, K., Kotfis, K., & Sieńko, J. (2021). Biomarkers and mechanisms of oxidative stress—last 20 years of research with an emphasis on kidney damage and renal transplantation. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 8010.
- 222) Telli, A., Esnault, M. A., & Khelil, A. O. E. H. (2016). An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of arid environments*, 127, 82-92.
- 223) Tshiyoyo, K. S., Bester, M. J., Serem, J. C., & Apostolides, Z. (2022). In-silico reverse docking and in-vitro studies identified curcumin, 18 α -glycyrrhetic acid, rosmarinic acid, and quercetin as inhibitors of α -glucosidase and pancreatic α -amylase and lipid accumulation in HepG2 cells, important type 2 diabetes targets. *Journal of Molecular Structure*, 1266, 133492.
- 224) Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4-14.
- 225) Vadde, R., & Amooru, D. G. (2018). Mohan Penumala1, Raveendra Babu Zinka1, Jeelan Basha Shaik1, Suresh Kumar Reddy Mallepalli.
- 226) Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- 227) Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., & Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- 228) Vallon, V. (2024). State-of-the-art-review: mechanisms of action of SGLT2 inhibitors and clinical implications. *American Journal of Hypertension*, 37(11), 841-852.
- 229) Velloso, J. C. R., Regasini, L. O., Khalil, N. M., Bolzani, V. D. S., Khalil, O. A., Manente, F. A., ... & Oliveira, O. M. (2011). Antioxidant and cytotoxic studies for kaempferol, quercetin and isoquercitrin. *Eclética química*, 36, 07-20.
- 230) Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds: a practical guide. In *Phenolic compound biochemistry* (pp. 151-196). Dordrecht: Springer Netherlands.
- 231) Vounzoulaki, E., Khunti, K., Abner, S. C., Tan, B. K., Davies, M. J., & Gillies, C. L. (2020). Progression to type 2 diabetes in women with a known history of gestational diabetes: systematic review and meta-analysis. *Bmj*, 369.

- 232) Wang, M., Jiang, J., Tian, J., Chen, S., Ye, X., Hu, Y., & Chen, J. (2019). Inhibitory mechanism of novel allosteric inhibitor, Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) leaves proanthocyanidins against α -glucosidase. *Journal of Functional Foods*, 56, 286-294.
- 233) Wang, P., Bai, H. W., & Zhu, B. T. (2010). Structural basis for certain naturally occurring bioflavonoids to function as reducing co-substrates of cyclooxygenase I and II. *PLoS One*, 5(8), e12316.
- 234) Wang, X., Feng, S., Deng, Q, et al. (2024). The role of estrogen in Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic potential in women. *Molecular and Cellular Biochemistry*, p. 1-16.
- 235) Watanabe, K., Kinoshita, H., Okamoto, T., Sugiura, K., Kawashima, S., & Kimura, T. (2025). Antioxidant Properties of Albumin and Diseases Related to Obstetrics and Gynecology. *Antioxidants*, 14(1), 55.
- 236) Wickramaratne, M. N., Punchihewa, J. C., & Wickramaratne, D. B. M. (2016). *In vitro* alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of *Adenantha pavonina*. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 466.
- 237) Wilkins, H. M., & Swerdlow, R. H. (2017). Amyloid precursor protein processing and bioenergetics. *Brain research bulletin*, 133, 71-79.
- 238) Wintola, O. A., & Afolayan, A. J. (2011). Phytochemical constituents and antioxidant activities of the whole leaf extract of *Aloe ferox* Mill. *Pharmacognosy magazine*, 7(28), 325.
- 239) Xie, W. L., Chipman, J. G., Robertson, D. L., Erikson, R. L., & Simmons, D. L. (1991). Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(7), 2692-2696.
- 240) Yang, Y., Cheng, X., Liu, W., Chou, G., Wang, Z., & Wang, C. (2015). Potent AChE and BChE inhibitors isolated from seeds of *Peganum harmala* Linn by a bioassay-guided fractionation. *Journal of ethnopharmacology*, 168, 279-286.
- 241) Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology and medicine*, 33(3), 337-349.
- 242) Zemek, F., Drtinova, L., Nepovimova, E., Sepsova, V., Korabecny, J., Klimes, J., & Kuca, K. (2014). Outcomes of Alzheimer's disease therapy with acetylcholinesterase inhibitors and memantine. *Expert opinion on drug safety*, 13(6), 759-774.
- 243) Zhang, C., Feng, M., Chitrakar, B., Yang, F., Wei, B., Wang, B., ... & Xu, B. (2024). *In vitro* inhibitory mechanism of polyphenol extracts from multi-frequency power ultrasound-pretreated rose flower against α -glucosidase. *Foods*, 13(21), 3421.

- 244) Zhang, M., Yang, R., Yu, S., & Zhao, W. (2022). A novel α -glucosidase inhibitor polysaccharide from *Sargassum fusiforme*. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 67-77.
- 245) Zhang, W., Lan, Y., Dang, B., Zhang, J., Zheng, W., Du, Y., ... & Li, Z. (2023). Polyphenol profile and *in vitro* antioxidant and enzyme inhibitory activities of different solvent extracts of highland barley bran. *Molecules*, 28(4), 1665.
- 246) Zhao, G. R., Zhang, H. M., Ye, T. X., Xiang, Z. J., Yuan, Y. J., Guo, Z. X., & Zhao, L. B. (2008). Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of danshensu and salvianolic acid B. *Food and Chemical Toxicology*, 46(1), 73-81.
- 247) Zhao, T., Ding, K. M., Zhang, L., Cheng, X. M., Wang, C. H., & Wang, Z. T. (2013). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of β -carboline and quinoline alkaloids derivatives from the plants of genus *Peganum*. *Journal of Chemistry*, 2013(1), 717232.
- 248) Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q. (2023). The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. *Antioxidants*, 12(9), 1675.
- 249) Zheng, X. Y., Zhang, Z. J., Chou, G. X., Wu, T., Cheng, X. M., Wang, C. H., & Wang, Z. T. (2009). Acetylcholinesterase inhibitive activity-guided isolation of two new alkaloids from seeds of *Peganum nigellastrum* Bunge by an *in vitro* TLC-bioautographic assay. *Archives of pharmacal research*, 32(9), 1245-1251.
- 250) Zheng, Y., Tian, J., Yang, W., Chen, S., Liu, D., Fang, H., ... & Ye, X. (2020). Inhibition mechanism of ferulic acid against α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*, 317, 126346.
- 251) Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- 252) Zhou, B., Rayner, A. W., Gregg, E. W., Sheffer, K. E., Carrillo-Larco, R. M., Bennett, J. E., ... & Can, G. (2024). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *The Lancet*, 404(10467), 2077-2093.
- 253) Zhou, X. L., Li, S. B., Yan, M. Q., Luo, Q., Wang, L. S., Shen, L. L., ... & Liang, C. Q. (2021). Bioactive dammarane triterpenoid saponins from the leaves of *Cyclocarya paliurus*. *Phytochemistry*, 183, 112618.
- 254) Zhu, G., Luo, Y., Xu, X., Zhang, H., & Zhu, M. (2019). Anti-diabetic compounds from the seeds of *Psoralea corylifolia*. *Fitoterapia*, 139, 104373.
- 255) Zhu, J., Zhang, B., Tan, C., & Huang, Q. (2019). α -Glucosidase inhibitors: consistency of *in silico* docking data with *in vitro* inhibitory data and inhibitory effect prediction of quercetin derivatives. *Food & Function*, 10(10), 6312-6321.

- 256) Zhu, J., Song, L., Shen, S., Fu, W., Zhu, Y., & Liu, L. (2023). Bioactive alkaloids as secondary metabolites from plant endophytic *Aspergillus* genus. *Molecules*, 28(23), 7789.
- 257) Zou, C. G., Agar, N. S., & Jones, G. L. (2001). Oxidative insult to human red blood cells induced by free radical initiator AAPH and its inhibition by a commercial antioxidant mixture. *Life Sciences*, 69(1), 75-86.
- 258) Zuorro, A., Iannone, A., & Lavecchia, R. (2019). Water–organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers' spent grain. *Processes*, 7(3), 126.

Annexes

Annexe 1 : Protocole l'activité inhibitrices des enzymes Cox 1 et Cox 2 par les extraits de *Peganum harmala* selon le kit Cayman

Test *in vitro* d'inhibition de la COX-1 et de la COX-2

L'activité inhibitrice des différents extraits fractionnés a été déterminée à l'aide du kit de dépistage de l'inhibition de la COX (humaine) disponible dans le commerce (référence 701230, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, États-Unis) conformément aux instructions du fabricant. Les échantillons de référence ont été préparés pour la COX 1 (ovine) et la COX 2 (humaine recombinante) en transférant 20 µL de COX 1 et COX 2 diluées dans des tubes à essai séparés et en les plaçant dans de l'eau bouillante pendant 3 minutes. Ces enzymes inactivées seront utilisées pour générer les valeurs de référence. Après 3 minutes, 10 µL d'enzyme inactive, 10 µL d'hème et 160 µL de tampon de réaction ont été ajoutés dans deux tubes à essai identifiés comme COX 1 de fond et COX 2 de fond. Ensuite, des tubes d'activité initiale à 100 % ont été préparés pour la COX 1 et la COX 2 en ajoutant 160 µL de tampon de réaction, 10 µL d'hème et 10 µL de COX 1 ou COX 2 diluée dans deux tubes de réaction. Les tubes inhibiteurs ont été préparés pour les extraits fractionnés en ajoutant 160 µL de tampon de réaction, 10 µL d'hème, 10 µL de COX 1 ou COX 2 dilué et 10 µL de l'échantillon. À leur tour, pour les tubes à activité initiale de 100 % et les tubes témoins, 10 µL supplémentaires de DMSO ont été ajoutés. Toutes les solutions ont été incubées pendant 10 minutes à 37 °C.

Après l'incubation, 10 µL d'acide arachidonique ont été ajoutés à tous les tubes à essai pour déclencher la réaction, rapidement mélangés, puis incubés pendant exactement 30 secondes à 37 °C. Enfin, 30 µL de solution de chlorure stanneux ont été ajoutés à chaque tube à réaction pour arrêter la catalyse enzymatique, vortexés, incubés pendant 5 minutes à température ambiante et conservés entre 0 et 4 °C.

Pour préparer les étalons de dépistage des prostaglandines, l'étalon ELISA lyophilisé de dépistage des PG (référence 414026) a été dissous dans 1 mL de tampon ELISA, la concentration de cet étalon en vrac étant de 10 ng/ml. Huit tubes à essai, numérotés de S1 à S8, ont ensuite été préparés en transférant 200 µL de l'étalon en vrac (10 ng/mL) et 800 µL de tampon ELISA dans le tube S1. Après la préparation de S1, les autres étalons (S2 à S8) ont été préparés en transférant en série 500 µL du tube précédent vers le suivant, en diluant toujours avec 500 µL de tampon ELISA et en mélangeant soigneusement.

En ce qui concerne les dilutions pour les réactions COX, deux tubes à essai nommés BC1 et BC2 ont été préparés, dans lesquels 10 µL de COX 1 ou COX 2 de fond ont été dissous dans 990 µL de tampon ELISA et mélangés soigneusement. Des échantillons d'activité initiale COX 100 % ont été préparés sous la forme de trois tubes à essai pour COX 1 et COX 2, numérotés IA1 à IA3. Pour le premier échantillon (IA1), 10 µL d'échantillon d'activité initiale COX-1 ou COX-2 100 % ont été dilués dans 990 µL de tampon ELISA et mélangés soigneusement. Pour les autres échantillons (IA2 et IA3), 50 µL du tube IA1 ont été dissous dans 950 µL de tampon ELISA (IA2, dilution 1:2000) et 500 µL du tube à essai IA2 ont été dissous dans 500 µL de tampon ELISA (IA3, dilution 1:4000). De la même manière, les échantillons d'inhibiteurs de la COX ont été préparés par des dilutions supplémentaires et nommés C1eC3 pour chaque concentration.

Après avoir préparé toutes les dilutions, celles-ci ont été introduites dans une plaque à 96 puits. Les puits ont été répartis comme suit : blanc-1A ; 1B, NSB (liaison non spécifique)-1C ; 1D, Bo (liaison maximale)-1E-1G et TA (puits d'activité totale)-1H. Les puits 2A-2H ont été utilisés pour S1-S8 et 3A-3H pour les duplicatas S1-S8. Les puits 4A et 5A ont été préparés comme BC1 et son duplicata. De même, les puits 4B et 5B ont été préparés pour BC2. Les puits restants ont été utilisés pour les échantillons inhibiteurs pour COX 1 et COX 2.

L'ajout des réactifs sur la plaque à 96 puits a été effectué comme suit :

100 µL de tampon ELISA ont été ajoutés au puits NSB et 50 µL de tampon ELISA ont été ajoutés au puits Bo. 50 µL de standard de dépistage PG ont été ajoutés aux puits respectifs S1-S8 à partir de leurs tubes à essai respectifs S1-S8 et dupliqués. 50 µL de BC1 et BC2 ont été ajoutés par puits et en double. 50 µL d'échantillons d'activité initiale à 100 % ont été ajoutés par puits et seuls IA2 et IA3 ont été testés en double pour COX 1 et COX 2. 50 µL d'échantillon d'inhibiteur COX ont été ajoutés par puits à partir de leurs dilutions respectives (seuls C2 et C3 ont été testés). 50 µL de traceur AChE de criblage PG ont été ajoutés à chaque puits, à l'exception des puits TA et Blank. Enfin, 50 µL d'antisérum ELISA de criblage PG ont été ajoutés à chaque puits, à l'exception des puits TA, NSB et Blank. La plaque a ensuite été recouverte d'un film plastique et incubé pendant 18 heures à température ambiante. Après

incubation, la plaque a été développée en vidant les puits et en les rinçant cinq fois avec un tampon de lavage. Après le lavage des puits, 200 μ L de réactif d'Ellman ont été ajoutés à chaque puits et 5 mL de traceur ont été ajoutés au puits d'activité totale. La plaque a été recouverte d'un film plastique et conservée pendant 60 à 90 minutes. Avant la lecture de la plaque, celle-ci a été essuyée à partir du bas afin d'éliminer toute empreinte digitale, puis mesuré à 420.

Annexe 2 : Les valeurs r de corrélation de Pearson entre les activités biologiques

Correlation Pearson r	A	B	C	D	E
	CI ₅₀ DPPH	CE ₅₀ FRAP	CI ₅₀ ABTS	CI ₅₀ AChE	CI ₅₀ BChE
CI ₅₀ DPPH	1.000	0.856	0.438	0.205	0.023
CE ₅₀ FRAP	0.856	1.000	0.150	-0.057	-0.282
CI ₅₀ ABTS	0.438	0.150	1.000	0.408	0.224
CI ₅₀ AChE	0.205	-0.057	0.408	1.000	0.906
CI ₅₀ BChE	0.023	-0.282	0.224	0.906	1.000
CI ₅₀ α-Glucosidase	0.685	0.449	0.336	0.076	0.197
CI ₅₀ Oxyde nitrique	0.180	0.210	-0.380	-0.226	-0.059
CI ₅₀ Superoxyde	-0.321	-0.069	-0.289	-0.665	-0.479
CI ₅₀ Blanchiment de β- Carotène	0.295	0.110	0.431	0.613	0.589
CI ₅₀ Antihémolytique	0.006	-0.301	0.336	0.106	0.133
Polyphénols totaux	-0.406	-0.250	0.127	0.203	0.086
Flavonoïdes totaux	-0.404	-0.627	-0.362	0.222	0.499
Flavonols totaux	0.371	0.280	0.739	0.158	0.057
Harmine	0.410	0.454	-0.004	-0.531	-0.516
Harmaline	-0.106	-0.160	0.105	0.319	0.137
Quercétine dimethyl-éther	-0.615	-0.709	0.139	0.071	0.058

Correlation Pearson r	F	G	H	I	J
	CI ₅₀ α-Glucosidase	CI ₅₀ Oxyde nitrique	CI ₅₀ Superoxyde	CI ₅₀ Blanchiment de β- Carotène	CI ₅₀ Antihémolytique
CI ₅₀ DPPH	0.685	0.180	-0.321	0.295	0.006
CE ₅₀ FRAP	0.449	0.210	-0.069	0.110	-0.301
CI ₅₀ ABTS	0.336	-0.380	-0.289	0.431	0.336
CI ₅₀ AChE	0.076	-0.226	-0.665	0.613	0.106
CI ₅₀ BChE	0.197	-0.059	-0.479	0.589	0.133
CI ₅₀ α-Glucosidase	1.000	0.365	-0.054	0.515	0.032
CI ₅₀ Oxyde nitrique	0.365	1.000	0.373	-0.099	-0.589
CI ₅₀ Superoxyde	-0.054	0.373	1.000	-0.590	-0.187
CI ₅₀ Blanchiment de β- Carotène	0.515	-0.099	-0.590	1.000	-0.138
CI ₅₀ Antihémolytique	0.032	-0.589	-0.187	-0.138	1.000
Polyphénols totaux	-0.463	0.046	0.025	0.188	-0.603
Flavonoïdes totaux	-0.041	-0.177	-0.223	0.026	0.507
Flavonols totaux	0.381	-0.337	-0.071	0.377	0.010
Harmine	0.193	-0.397	0.462	-0.439	0.402
Harmaline	-0.363	0.561	-0.156	0.063	-0.638
Quercétine dimethyl-éther	-0.543	0.286	-0.270	0.020	-0.079

Annexe 3 : Les valeurs r de corrélation de Pearson entre les activités biologiques et les composés majeurs

Correlation Pearson r	K	L	M	N	O	P
	Polyphénols totaux	Flavonoides totaux	Flavonols totaux	Harmine	Harmaline	Quercétine dimethyl-éther
CI50 DPPH	-0.406	-0.404	0.371	0.410	-0.106	-0.615
CE ₅₀ FRAP	-0.250	-0.627	0.280	0.454	-0.160	-0.709
CI ₅₀ ABTS	0.127	-0.362	0.739	-0.004	0.105	0.139
CI ₅₀ AChE	0.203	0.222	0.158	-0.531	0.319	0.071
CI ₅₀ BChE	0.086	0.499	0.057	-0.516	0.137	0.058
CI ₅₀ α-Glucosidase	-0.463	-0.041	0.381	0.193	-0.363	-0.543
CI ₅₀ Oxyde nitrique	0.046	-0.177	-0.337	-0.397	0.561	0.286
CI ₅₀ Superoxyde	0.025	-0.223	-0.071	0.462	-0.156	-0.270
CI ₅₀ Blanchiment de β- Carotène	0.188	0.026	0.377	-0.439	0.063	0.020
CI ₅₀ Antihémolytique	-0.603	0.507	0.010	0.402	-0.638	-0.079
Polyphénols totaux	1.000	-0.437	0.112	-0.649	0.772	0.519
Flavonoides totaux	-0.437	1.000	-0.391	0.093	-0.524	-0.018
Flavonols totaux	0.112	-0.391	1.000	0.349	-0.020	-0.356
Harmine	-0.649	0.093	0.349	1.000	-0.754	-0.879
Harmaline	0.772	-0.524	-0.020	-0.754	1.000	0.751
Quercétine dimethyl-éther	0.519	-0.018	-0.356	-0.879	0.751	1.000