

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE LA NATURE DE LA VIE

N°:

DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

**Du diplôme de Master Académique**

Par :

**AOUNE Marouane , TIHAR Ranya , BOUNOUIGUA Yousra.**

**Intitulé :**

**Evaluation de l'activité biologique des différents  
extraits de la plantes *Péganum Harmala L.***

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. HADJI Abbas      MAA      Université M'sila      Président

Dr. BELKASSAM Abdelouahab      MCA Université M'sila      Rapporteur

Dr. BISKRI Mohamed      MAA Université M'sila      Examineur

Année universitaire :      2021      /2022

# *Remerciements*

Nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la volonté et le courage pour réaliser notre mémoire. Nos sincères remerciements et nos profondes reconnaissances vont à nos directeurs de Mémoire *Dr. BELKASSAM*

*Abdelouahab*, Sans lui ce travail n'existerait tout simplement pas.

Nous tenons à lui exprimer ici toutes nos gratitude pour nous avoir accueilli dans son groupe de recherche, et pour nous avoir permis de mener avec succès ce travail de mémoire. Ses compétences scientifiques, ses qualités humaines, sa disponibilité et son aide précieuse au quotidien en font un cadre exceptionnel. Nous le remercions aussi pour l'autonomie qu'il nous a accordé pendant nos travaux de recherche, tout en restant disponible, nous permettant ainsi de réaliser ce travail dans les meilleures conditions possibles. Nous remercions aussi le *Dr.*

*BELKASSAM Abdelouahab*, nous le remercions tout spécialement pour nous avoir encouragé

Nous voudrions remercier aussi les membres du jury *Dr. HADJI Abbas* et

*Dr. BISKRI Mohamed* qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce travail. Nos profonds remerciements vont également à chef de département Professeur

*Dr. BOUNNAR Rabah* et à nos enseignants, ainsi qu'à tous les membres du Département de biologie, aussi nous remercions les ingénieurs des labos des biologies qu'il nous a aidé et donné des expériences et des soutiens pour la réussite

de notre travail. Nous remercieront enfin à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

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

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,*

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

*C'est tout simplement que Je dédie ce Travail...*

*A mon père [Mustapha](#) et ma mère [Saliha](#)*

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

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

*Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, Bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive. A mon frère [Rafik](#) et sa femme [Sabrina](#), ma jolie sœur [Ilham](#) et son mari [Abdelkader](#) et [Khalti Fatiha](#) et son fils [Sami](#) et [Salim](#) et [Amine](#) ET à toute nos familles et à leur enfant les plus beaux [Wissem](#), [Rayane](#) et [Najem](#).*

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

*ET à mes chers amis [Hicham](#), [Ala-eddine](#), [Nour-islam](#), [Yanis](#), [Abdenour](#), [Ihab](#), [Rabeh](#), [Abdou](#), [Mahmoud](#), [Hani](#), [Miloud](#), [Akram](#), [Djouher](#), [Idriss](#), [Djoumana](#) et à tous ceux qui connaissent notre famille*

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

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

**Marouane**

## *Dédicace*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin et donnée  
Le courage et la volonté pour achever ce travail Je dédie ce modeste travail.*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur  
De ma vie mon père **Abd El Hamid** qui M'apporté son appui durant toutes mes  
années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui M'ont*

*Donné confiance et courage.*

*A ma chère maman **Merzaka***

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute  
permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma  
vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous **MES CHER PARENTS** que je le  
dois, que Dieu vous garde.*

*A mes très chères sœurs **Ikram, Rima** et mes chers frères **Walid, Oussama,  
Khaled** pour leur soutien*

*Et leurs Encouragements Tout au long de la réalisation de ce travail.*

*A toute ma famille **Tihar** et **Arioua***

*A mes meilleures amies qui m'encourage*

*Beaucoup **Bouchra,Isra.** Et mes chères cousines **Sabrina,Aya, Amira, Megdouda**  
Et qui étaient avec moi dans ce travail **Marouane** et **Youssra.***

*Et ceux qui m'ont accompagné pendant mon parcours universitaire*

*A toute personne qui me connaît.*

# Dédicace

*Mes remerciements vont avant tout à mon Dieu, créateur pour cette  
faveur qu'il a bien voulu m'accorder.*

*Je lui donne toute la Gloire et toute la Louange. Je dédie ce travail. A ma  
maman qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études. Qu'elle  
trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

*A ma famille, mes proches : **Bachar, Achour, Saleh,***

***Anoir, Mouhamed, Djamaa, Aicha, Nesrin, Djamel,** A mon frère  
**Oussama***

*A ma grand-mère : **Kalthoum** et **Wargou**, et à ceux qui me donnent de  
l'amour et de la vivacité.*

*Mes remerciements vont à mes Proches amis : **Nadjia, Hasna,**  
**Amira,** puisse*

*Dieu conserver notre amitié*

*Toute personne qui porte le nom **BOUNOUIGA** et **HERZI**, je dédie ce  
travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.*

*À quelqu'un que je pensais devoir être dans ce dédicace malgré ma  
courte connaissance de lui à **Azo***

*Aux enseignants de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie qui  
nous ont encadrés tout au long de ce cursus universitaire. A tous ceux  
que j'aime*

## Sommaire :

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Listes des tableaux	iv
Introduction:	1

### **PARTIE 1** :Partie bibliographie

#### **Présentation de la plante étudiée *Péganum harmale* L.3**

##### **I. La plante étudiée *Péganum harmale* L:3**

I.1. Description de la famille botanique Zygophyllaceae :	3
I.2. Répartition géographique de la famille Zygophyllaceae:	3
I.3. Le genre <i>Péganum</i> :	3
I.4. Systématique de la plante :	4
I.5. Description botanique de la plante <i>Péganum harmale</i> :	4
I.6. Nomenclature de la plante :	5
I.7. Utilisation de la plante <i>Péganum harmale</i> L :	6
I.8. Utilisation pharmacologiques:	7

##### **II. Métabolisme secondaire:10**

II.1. Les métabolites secondaires :	10
II.2. Généralités:	10
II.3. Fonction des métabolites secondaire :	10
II.4. Classification de métabolite secondaire :	11
II.5. Les composés phénoliques :	11
II.5.1. Les polyphénols :	11

II.5.2. Localisation:	12
II.5.3. Les tanins:	12
II.5.4. Les Flavonoïdes:	12
II.5.5. Les lignines et les lignanes :	13
II.5.6. Les Coumarines :	14

### **III. Activité biologique16**

III.1. Généralité:	16
III.2. Activité antioxydant:	16
III.2.1. Stress oxydatif:	16
III.2.2. Radicaux libres:	16
III.2.3. Les antioxydants:	17
III.2.4. Les antioxydants endogènes:	17
III.2.5. Les antioxydants exogènes:	18
III.3. Activité antibactérienne:	19
III.3.1. Les bacteries:	19

## **PARTIE 02** Partie experimental.

### **I. Matériel et méthode :22**

I.1. Macération :	22
I.1.1. Principe :	22
I.1.2. L'Objectif :	22
I.2. Matériel vegétale :	22
I.3. Préparation des extraits:	23
I.3.1. Préparation de l'Extraits bruts par l'extraction type solide-liquide (ESL) :	23
I.4. Fractionnement d'extrait hydrométhanolique par extraction type liquide-liquide (ELL) :	23
I.4.1. Extraction des Coumarines :	23
I.5. Rendements des extraits préparés :	26
I.6. Séparation sur couche mince (CCM) :	26

I.7. Activités biologiques :	27
I.7.1. Activité antioxydant :	27
I.7.2. Activité antibactérienne :	28
<b>II. Résultats et discussion :30</b>	
II.1 Rendements des extractions :	30
II.1.1 La macération :	30
II.2. Analyse quantitative d'extrait de la plante <i>Peganum harmala</i> L :	31
II.2.1. Chromatographie sur couche mince CCM des extraits :	31
II.3. Résultats des activités biologique de la plante <i>Peganum harmala</i> L :	35
II.3.1. Activité antioxydant :	35
III.3.2. Activité bactérienne :	38
Conclusion	41
Références bibliographiques :	42

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**GN** : Gélose nutritive

**HFG** : Hémoglobine

**EBG** : Extrait brut des graines

**EBF** : Extrait brut des feuilles

**CCM** : chromatographie sur couche mince.

**DPPH**: (2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl)

**FRAP ferric** reducing antioxydant power

**GABA** : ACIDE GAMMA-AMINO BUTYRIQUE

**PPAR $\gamma$**  : proliférateurs de peroxysomes Gamma.

**XO** : xanthine oxydase « enzyme ».

**SOD** : la superoxyde dismutase.

**CAT** : la catalase.

**GPx** : glutathion peroxydase.

**GSH** : oxydées en disulfure

**GR** : Glutathion réductase.

**GSSG** : Glutathion

**TEAC** : Capacité Antioxydante en Équivalent Trolox

**ORAC** :Oxygen Radical Absorbance Capacity

**EAT** : Extrait des alcaloïdes totaux

**EB** : extrait brut.

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

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Les fleurs et feuilles de la plante <i>Péganum harmala</i> (Weckesser, 2013).....	5
<b>Figure 2</b> Les fruits et les graines de la plante <i>Péganum harmala</i> (Weckesser, 2013).....	5
<b>Figure 3:</b> Structure d'unité de base des polyphénols (Ghnémé. 2005).....	11
<b>Figure 4 :</b> Structure de base des flavonoïdes (Ghnimi. 2015).....	12
<b>Figure 5 :</b> Structure des lignanes (Ghnimi. 2015). ....	13
<b>Figure 6 :</b> Structure des lignines (Ghnimi. 2015).....	13
<b>Figure 7:</b> Structure de base des Coumarines (Macheix et al, 2005).....	14
<b>Figure 8:</b> Les bactéries d' <i>E. coli</i> .....	20
<b>Figure 9:</b> Les bactéries de <i>Basilus</i> .....	20
<b>Figure 10:</b> Les bacteries de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	21
<b>Figure 11:</b> Les bacteries de <i>Staphylos</i> .....	21
<b>Figure 12:</b> La plante de <i>Peganum harmala</i> en période de florisation .....	22
<b>Figure 13:</b> Extraction liquide-liquide de Coumarine.....	24
<b>Figure 14:</b> Extraction EBG et de la Coumarine de la plante <i>Péganum harmala</i> L.....	25
<b>Figure 15:</b> Rendement des différents extraits de l'espèce <i>Péganum harmale</i> L.....	30
<b>Figure 16:</b> Les plaques de Sycilia (CCM). ....	32
<b>Figure 17 :</b> concentration d'inhibition 50 %.....	36
<b>Figure 18:</b> Les souches des bacteries <i>Bacillus</i> . ....	38
<b>Figure 19:</b> Les souches des bacteries <i>E.coli</i> .....	38
<b>Figure 20:</b> Les souches des bactéries <i>Pseudomonas aeurginosa</i> . ....	39
<b>Figure 21:</b> Les souches des bacteries <i>Staphyloccus aureus</i> . ....	39

En revanche, nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de *P. harmala* n'a aucun effet sur *Pseudomonas*. (**Figure 22**) ..... 40

## Listes des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote ( <b>Valko et al., 2007</b> ). .....	17
<b>Tableau 2</b> : Les concentrations de l'activité antioxydant:.....	27
<b>Tableau 3</b> : Les tests et codes des bacteries :.....	29
<b>Tableau 4</b> :Rendement et couleurs des extraits :.....	30
<b>Tableau 11</b> : Présenter la migration des spots: .....	32
<b>Tableau 12</b> : Présenter la migration des spots: .....	33
<b>Tableau 10</b> : Les résultats de <b>IC<sub>50</sub></b> :.....	35
<b>Tableau 5</b> : Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante <i>Péganum harmale</i> L. sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	39

# **Introduction**

## **Introduction:**

Pendant longtemps, l'homme s'est soigné avec les plantes à sa disposition. Au fil des siècles, la tradition humaine a développé la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour améliorer la santé humaine (**Iserin, 2001**).

L'Afrique du Nord possède l'une des traditions les plus anciennes et les plus riches associées à l'utilisation des plantes médicinales, qui sont très importantes pour les habitants de nombreux endroits. L'Algérie est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de l'étude des molécules aux propriétés pharmacologiques, issues des plantes et utilisées depuis longtemps par une grande partie de la population comme moyen essentiel de la médecine.

Ces dernières années, un regain d'intérêt pour les plantes médicinales a permis une analyse approfondie de leur efficacité thérapeutique, notamment de leurs aspects toxicologiques (**De Smet, 1993**). Le dernier aspect concerne les progrès de la phytothérapie. En fait, plusieurs études sur la phytothérapie traditionnelle ont signalé des problèmes de toxicité ou d'interaction pouvant entraîner des échecs de traitement ou des accidents (**Hmamouchi, 1998**).

C'est pourquoi nous nous intéressons à l'étude de la plante *Peganum harmala* L, qui appartient à la famille des Zygophyllaceae communément appelée harmel et est considérée comme l'une des plantes médicinales les plus connues en médecine traditionnelle (**Boullard, 2001**). Son effet thérapeutique est dû au fait que cette plante est riche en composés pharmacologiquement actifs, en particulier les alcaloïdes bêta-carboline (Harmaline, Harmine, harmalol, Harmol). Bien qu'elles possèdent des propriétés pharmacologiques intéressantes, il convient de noter que ces molécules peuvent provoquer de graves intoxications chez l'homme et l'animal.

Le but de notre travail était de démontrer l'abondance de nos plantes en métabolites secondaires et de déterminer leurs propriétés pharmacologiques et toxiques. A cet effet, dans cette étude, nous allons d'abord introduire quelques connaissances dans la partie bibliographie : phyto-caractéristiques des plantes étudiées, leur composition chimique, stress oxydatif, antibiotiques, antibactérienne.

La partie expérimentale comprend deux aspects, le premier est la phytochimie, principalement à travers la caractérisation de différents métabolites par criblage phytochimique.

Mineur. Cela implique également l'utilisation de techniques chromatographiques pour le diagnostic et la séparation des composés phénoliques principales .

Le deuxième volet a été consacré à l'évaluation de l'activité antioxydant de différents types d'extraits végétaux à l'aide de deux méthodes différentes, le test DPPH. Des tests antibactériens ont également été réalisés pour déterminer l'efficacité de ces extraits contre certaines souches bactériennes.

**Notre travail de recherche comporte deux parties :**

- ❖ La première partie se compose une étude bibliographique avec trois chapitres :
  - Etude de la plante *Peganumharmala* L.
  - Métabolisme secondaire
  - Activités biologiques, l'activités antioxydants et antibactériennes.
- ❖ La deuxième partie présente les matériels et les méthodes d'extraction des composés phénoliques qui utilisés dans notre travail. Et l'évaluation de leur activités antioxydants et antibactérienne et présentations de leur résultats obtenus et leur discussion. En fin, une conclusion générale comporte les principaux résultats obtenus.

PARTIE1 :  
Recherche  
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :  
Présentation de la plante étudiée  
*Péganum harmale L.*

## I. La plante étudiée *Péganum harmale* L :

### I.1. Description de la famille botanique Zygophyllaceae :

*Péganum Harmala* L., une plante de la famille des Tribulus, les plantes appartenant à cette famille sont très facilement reconnaissables à leur apparence d'herbes, d'arbustes ou d'arbres. Dans la classification de Sheahan et Chase, (1996) constituent une famille avec environ 285 espèces, qui sont subdivisées en 5 sous-familles et 27 genres. Ils sont largement distribués dans les pâturages arides, semi-arides, salins et désertiques (**Tahrouch et al., 1998 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2012**). Le nom de genre *Péganum* est dérivé du grec et appartient au genre Rutia, tandis que le nom de *genre harmala* est dérivé de la ville libanaise de Hummel(**Mars, 2009**).

### I.2. Répartition géographique de la famille Zygophyllaceae:

Cette plante est largement distribuée à travers le monde. Elle est particulièrement répandue dans les zones arides et sèches méditerranéennes dans les sols sableux et légèrement nitrés (**Iserin, 2001**).

- ✓ En Europe, elle est très commune dans les zones sèches, de l'Espagne à la Hongrie jusqu'aux steppes de la Russie méridionale.
- ✓ En Asie, elle est répandue dans les steppes de l'Iran et du Turkestan jusqu'au Tibet.
- ✓ Aux Etats-Unis, on la trouve en Arizona et au Texas ou on la nomme « Mexican rue ».
- ✓ En Afrique, elle est, particulièrement, abondante dans les zones arides méditerranéennes du Moyen-Orient au Nord de l'Afrique (Tunisie, Sahara septentrional et central en altitude, Hauts-Plateaux algériens et Oranie, Maroc oriental) (**Hammiche et al., 2013**).
- ✓ En Algérie, *Peganum harmala* L est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central. Il est réputé pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (**Ozenda, 1991**).
- ✓

### I.3. Le genre *Péganum*:

Bien qu'il appartienne à la famille des Zygophyllaceae mais sa position taxonomique est encore discutable et on a proposé une famille séparée Nitrariaceae pour ce genre (**Shehan et chase, 1996**).

#### I.4. Systématique de la plante:

<b>Embranchement :</b> Spermatophytes .
<b>Sous embranchement :</b> Angiospermes.
<b>Classe :</b> Dicotylédones.
<b>Ordre :</b> Sapindales.
<b>Famille :</b> Zygophyllaceae.
<b>Genre :</b> <i>Péganum</i> .
<b>Espèce :</b> <i>Péganum harmala</i> L. (Ozanda, Quezel 1991) (Quezel & Santa 1962-1963)

#### I.5. Description botanique de la plante *Péganum harmale* :

Plante herbacée vivace, à tiges ordinairement peu rameuses, de 30 à 90 cm de haut, à entrenœuds assez courts, densément feuillés.

- **Tiges :** dressées, très ramifiées, disparaissant en hiver, à feuilles alternes, découpées en lanières étroites. A leurs extrémités s'épanouissent des fleurs solitaires, très grandes (25 à 30 mm) (Fig. 1).
- **Feuilles :** Allongées et irrégulièrement divisées en multiples bandes très fines jusqu'à 5x5 cm. La largeur de la lame supérieure ne dépasse pas 1,5 mm (Fig. 1).
- **Fleurs :** La plante porte des fleurs assez grandes (25 à 30 mm), blanc jaunâtre veinées de vert, à cinq sépales inégaux persistants et des pétales crème au-delà de la corolle, rose-orangé à nervures jaunes, oblongues et subsymétriques (Fig. 1). , à dix à quinze étamines, anthères de 8 mm de long, filets inférieurs très larges et plats, pistils de 8 à 9 mm de long ; ovaires sphériques à 3 à 4 cellules et stigmate à 3 carènes Style imperceptiblement affaibli (Chopra et al., 1960 ; Maire, 1933 ; Ozanda, 1991).



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

- **Le fruit** : est une petite capsule sphérique à trois chambres de 6 à 10 mm de diamètre, à tige dressée et à sommet concave. (Yousefi et al. 2009). Les capsules contiennent plus de 50 petites graines triangulaires (Asghari et al., 2004 ; Moloudizargari et al., 2013) (Figure 2).
- **Les graines** : sont nombreuses, petites, anguleuses, sub-triangulaires, brun foncé, et le tégument externe est réticulé et amer (Fig. 2) (Chopra et al., 1960).



**Figure 2** Les fruits et les graines de la plante *Péganum harmala*(Weckesser, 2013).

- **La racine** : est oblongue, dure et garnie de fibres. Elle peut atteindre plus de 3m de profondeur. De nouvelles pousses peuvent se développer à partir des racines latérales.

## I.6. Nomenclature de la plante :

<b>Nom latin</b>	<i>Peganum harmala.</i>
<b>Nom commun</b>	Rue sauvage; Rue verte; <i>Pégane</i> .
<b>Nom vernaculaire</b>	<i>Harmel; Armel; L'harmel</i> (L'Afrique du Nord). <i>Pégane</i> et Rue sauvage (en France). <i>Harmel Sahari</i> (en Algérie). <i>Bender tiffin</i> (en Maroc). <i>Bizr el harmel</i> (en Egypte). <i>Espand, Espand</i> (Iran). African Rue, Mexican Rue ou Turkish Rue (Etats-Unis). <i>yüzerlik or üzerli</i> (en Turquie).

### I.7. Utilisation de la plante *Péganum harmala* L :

La plante intéresse depuis longtemps la médecine traditionnelle utilisant les graines : elles sont anesthésiques, antihelminthiques, antispasmodiques et dans certains cas utilisées pour traiter les rhumatismes et l'asthme (**Siddiqui et al. 1988 ; Bellakhdar 1997**).

Depuis les temps les plus reculés, cette plante est connue dans la médecine traditionnelle comme un excellent remède pour une gamme de maux (**Shi et al., 2000**). Le colorant rouge extrait de ses graines est largement utilisé en Turquie et en Iran pour colorer les tapis (**Baytop, 1999**) Harmal est traditionnellement utilisé pour traiter le diabète dans la médecine populaire dans certaines parties du monde (**Bnouham et al., 2002**). Cornus a été utilisé par certaines populations pour traiter certains troubles neurologiques, comme la maladie de Parkinson (**Leporatti, 2009**), et pour traiter des troubles psychiatriques, comme la nervosité (**González et al., 2010**).

Dans la médecine traditionnelle maghrébine, l'harmel est une panacée connue pour soigner la plupart des maux. Plusieurs « recettes » collectées au Maghreb ont été rapportées pour illustrer la diversité de cet usage (**Hammiche et al., 2013**).

- Jus de légumes frais : liniment à base de suif pour soulager les douleurs articulaires.
- Un onguent de feuilles hachées, utilisé in situ et fixé avec un foulard, contre les rhumatismes, les maux de tête, la fièvre, la toux et les maladies pulmonaires, les morsures de serpent ; sur la plante des pieds, comme laxatif et abortif.

- Fumigation à base de plantes sèches ou de graines pour le tétanos néonatal, les rhumatismes, les troubles génitaux féminins, les troubles psychiatriques et neurologiques, l'insomnie chez les adultes et les enfants (**Hammiche et al., 2013**).

## **I.8. Utilisation pharmacologiques:**

- **Effets cardiovasculaires :**

Cornus est l'un des médicaments à base de plantes les plus largement utilisés dans le monde pour le traitement de l'hypertension artérielle et des maladies cardiaques. Des expériences in vivo ont montré que différents extraits de *Cornus officinalis*, ses principaux alcaloïdes actifs harmine, harmaline, harman et harmalol, ont des effets cardiovasculaires différents, tels que la bradycardie, la réduction de la pression artérielle, le pic de débit sanguin aortique et la contractilité cardiaque et vasodilatatrice (**Aarons et al., 1977**) et l'inhibition antigénique (**Hamsa et Kuttan, 2010**).

- **Vasodilatatrices et effets antihypertenseurs :**

Les extraits aqueux de graines de *Cornus officinalis* ont des effets antispasmodiques, anticholinergiques, antihistaminiques et antiadrénergiques (**Aqel et Hadidi, 1991**). Une étude sur les effets cardiovasculaires de l'harmine, de l'harmaline et de l'harmalol a montré que ces trois alcaloïdes ont des effets vasodilatateurs (**Shi et al., 2001**). Dans la même étude, l'activité vasodilatatrice d'un autre alcaloïde actif de *Cornus officinalis*, harman, s'est avérée avoir un mécanisme pour interagir avec les canaux  $Ca^{2+}$  de type L et augmenter la libération de NO par les cellules endothéliales d'une manière dépendante de la présence externe de  $Ca^{2+}$ . Ces effets peuvent être liés à son activité antihypertensive. Il a également été démontré que l'harmaline, l'harmine et l'harmalol réduisent la pression artérielle systémique (**Shi et al., 2000**).

- **Effets sur le cœur:**

Il y a eu plusieurs études sur les effets directs de l'extrait de *Cornus officinalis* et de ses alcaloïdes sur le myocarde. Dans une étude, il a également été démontré que des alcaloïdes isolés (harmine, harmaline et harmalol) réduisaient les effets et la fréquence cardiaque normale chez les chiens anesthésiés (**Aarons et al., 1977**).

- **Effet inhibiteur angiogénique :**

Une étude a montré que l'harmine est un puissant inhibiteur de l'angiogénèse. La substance peut réduire de manière significative la prolifération des cellules endothéliales vasculaires et

l'expression de différents facteurs pro-angiogéniques tels que le facteur de croissance endothélial vasculaire, le NO et les cytokines pro-inflammatoires. De plus, l'harmine réduit la production de cellules tumorales grâce à d'autres facteurs qui jouent un rôle important dans l'angiogenèse, comme la cyclooxygénase (COX-2) (Hamsa et Kuttan, 2010).

- **Effet inhibiteur sur l'agrégation plaquettaire :**

Les alcaloïdes de *Cornus* semblent également avoir des effets antiplaquettaires (Saeed et al., 1991).

- **Effets sur le système nerveux :**

Diverses études in vitro et in vivo ont montré que les alcaloïdes du cornu exercent un large éventail d'effets sur les systèmes nerveux central et périphérique, notamment des effets analgésiques, hallucinogènes, excitateurs et antidépresseurs (Moludizargari et al., 2013).

- **Effets antibactérien, antifongique, insecticide et antiparasitaire :**

De plus, il a été démontré que les bêta-carbolines de *Cornus* interagissent avec la dopamine, le GABA, la sérotonine, les benzodiazépines et les imidazolines au niveau de leurs récepteurs présents dans le système nerveux, induisant bon nombre de leurs effets pharmacologiques (Moloudizargari et al., 2013). Diverses études ont montré différents effets pharmacologiques en tant qu'agents antiparasitaires (Akhtar et al., 2000; Astulla et al., 2008), des alcaloïdes antifongiques, antibactériens (Saadabi, 2006; Nenaah, 2010) et insecticides (Rharrabe et al., 2007) du Kazakhstan Seeds of Mara cornouiller.

- **Effets anticancéreux et antioxydants**

Diverses préparations de *Cornus* sont utilisées depuis longtemps pour traiter le cancer et les tumeurs. En fait, des études in vitro ont montré une viabilité cellulaire réduite dans les cellules cancéreuses de divers tissus, notamment le cerveau, le côlon, le sein, les poumons, le foie, l'œsophage et l'estomac, après un traitement à l'harmine. Plusieurs chercheurs ont montré la cytotoxicité de différents extraits de *Cornus officinalis* sur des lignées cellulaires tumorales in vitro et in vivo (Chen et al., 2005). De nombreuses études pharmacologiques ont montré que *Cornus* possède des propriétés antioxydantes (Hamden et al., 2009).

- **Effets sur le système immunitaire :**

Les  $\beta$ -carbolines de *Cornus* ont montré des effets immunomodulateurs dans plusieurs études (**Wang et al., 1996 ; Farzin et Mansouri, 2006**). Des extraits de cette plante ont des effets anti-inflammatoires importants en inhibant certains médiateurs inflammatoires, les prostaglandines.

- **Effets antidiabétiques :**

L'harmine est le principal alcaloïde de *Péganum harmala* L et est impliquée dans des effets antidiabétiques. Une étude a montré que le composé module l'expression du récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes Gamma (PPAR $\gamma$ ), un régulateur maître de l'adipogenèse et une cible moléculaire des médicaments antidiabétiques, en inhibant une voie de signalisation (**Waki et al., 2007**). Des études récentes ont clairement montré que l'extrait éthanolique de graines d'harmel peut réduire significativement la glycémie chez des rats normaux et diabétiques à différentes doses (150 et 250 mg/kg).

Cependant, il a été rapporté que l'extrait d'harmel n'avait aucune activité sur la sécrétion d'insuline, car cette activité hypoglycémiant est associée au pancréas. En fait, cela affecte l'utilisation et/ou l'absorption du glucose (**Jinous et Fereshteh, 2012**).

# Chapitre II :

## Métabolisme secondaire.

## II. Métabolisme secondaire

### II.1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées par les plantes autotrophes en faible quantité, leurs structures chimiques sont souvent complexes, leur distribution très dispersée et très variables d'une espèce à l'autre. Ils peuvent jouer un rôle dans la défense contre les herbivores et dans la relation entre les plantes et leur environnement (**Paris R et Moyse M., 1965 ; Venturini N., 2012**).

Ces biomolécules ne sont pas essentielles et importantes pour les cellules ou les organismes, mais elles ont des effets biologiques sur d'autres organismes (**Diallo D et al., 2004**).

### II.2. Généralités:

L'une des principales ingéniosités des plantes est leur capacité à produire une gamme très diversifiée de substances naturelles. En effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides et acides nucléiques), ils accumulent souvent de grandes quantités de composés qui ne proviennent pas directement de la photosynthèse mais de réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés « métabolites secondaires », et leurs fonctions physiologiques représentent une source importante de molécules biologiquement actives utilisables par l'homme dans différents domaines, comme la pharmacologie ou l'industrie alimentaire (**Marjorie M.C., 1999 ; Naghibi F et al., 2005**).

### II.3. Fonction des métabolites secondaire :

Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques qui ne sont pas directement impliqués dans les processus vitaux de base (croissance, division cellulaire, respiration, photosynthèse, reproduction). Les métabolites secondaires auront des fonctions spécifiques en réponse à l'adaptation environnementale. Certains des principaux rôles de la plante sont:

- La protection des plantes contre ravageurs et pathogènes.
- L'allélopathie (compétition plante-plante).
- La symbiose plante-microbe au niveau des nodules racinaires.
- La couleur, l'odeur et le goût. Ils peuvent donc servir d'attractifs pour les pollinisateurs.

Les métabolites secondaires sont composés de trois catégories :

Les terpénoïdes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (ou composés azotés).

Les métabolites secondaires présents dans les plantes ont de fortes utilisations médicinales pour les problèmes d'anxiété et de stress, et peuvent également soulager les symptômes de maladies chroniques et même prévenir tout, des migraines au cancer.

## II.4. Classification de métabolite secondaire

Les métabolites secondaires sont synthétisés en très petites quantités, dont plus de 200 000 sont classés selon leur composition chimique, en l'occurrence des terpènes, des alcaloïdes, des composés acétyléniques, des cires et des composés phénoliques (**Kabouche A et al., 2007**). Groupes phytochimiques importants, sources de molécules bioactives et les regrouper en trois grandes catégories (**Venturini N., 2012**) :

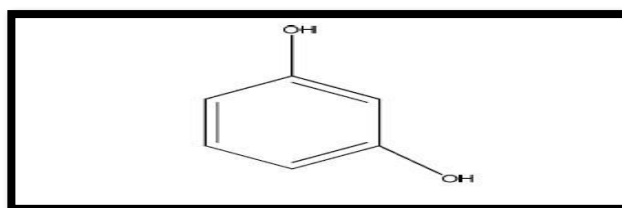
- Composés phénolique (phénols, tannins, flavonoïdes, coumarines.).
- Composés azotés. (Alcaloïdes).
- Terpènes et stéroïdes. (Les huiles essentielles).

## II.5. Les composés phénoliques

### II.5.1. Les polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des molécules propres au règne végétal. Ce nom générique désigne un grand nombre de substances difficiles à définir avec des structures différentes, mais l'élément structurel de base est le noyau benzénique, qui est directement attaché à un ou plusieurs groupements hydroxyles, libres ou impliqués dans une autre fonction chimique (éther, ester, hétéroside, etc.) (**Moghtader M., 2009 ; Lograda T et al., 2014 ; Belmekki et al., 2013**)(**Figure 3**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de haut poids moléculaire. Ils sont largement répandus dans le règne végétal et possèdent des propriétés antioxydantes, en particulier les flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes manières dans la régulation du stress oxydatif : en captant directement les espèces réactives de l'oxygène, en chélatant les métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton) ou en inhibant l'activité de certaines enzymes pour générer des ROS, comme la xanthine oxydase (**Curtay et Robin., 2000**).



**Figure 3:** Structure d'unité de base des polyphénols (**Ghnémé. 2005**).

### II.5.2. Localisation:

Les composés phénoliques sont présents dans toutes les parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois) (**Boukhatem M.N et al., 2010**). Ils sont également présents dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin, etc. (**Michel T., 2011**)

Certains composés phénoliques sont :

### II.5.3. Les tanins:

Les légumes sont utilisés pour tanner les peaux d'animaux, en d'autres termes, pour transformer les peaux en cuir (**Hopkins., 2003**). La structure se compose d'unités monomères répétitives dont le centre asymétrique, le degré d'oxydation et l'astringence varient, mais partagent des propriétés communes à la peau bronzée (**Hemingway R.W., 1992**).

Selon leur structure biochimique, on distingue deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

### II.5.4. Les Flavonoïdes:

Le terme « flavonoïde du grec flavus (jaune en latin) » est un nom générique pour une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments végétaux presque universels, généralement responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel, les flavonoïdes existent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton J., 1999 ; Ghestem A et al., 2001**).

Ces composés ont une structure de base formée de 2 cycles benzéniques A et B reliés par un cycle C, qui est un hétérocycle pyranique (**Lobstein., 2010**)(Figure 9).

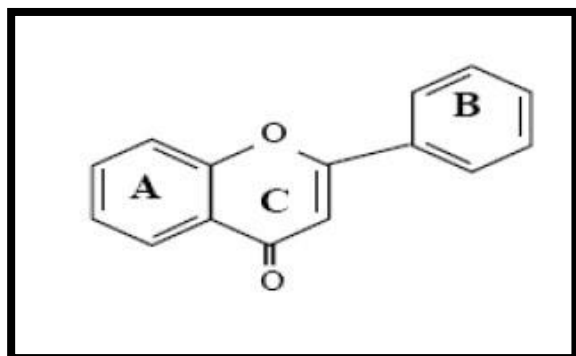


Figure 4 :Structure de base des flavonoïdes (**Ghnimi. 2015**).

### II.5.5. Les lignines et les lignanes :

Les lignanes sont une classe importante de substances naturelles dans le règne végétal. Ce sont des dimères ramifiés de styrène propylène. Ce dernier est formé par dimérisation de trois alcools : le p-coumarol, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique. Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol sont les principaux lignanes d'origine végétale (Axelson et al., 1982)(Figure 5). La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de lignine. Il est à noter que la composition de la lignine varie d'une espèce à l'autre. La structure précise de la lignine n'est pas connue, mais elle est certainement très complexe (Buchanan et al., 2000)(Figure 6).

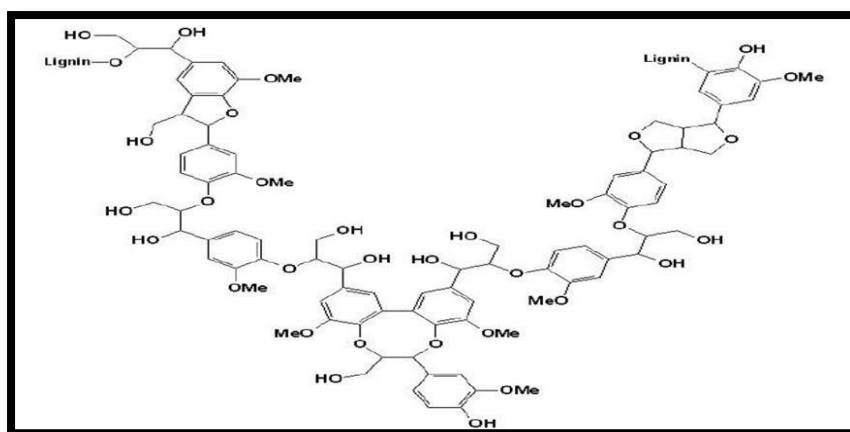


Figure 5 :Structure des lignanes (Ghnimi. 2015).

A, B et C structure des alcools formant les lignanes et les lignines ; d et e exemples de lignanes

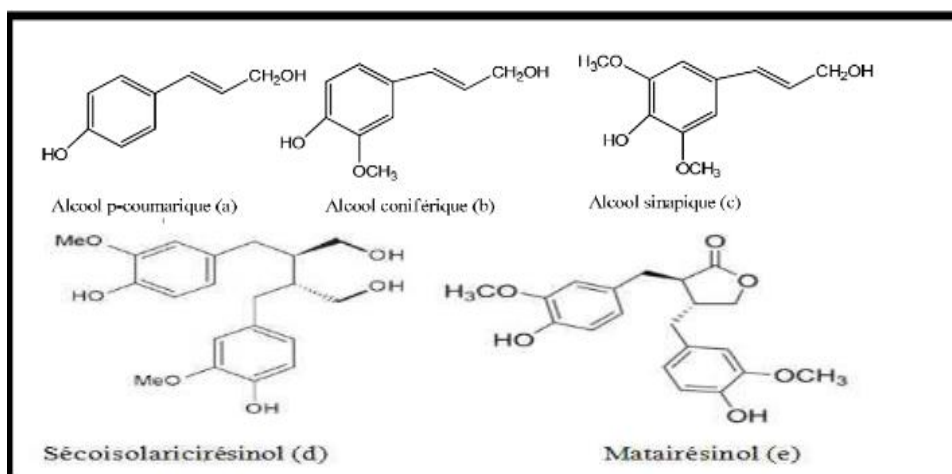
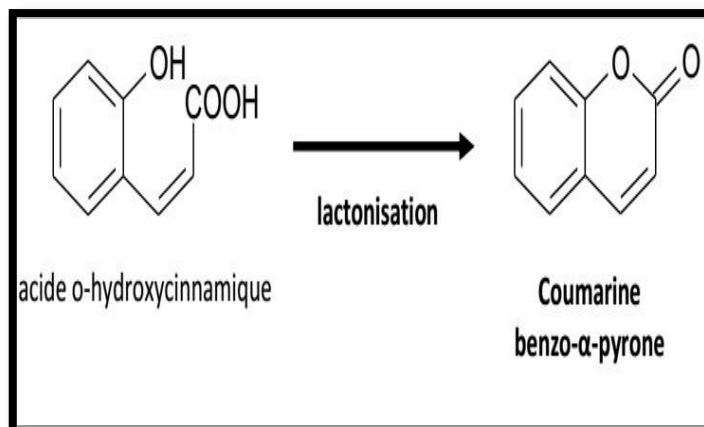


Figure 6 : Structure des lignines (Ghnimi. 2015).

### II.5.6. Les Coumarines :

La Coumarine est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyrane-2-one. Dans son état normal (standard), elle est caractérisée par une structure cristalline et incolore. Différents résidus peuvent être ajoutés à ce squelette formant la famille des Coumarines. Les Coumarines sont considérées comme un groupe de métabolites secondaires des plantes ([www.aquaportail.com](http://www.aquaportail.com)).



**Figure 7:** Structure de base des Coumarines (Macheix et al, 2005).

- **Propriétés physico-chimiques:**

Les Coumarines sont sous forme de cristaux orthorhombiques de couleur blanche ou jaunâtre. Elles sont assez solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés). Les coumarines hydroxylées (umbelliférones) possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV. Leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification (Feryel, 2015).

- **Propriétés biologiques de Coumarine :**

Les Coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anti coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides.

La majorité des Coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles

peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux, anticancéreux, antimicrobiens, antiinflammatoires (**Feryel, 2015**).

- **Classification de Coumarine :**

Les Coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle.

Les auteurs ont classé les coumarines selon la nature des substituants sur leurs structures en cinq catégories : (**Harkati, 2011**).

- **Coumarines Simples :**

Les Coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des Substitutions (OH ou OCH<sub>3</sub>) en 6 et 7. Cette classe comporte deux sous classes, les génines et les hétérosides (**Harkati, 2011**).

Chapitre III :  
ACTIVITE BIOLOGIQUE.

## III. Activité biologique

### III.1. Généralité:

Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène (ROS), stress oxydatif et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers aux professionnels de santé et même au grand public. Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydant (**Fendri et al., 2006**). Ce déséquilibre survient lorsque le système de défense antioxydant est surmené par une augmentation des oxydants ou lorsque l'apport et/ou la production d'antioxydants affaiblit le système de défense (**Kirschvink et al., 2008**).

### III.2. Activité antioxydant

#### III.2.1. Stress oxydatif:

Favier (2003) définit le stress oxydatif comme le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par le système de défense antioxydant. Des facteurs exogènes tels que les polluants environnementaux, les radiations, les solvants organiques, le tabac et les agents pathogènes ont été impliqués dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Ansari 1997; Chu et al. 2010**).

#### III.2.2. Radicaux libre

L'oxygène est un élément essentiel dans la vie de tous les organismes bactériens aérobies, car il produit la majeure partie de l'énergie chimique en oxydant la matière organique dans les mitochondries. Cependant, l'oxygène peut être une source d'attaque pour ces organismes, convertissant certains éléments en métabolites hautement réactifs: les radicaux libres, qui peuvent être endogènes voire exogènes (**Pandey ET Rizvi. 2011; Kalam et al., 2012**).

Un radical libre est une espèce chimique, une molécule, un fragment moléculaire ou même un atome, capable d'être « libre » en contenant un ou plusieurs électrons simples (électrons non appariés dans les orbitales) pour exister indépendamment (**Goudable et al., 1997**).

Les radicaux libres sont généralement instables et ont des durées de vie courtes (de l'ordre de la microseconde à la nanoseconde) (**Benaissa., 2012**). Par conséquent, en raison de son instabilité chimique, il est réactif et a tendance à revenir à un état plus stable en donnant un électron ou en en acquérant un autre. Les molécules ainsi transformées peuvent à leur tour devenir des radicaux libres, déclenchant une série de réactions (**Lev et al., 2007**)(Tableau 1).

**Tableau 1** : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Valko et al., 2007).

Radicaux libres	Non radicaux libres
Superoxyde (O <sub>2</sub> ●-)	Oxygène singulet (1O <sub>2</sub> )
Radical Hydroxyle (OH●)	Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Monoxyde d'azote (NO●)	Ozone (O <sub>3</sub> )
Dioxyde d'azote (NO <sub>2</sub> ●)	Acide hypochloreux (HOCl)
Peroxyde, alkoxyde (ROO●, RO●)	Peroxynitrite (ONOO-)
Peroxyde lipidique (LOO●)	Peroxyde lipidique (LOOH)

### III.2.3. Les antioxydants:

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente dans les cellules à de faibles concentrations, retarde, neutralise ou réduit l'oxydation et les dommages aux composés cellulaires causés par les radicaux libres (Rahman., 2007).

Le corps possède un système de défense très efficace contre la surproduction de ROS. Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et répondent de manière synergique pour protéger les cellules des ROS (Kalam et al., 2012).

### III.2.4. Les antioxydants endogènes:

#### III.2.4.1. Antioxydants enzymatiques:

Il s'agit principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont des effets complémentaires sur la cascade des radicaux libres aux niveaux O<sub>2</sub>●- et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aboutissant à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).

- **Le Superoxyde dismutase (SOD) :**

La SOD est une enzyme primaire essentielle qui catalyse la disproportionation de l'anion superoxyde en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en réponse aux produits toxiques du métabolisme cellulaire (Seib et al., 2006).

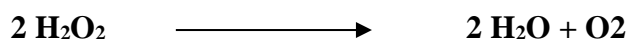
#### SOD



- **La Catalase (CAT)**

La catalase est présente dans les érythrocytes et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules, avec une forte affinité pour ses substrats (**Kohen et Nyska., 2002**), et est une conversion catalysée du peroxyde d'hydrogène en eau et en enzymes moléculaires (**Stocker et Keaney., 2004**)

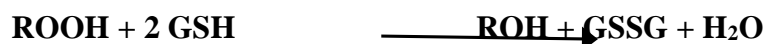
**CAT**



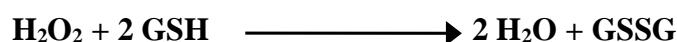
- **La Glutathion peroxydase (GPx) et la Glutathion réductase (GR)**

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytoplasme et les mitochondries (**Sorg., 2004**). La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD car elle agit pour accélérer la disproportionation de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$  et réduire divers hydroperoxydes lipidiques. Au cours de cette réaction, deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en disulfure de glutathion (GSSG) (**Ahmad., 1995**). Le disulfure de glutathion (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons (**Ahmad., 1995 ; Mates et al., 1999**).

**GPx**



**GPx**



### III.2.5. Les antioxydants exogènes:

En plus des substances propres à l'organisme, les aliments et les plantes sont également d'excellentes sources d'antioxydants. Le corps peut bénéficier des nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans l'alimentation (**Pham-Huy et al., 2008 ; Kalam et al., 2012**). Bien qu'elles ne soient pas essentielles à la vie, ces substances jouent un rôle important dans la lutte contre le stress oxydatif. Les plus importants d'entre eux sont les vitamines (E et C), les caroténoïdes, les polyphénols (Figure 08), les acides gras (oméga-3 et oméga-6) et les métaux traces (sélénium, manganèse et zinc). Contrairement aux antioxydants enzymatiques, ces substances ne peuvent éliminer qu'un seul radical libre à la fois.

Par conséquent, pour pouvoir fonctionner à nouveau, ces antioxydants doivent être régénérés par d'autres systèmes (**Pham-Huy et al., 2008**).

### III.3. Activité antibactérienne

#### III.3.1. Les bactéries:

La bactérie est un micro-organisme ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN. Celui-ci consiste en un seul chromosome, et on note éventuellement la présence de plasmides (petit morceau d'ADN circulaire). L'ensemble des bactéries forme le règne des eubactéries *Eubacteria*.

Certaines bactéries peuvent être pathogènes. Chez l'Homme, les symptômes d'une infection bactérienne sont similaires à ceux observés lors d'une infection virale (éruption cutanée, toux, écoulement nasal, larmolement, fatigue, nausées, fièvre et douleurs musculaires). Parfois, elles sont mortelles. Les infections bactériennes peuvent être traitées avec des antibiotiques.

##### III.3.1.1. Bactérie *Escherichia coli*

*Escherichia coli* *E. coli* est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des organismes à sang chaud. La plupart des souches sont inoffensives. Certaines en revanche peuvent provoquer une intoxication alimentaire grave. Uvant provoquer une maladie grave d'origine alimentaire.

##### III.3.1.2. Bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est un microorganisme qui provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles. Elle sévit particulièrement en milieu hospitalier et expose les patients présentant un faible système immunitaire. La résistance croissante de certaines souches de cette bactérie aux antibiotiques fait de ces infections un véritable problème de santé publique.

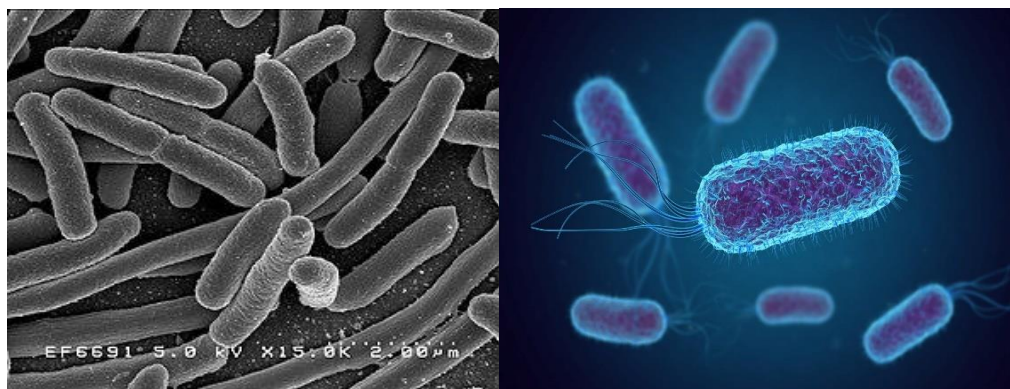
##### III.3.1.3. Bactérie *Staphylocoques*

Les *staphylocoques* sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires). Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). Les traitements visant à éradiquer les infections sont difficiles car de

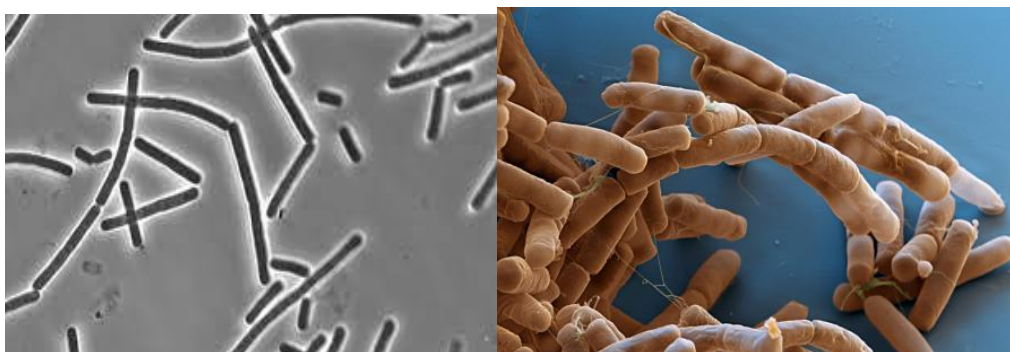
nombreuses souches sont multi résistantes aux antibiotiques. Selon les services hospitaliers, ces dernières représentent entre 20 et 50% des souches.

#### III.3.1.4. Bactérie *Bacillus cereus* :

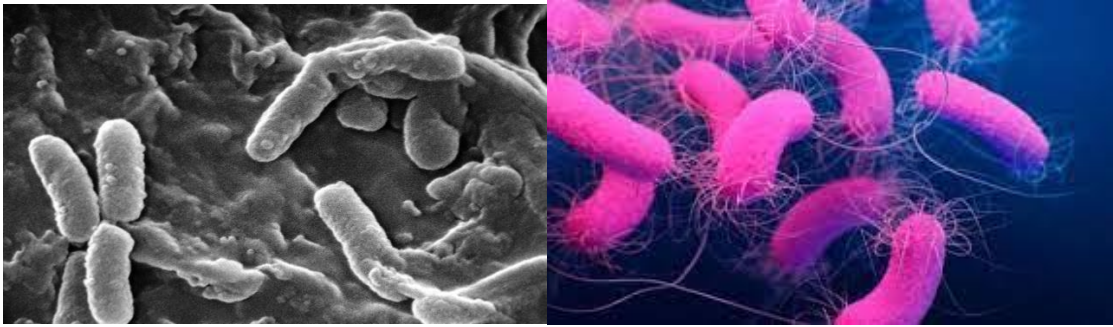
*Bacillus cereus* est une bactérie présente partout : dans les sols, les aliments, quasiment sur toutes les surfaces, la peau humaine... Sous forme de spores, elle résiste à la cuisson et à la pasteurisation. *B. cereus* est le deuxième agent responsable d'infections alimentaires en France et le troisième en Europe, caractérisées par des diarrhées et des vomissements. Dans des cas plus rares mais plus sévères, *B. cereus* peut également être responsable d'infections cliniques d'origine non alimentaire, en particulier chez les personnes fragiles (nouveaux nés, personnes âgées). Or, la réelle incidence de telles infections cliniques par *B. cereus* n'est pas connue et les informations sur les caractéristiques des souches bactériennes incriminées sont peu nombreuses.



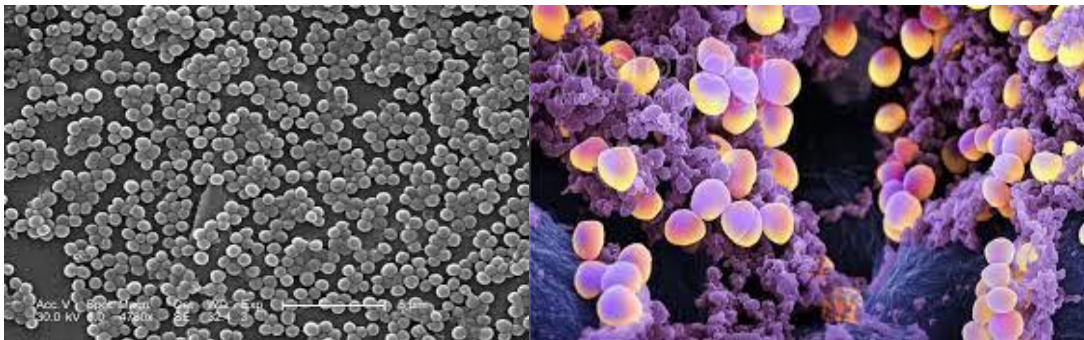
**Figure 8:** Les bactéries d'*E. coli*



**Figure 9:** Les bactéries de *Bacillus*



**Figure 10:**Les bacteries de *Pseudomonas aeruginosa*



**Figure 11:**Les bacteries de *Staphylos*

**PARTIE 02 :**  
**Partie expérimental.**

Chapitre I :

**METHODE ET MATERIEL.**

## I. Matériel et méthode :

### I.1. Macération :

#### I.1.1. Principe :

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

#### I.1.2. L'Objectif :

Cette étude expérimentale se divise en parties :

- **La 1<sup>ème</sup> partie:** L'activité antioxydante des différents extraits en utilisant la technique suivante: la réduction du piégeage du radical DPPH.
- **La 2<sup>ème</sup> partie:** Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de puits.

### I.2. Matériel végétal :

Les graines et les feuilles du cornouiller sont récoltées à maturité de juillet à août dans la zone, qui se caractérise par des zones semi-arides sèches. Climat aride. L'identification botanique des espèces est basée sur la description des caractéristiques morphologiques des plantes. (**Figure 12**).



**Figure 12:** La plante de *Peganum harmala* en période de floraison

Les graines et les feuilles récoltées après maturité sont exemptes de toutes impuretés et sèches à l'ombre et à température ambiante.

### **I.3. Préparation des extraits:**

Deux méthodes d'extraction sont nécessaires pour l'extraction des composants actifs de *Cornus harmala* ; les graines (EBG) sont macérées dans du méthanol (extrait brut d'EB) et les coumarines des graines (EC) sont extraits par extraction liquide-liquide

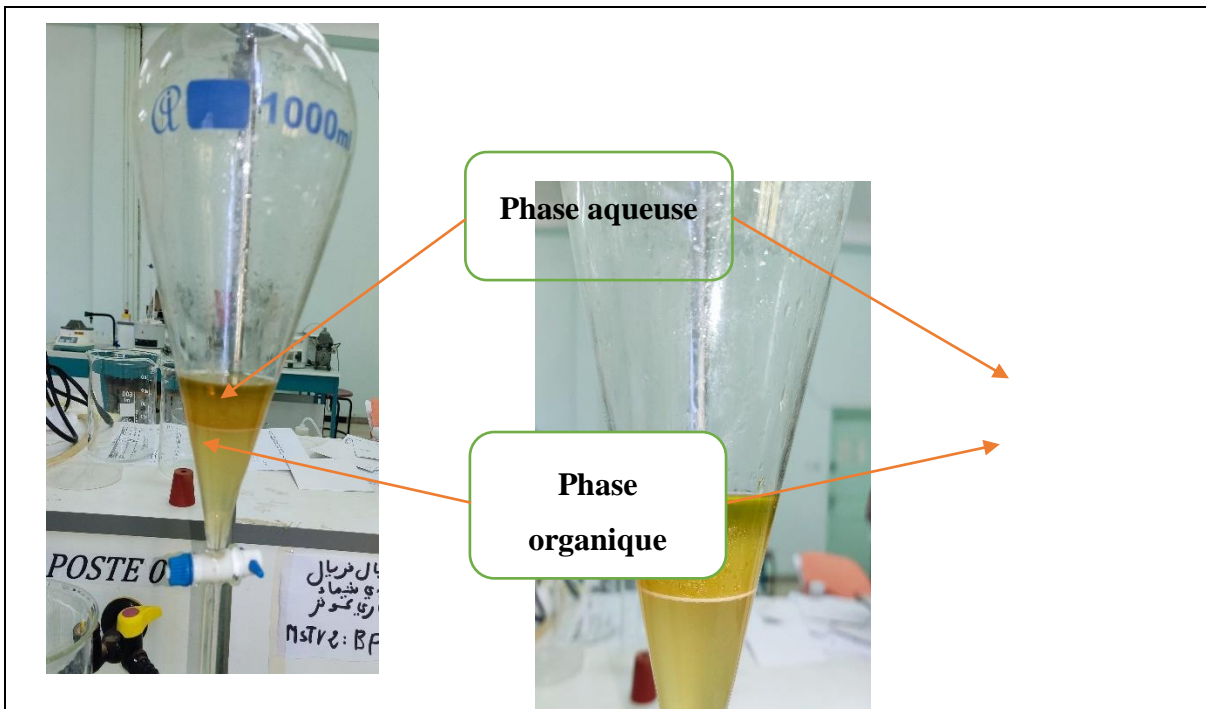
#### **I.3.1. Préparation de l'Extraits bruts par l'extraction type solide-liquide (ESL) :**

Préparer l'extrait méthanolique et aqueuse à partir de 50 g de broyat, le plonger dans 80 ml de méthanol et 20 ml de l'eau distillé pour methanolique et pour aqueuse plonger dans 100 ml de l'eau distillé pendant 48 heures à température ambiante dans l'obscurité et faire la répétition de la macération 3 fois. Le mélange a ensuite été filtré sur de la gaze puis sur du papier Whatman (n°3). Le filtrat résultant a été ajouté et évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif à une température de 35°C. Les extraits secs ont été conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.

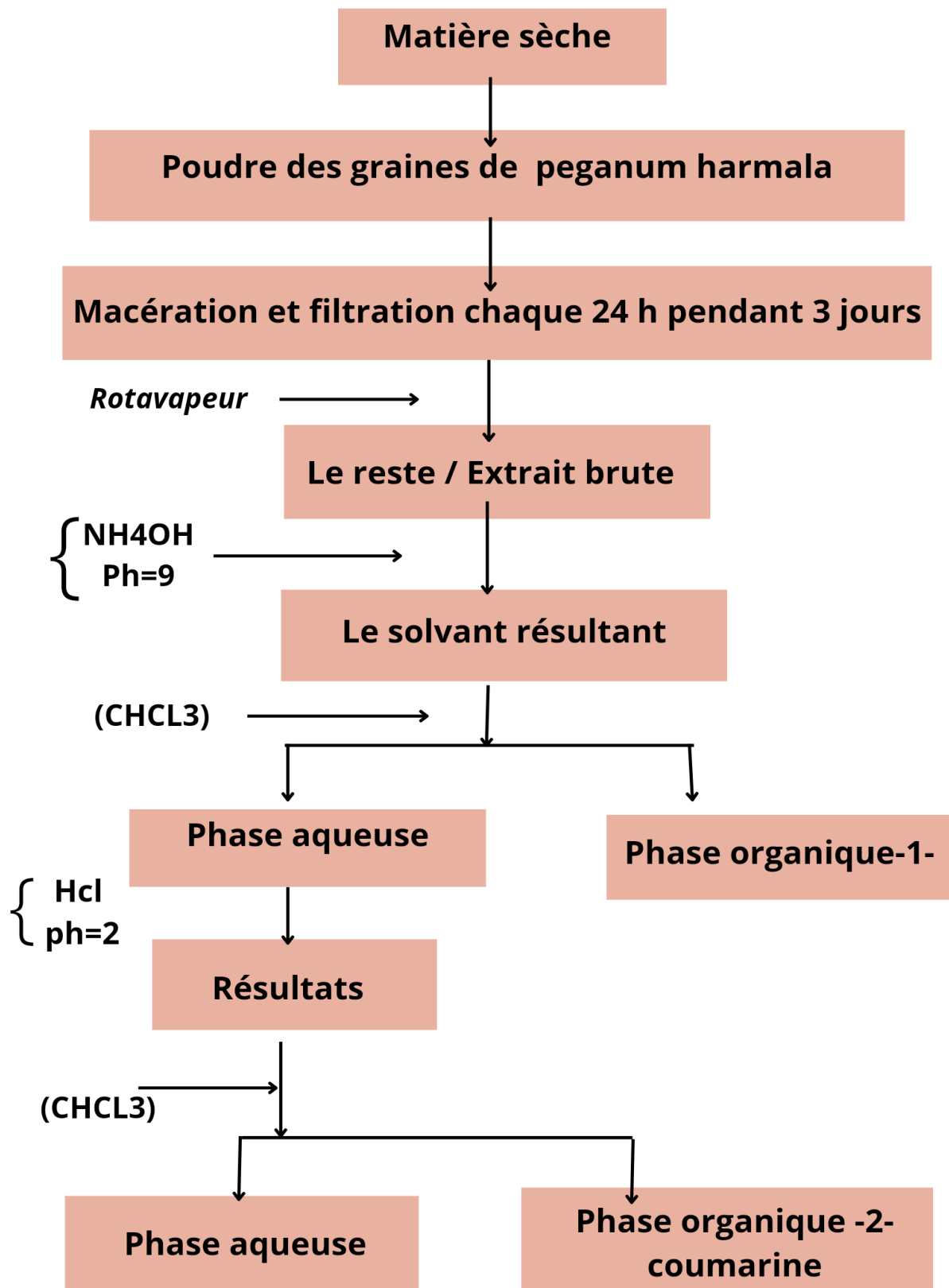
### **I.4. Fractionnement d'extrait hydrométhanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)**

#### **I.4.1. Extraction des Coumarines :**

Après la macération, Poser l'extrait brut méthanolique des graines dans un bécher, mesure le pH par le papier de pH, puis on ajoute quelques gouttes de la (NH<sub>4</sub>OH) jusqu'à l'obtention de pH basique (pH=9), après la régulation de pH; on pose l'extrait dans une ampoule à décanter, verser (30ml) de Chloroforme, Agiter et le laisser pendant quelque heure, afin d'obtenir deux phases, phase organique (1) et phase aqueuse (1). Répéter cette étape trois fois. Séparer la phase organique (1). On ajoute à la phase aqueuse quelque gouttes de l'Hcl diluer (2%) pour diminuer le pH jusqu'à l'obtention de pH acide (pH=2), On pose l'extrait dans une ampoule à décanter, verser (20ml) de Chloroforme puis agité et pendant quelque heure, afin d'obtenir deux phase, phase organique (2) et phase aqueuse (2) Répéter cette étape trois fois. Faire la séparation des 2 phases et obtenir la phase organique (2) Coumarine.



**Figure 13:**Extraction liquide-liquide de Coumarine



**Figure 14:**Extraction EBG etde la Coumarine de la plante *Péganum harmala* L.

## I.5. Rendements des extraits préparés :

Le rendement signifie la masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant par rapport à la masse initiale de la graine soumise à l'extraction.

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanoïque et aqueux a été calculé par la formule suivante (Carré., 1953) :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M<sub>0</sub> : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

## I.6. Séparation sur couche mince (CCM) :

La CCM est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou adsorbant et une phase mobile ou éluant. La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, par exemple: fluorescence, coloration (**Randerath, 1971**).

Nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques de Silica gel 60 F254 avec des dimensions 20 X 20 cm de marque MACHEREY-NAGEL (**Germany**).

La phase mobile, constituée d'un mélange de méthanol/Dichlorométhane : 80/20/ (V/V) pour les extraits bruts (EBG) et d'un mélange de « méthanol/chloroforme/ammoniaque : 79/20/1 (V/V/V) » (**Mahdeb et al., 2013**) pour les extraits bruts et de Coumarine.

Après dissolution des extrait (EBG) et (Ec) dans du méthanol, nous déposons 10 µl de chaque solution à l'aide d'une micropipette sur une plaque qu'était activée dans l'étuve à 100°C pendant 5 min; à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base, on sèche chaque dépôt à l'aide d'un sèche- cheveux. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant atteint 1 cm du bord supérieur, le chromatogramme est retiré, séché, observé à l'extinction de la fluorescence à 366 nm puis pulvérisé avec le réactif de Bouchardât jusqu'à l'apparition de spots colorés.

**Les systèmes préparer :**

N° de systèmes	Nom de système	Formule de système
1	<b>Acétate-chloroforme</b>	<b>(7. 3)</b>
2	<b>Heptane-acétate</b>	<b>(2. 8)</b>
3	<b>Methanol-chloroform</b>	<b>(3. 8)</b>
4	<b>Heptane-acétate</b>	<b>(2. 6)</b>

## I.7. Activités biologiques :

### I.7.1. Activité antioxydant :

Mesure de chaque Extrait 20 mg soit aqueuse et méthanolique. Ajouter 4 ml de MeOH et placer dans le bain marie jusqu'à la solubilité d'extrait. Ajouter 6ml de MeOH, Préparer le DPPH 4mg poudre dans 100 ml MeOH à partir de DPPH on préparer les concentrations et le control suivantes:

**Tableau 2:** Les concentrations de l'activité antioxydant:

Produits	Extrait ( $\mu$ l)	Methanol ( $\mu$ l)	DPPH ( $\mu$ l)
<b>Concentration</b>			
<b>10 <math>\mu</math>l/ml</b>	10	190	800
<b>25 <math>\mu</math>l/ml</b>	25	175	800
<b>50 <math>\mu</math>l/ml</b>	50	150	800
<b>100 <math>\mu</math>l/ml</b>	100	100	800

- Laisser 30 min et mise en control et tarer. Mesure les concentrations avec les répétitions. L'IC<sub>50</sub> ou la concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC<sub>50</sub> pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH
- Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées).

### **I.7.2. Activité antibactérienne :**

Le test antibactérien a pour but de rechercher l'activité biologique de chaque extrait vis-à-vis de différentes souches bactériennes. Les extraits actifs pourraient ainsi justifier l'usage en médecine traditionnelle des plantes dont ils sont extraits et permettraient d'ouvrir d'autres pistes à la recherche. Les extraits ont été solubilisés dans du **DMSO**. Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite

Afin de mettre en évidence l'effet antibactérien *in vitro* des différents extraits, nous avons choisi la méthode de diffusion des disques sur milieu de Mueller-Hinton gélosé. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition.

#### **Préparation des dilutions des extraits :**

Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (**DMSO**) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 32 mg/ 2 ml.

#### **Préparation d'inoculum :**

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans bouillon nutritif pour avoir une turbidité voisine à 0,5 McFarland, puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°C.

#### **Ensemencement et dépôt des puits :**

Après l'activation des souches bactériennes coulée la gélose nutritive (GN) dans les boîtes de Pétri, après refroidissement et solidification sur paille, après la réalisation de l'ensemencement par écouvillonnage sur boîtes pétri ; un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche, faire les puits avec pipette Pasteur après fermer les boîtes avec du para film et conservées à 4°C pendant 2h ensuite, ajouter l'extrait dans les puits. Puis sont mises à l'étuve à température de 37°C pendant 24 heures. Après incubation le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres.

Les tests des bactéries étudiée :

**Tableau 3:** Les tests et codes des bactéries :

NOM DE BACTERIES	GRAM	CODE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC25935
<i>E. Coli</i>	Gram -	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC27853
<i>Bacillus cereus</i>	Gram +	ATCC10876

Chapitre II :  
RESULTATS ET  
DISCUSSION.

## II. Résultats et discussion :

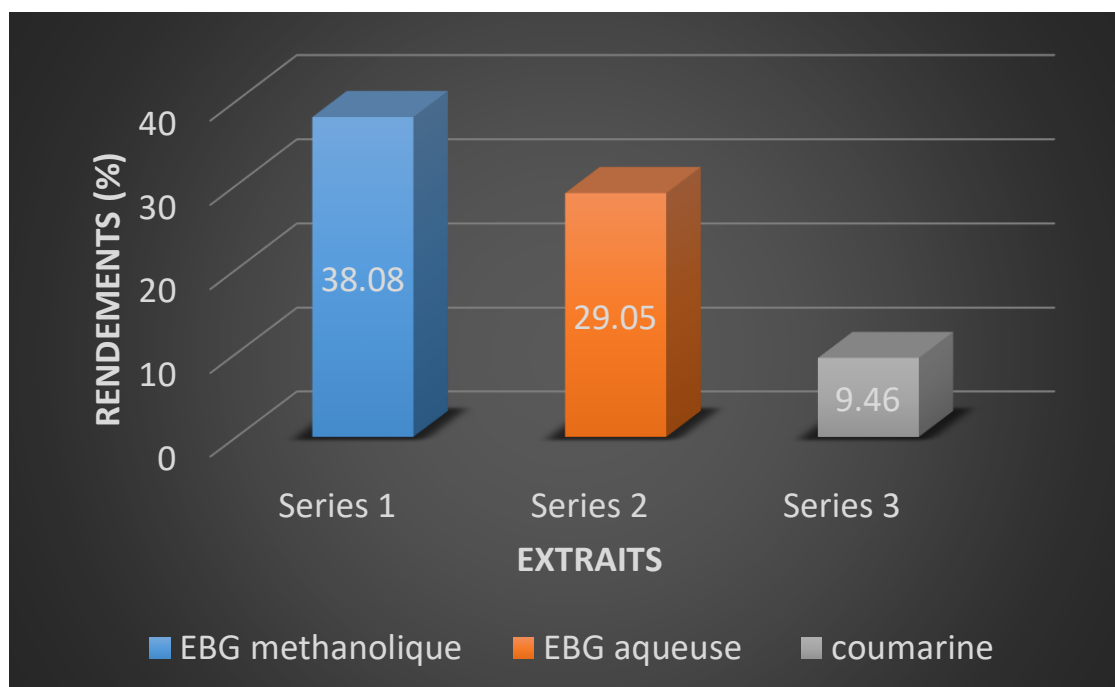
### II.1 Rendements des extractions :

#### II.1.1 La macération :

La première quantification à faire est celle de déterminer le rendement d'extraits brut des graines de *Peganum harmala* (EBG) obtenu par macération. Ce rendement est calculé à partir du poids d'extrait par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée (**Tableau 4**).

**Tableau 4** :Rendement et couleurs des extraits :

Extraits	Couleur	Rendement
<b>EBG méthanolique</b>	<b>marron foncé</b>	<b>38,08%</b>
<b>EBG aqueuse</b>	<b>marron foncé</b>	<b>29.05%</b>
<b>Coumarin</b>	<b>marron claire</b>	<b>9.46%</b>



**Figure 15**:Rendement des différents extraits de l'espèce *Péganum harmale* L.

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que les rendements des extraits sont variables dans les différentes parties de la plante *Peganum harmala* L. le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut de grain EBG (38.08%), suivi par l'extrait brut aqueuse de graines (29.05%). Et aussi le rendement de la coumarine de la graine présente un rendement important (9.46%).

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits des différentes parties de la graine de la plante *Peganum harmala* L. sont plus ou moins variables et sont plus importants dans la partie grain. Le plus grand rendement déterminé est raisonnablement celui de l'extrait brut. Ces rendements de l'extraction varient en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant.

Les rendements de 10.51%, 2.5%, 1.1% correspondent respectivement à l'extrait brut méthanolique, l'extrait butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle obtenus à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude entreprise par (Beddiar, 2016) sont des pourcentages nettement inférieurs à ceux obtenus dans notre cas (12.37%, 2.7%, 3.9%).

## **II.2. Analyse quantitative d'extrait de la plante *Peganum harmala* L :**

### **II.2.1. Chromatographie sur couche mince CCM des extraits :**

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits (EAcOEt, EnBuOH, Coumarine) à partir des graines de la plante *Peganum harmala* L. On a utilisé la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

Les résultats représentés dans les figures, et les tableaux suivants :

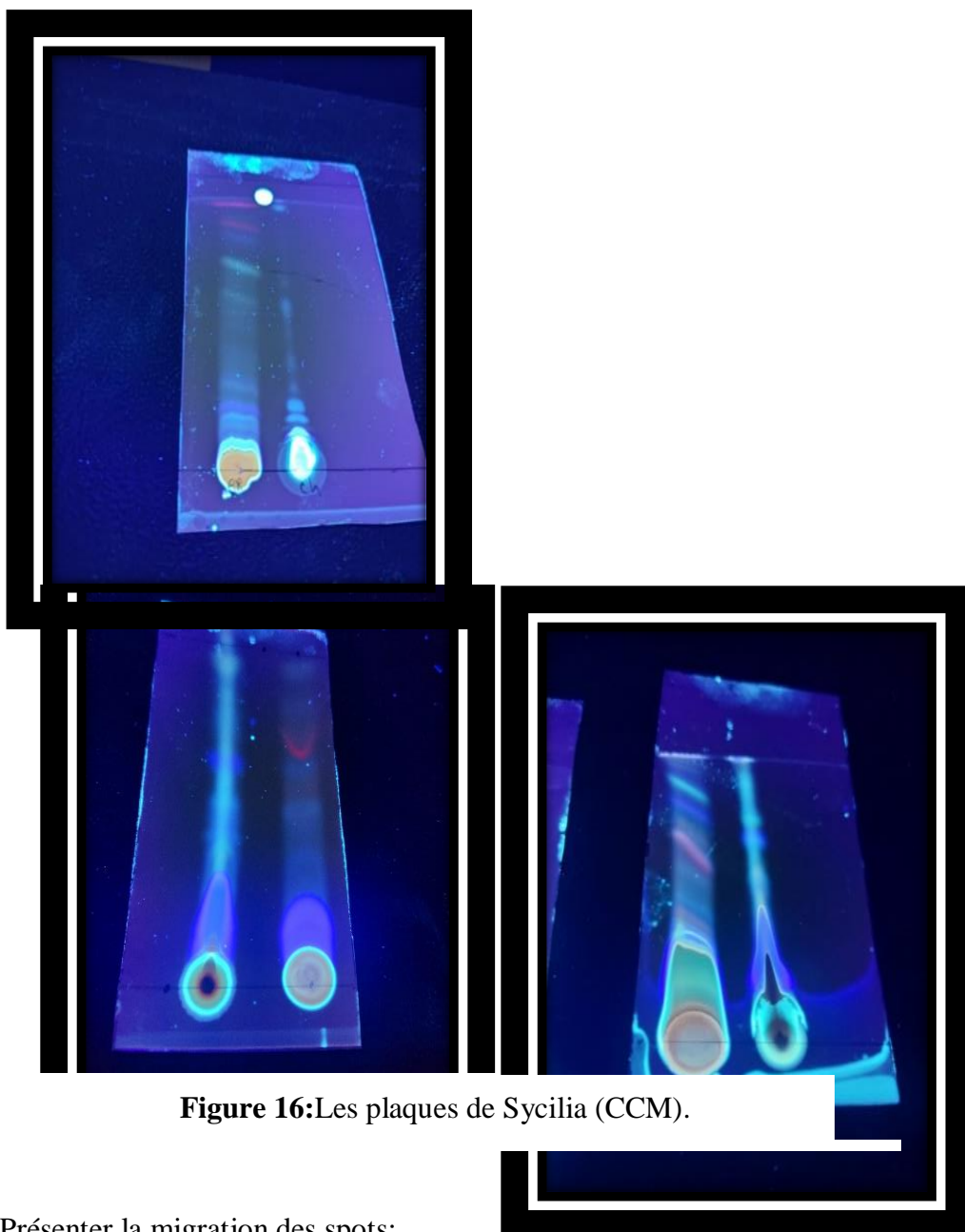


Figure 16:Les plaques de Sycilia (CCM).

Tableau 5:Présenter la migration des spots:

N° des systèmes de solvants	Extrait brute
	Les graines

	N° des spots	Couleurs des spots	RF	N° des spots	Couleurs des spots	RF
<b>1</b> <b>Acétate-chloroforme</b> <b>(7:3)</b>	1	Bleu	<b>0.2</b>	1	Bleu	<b>0.17</b>
	2	Violet	<b>0.23</b>	2	Bleu	<b>0.21</b>
	3	Vert	<b>0.69</b>	3	Vert	<b>0.64</b>
	4	Violet	<b>0.84</b>	4	Bleu	<b>1</b>
	5	Marron	<b>0.89</b>			
	6	Rose	<b>0.97</b>			
	7	Violet	<b>1</b>			
<b>2</b> <b>Heptane-acétate</b> <b>(2:8)</b>	1	Bleu foncé	<b>0.41</b>	1	Bleu claire	<b>0.37</b>
	2		<b>0.58</b>	2	Bleu claire	<b>0.45</b>
	3	Bleu claire	<b>0.74</b>	3	Bleu foncé	<b>0.58</b>
	4	Mauve	<b>0.92</b>	4	Bleu claire	<b>0.72</b>
		Bleu claire		5	Bleu claire	<b>0.81</b>
				6	Bleu claire	<b>0.89</b>

**Tableau 6:** Présenter la migration des spots:

N° des systèmes de solvants	Extrait brute
	Les graines

	N° des spots	Couleur s des spots	RF	N° des spot s	Couleurs des spots	RF
<b>3</b>  <b>Methanol- chloroform</b>  <b>(3:9)</b>	1	Bleu	<b>0.26</b>	1	Bleu claire	<b>0.32</b>
	2	Mauve	<b>0.41</b>	2	Bleu claire	<b>0.38</b>
	3	Vert claire	<b>0.5</b>	3	Bleu claire	<b>0.51</b>
	4	Bleu fiancé	<b>0.56</b>	4	Bleu foncé	<b>0.56</b>
	5	Vert	<b>0.63</b>	5	Bleu claire	<b>0.68</b>
<b>4</b>  <b>Heptane-acetate</b>  <b>(2:6)</b>	1	Bleu claire	<b>0.32</b>	1	Bleu claire	<b>0.39</b>
	2	Bleu claire	<b>0.42</b>	2	Bleu foncé	<b>0.5</b>
	3	Bleu foncé	<b>0.52</b>	3	Rouge	<b>0.58</b>
	4	Bleu claire	<b>0.84</b>	4	Vert claire	<b>0.85</b>

- ❖ Dans le solvants N°1 Acétate-chloroforme (7.3), le nombre des spots sont différents. Ils se trouvent une grande et différents distance entre les spots, Nous observons les spots obtenues (7 spots) très claire d'extrait brute. Pour l'extrait aqueuse, On observe les 3 spots sont bleus et d'autres vert claire, donc l'apparition des spots sont très faibles.
- ❖ Dans le solvants N°2 Heptane-acétate (2.8). Les nombres des spots sont des mêmes couleurs bleus sont (Foncé et ciel) à part une couleur Mauve, la distance entre les spots sont très proches et leur apparition très faible pour l'extrait brute. Pour l'extrait aqueuse les spots sont tout blues claire sauf une couleur Foncé. Donc l'apparition des spots sont très faibles.
- ❖ Dans le solvants N°3 Méthanol-chloroform (3.9), les spots sont différents dans les 5 spots Donc l'apparition des spots obtenus sont claire et net, leur distance entre eux très variables dans l'extrait brute. Pour l'extrait aqueuse. Les nombres des spots sont des

mémés spots (bleu claire) à part bleu foncé. La distance sont très proches donc l'apparition sont faibles par rapport l'extrait brutes.

- ❖ Dans le solvant N°4 Heptane-acétate (2.6), les spots sont tout de même couleur bleu claire sauf la couleur foncée donc l'apparition des spots sont très faibles et proches entre les distances des spots pour l'extrait brute. Pour l'extrait aqueuse, les spots sont clairement apparus et différents (4 spots), la migration entre des spots sont loin de l'un à l'autre.

D'après les systèmes étudiés le meilleur système, le plus efficace qui nous montrons le résultat des spots de CCM (Chromatographie sur couche mince) des extraits, le système représenté est le système Acétate-chloroforme (7.3).

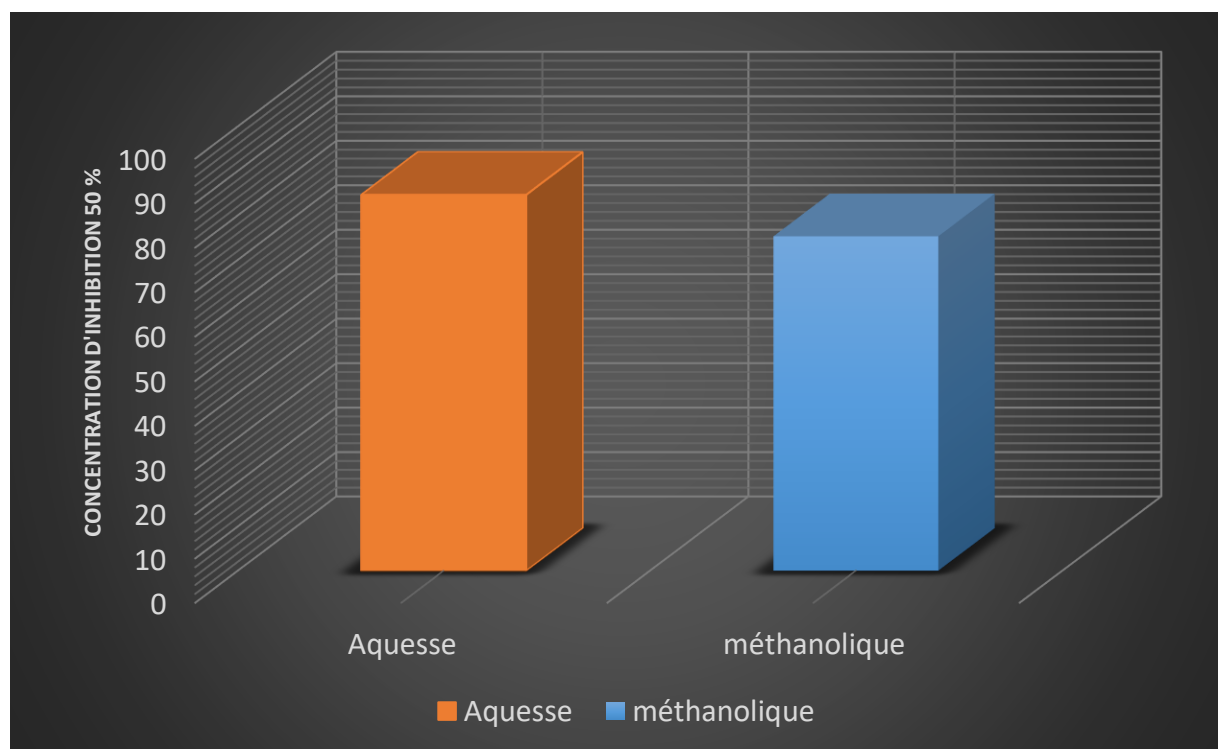
### II.3. Résultats des activités biologique de la plante *Peganum harmala*L :

#### II.3.1. Activité antioxydant :

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique et aqueux pour déterminer l'extrait le plus actif. Nous avons utilisé un test à savoir : l'effet scavenger d'un antioxydant sur le radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) le tableau suivant représente les valeurs des concentrations obtenues :

**Tableau 7:** Les résultats de IC<sub>50</sub>:

	Aquesse	méthanolique
IC <sub>50</sub>	84,64	75,32



**Figure 17** : concentration d'inhibition 50 %.

Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer la courbe qui représente les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique, la détermination graphique de IC<sub>50</sub> se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*. La valeur IC<sub>50</sub> (inhibition concentration 50) présente la concentration d'inhibition nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres. L'IC<sub>50</sub> est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, cela veut dire que la valeur de IC<sub>50</sub> la plus faible correspond à l'activité anti radicalaire la plus importante. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* L. ET de l'extrait Aquesse sont déterminées graphiquement comme c'est présenté dans la (figure 17).

L'extrait méthanolique de *Peganum harmala* rend le radical libre stable (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC<sub>50</sub> de 75,32 µg/ml montrant une activité très forte que le standard, l'extrait aqueuse qui ramène la stabilité au DPPH avec un IC<sub>50</sub> de 84,64 µg/ml. D'après ces résultats nous prouvons que l'acide Aquesse reste l'antioxydant le plus efficace par rapport à l'extrait méthanolique de la plante étudiée.

De même, **Khelifi et al. (2013)** ont trouvé aussi pour la même plante que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique est plus élevé à l'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique (70,16 vs 3,89 µg/ml). D'autres études menées par **Ouzid et al. (2018)** ont révélé que l'extrait fongique brut des mycoendophytes foliaires isolés à partir des feuilles saines de *Peganum harmala* de la région

dayateAiat a une  $IC_{50}$  de 6,15 mg/ml par rapport à l'acide ascorbique qui a  $IC_{50}$  de 0,127 mg/ml. En effet, plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en polyphénols du matériel végétal et sa capacité antioxydante (**Burda et Oleszek, 2001; Vinson et al., 1995**).

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

Leur absorbance maximale à 517 nm, ce qui permet donc d'évaluer l'activité antiradicalaire, spectrophotométriquement, en mesurant toute diminution d'absorbance de DPPH.

Leur grande stabilité, par rapport aux radicaux naturels (le radical hydroxyle et l'anion superoxyde) et vis-à-vis d'autres réactions telles que la chélation métallique des ions ainsi que l'inhibition enzymatique (**Locatelli et al., 2010**).

En présence de composés anti-radicalaires capables de donner un électron ou un atome d'hydrogène, le radical DPPH est réduit conduisant donc à leur neutralisation en un composé non radicalaire (DPPH-H) de couleur jaune pâle. De ce fait, la couleur va se changer du violet au jaune et l'absorbance sera diminuée (**Kubola et Siriamornpun, 2008**).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en  $IC_{50}$ , ce paramètre a été employé par plusieurs chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdulmajed et al., 2005 ; Ranga et al., 2009**). Les résultats obtenus ont révélé une importante activité anti-radicalaire des extraits de *Peganum harmala* envers le DPPH. La comparaison de ces valeurs avec celle des antioxydants standards (Vitamine C) avec  $IC_{50} : 1.009 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ . D'après **Talang (2008)** la vitamine C aide à protéger les cellules du stress oxydatif en fournissant continuellement des électrons, qui sont chimiquement liés aux cellules et neutralisent les radicaux libres. Elle présente l'extrait le plus actif ( $IC_{50} : 61.64 \pm 1.26 \mu\text{g/ml}$ ) puis EHm ( $IC_{50} : 93.38 \pm 2.08 \mu\text{g/ml}$ ). Une étude menée par **Razzagui (2012)** sur *Peganum harmala* a montré des  $IC_{50}$  de l'extrait hydro-méthanolique ( $181 \pm 1.73 \mu\text{g/ml}$ ) similaire avec nos résultats. Les deux extraits hydro-méthanolique et éthanolique de graine de *P. harmala* sont plus riches en polyphénols donc la capacité de piéger les radicaux DPPH est très élevée. Nos résultats sont cohérents avec de nombreux travaux (Ismail et al., 2010). L'activité anti-radicalaire est peut-être liée à la présence

des polyphénols et des flavonoïdes dans ces extraits.

Ce dernier réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal aux groupements hydroxyles portés par la molécule de l'antioxydant (Bondet et al., 1997). La capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits (Ozturk et al., 2007 ; Su et al., 2008 ; Liuk et al., 2009). Tous les extraits de la plante présentent des activités antioxydantes nettement inférieures à celles du produit de référence (acide ascorbique). Cela confirme la validité et la crédibilité de nos résultats. La voltampèremètre cyclique c'est une méthode très facile et reproductible utilisée pour évaluer l'effet de l'activité antioxydante des différents extraits sur l'oxygène.

Le présent travail est axé sur la recherche des substances naturelles l'activité antioxydantes, est réalisée sur les graines de *Peganum harmala*.

### III.3.2. Activité bactérienne :

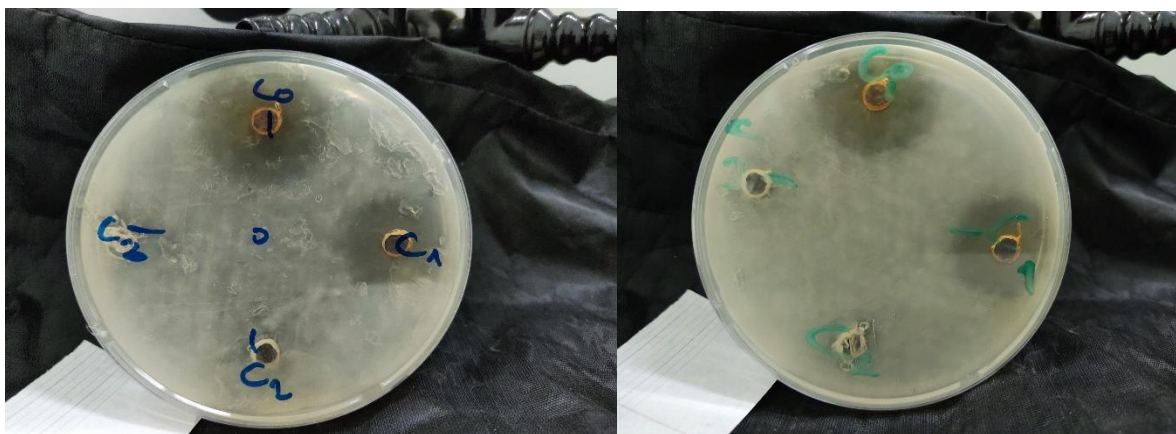
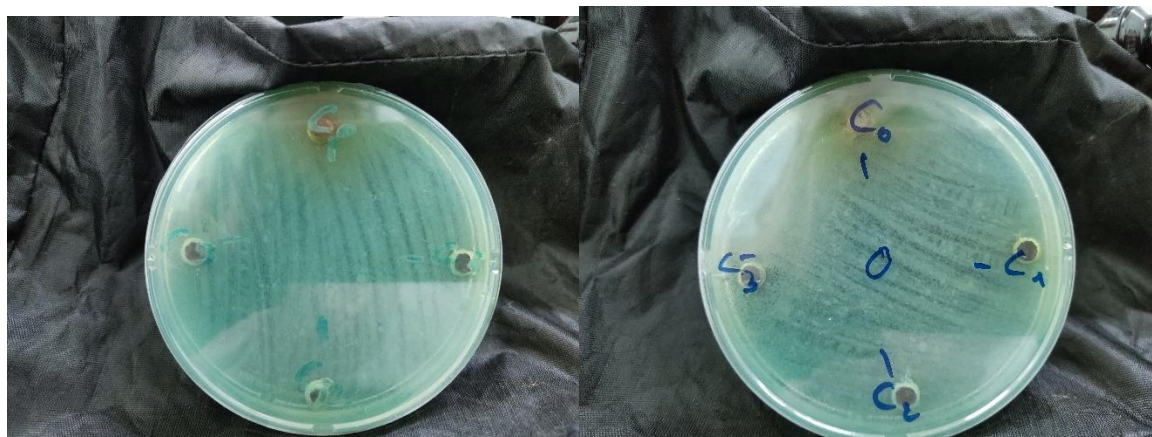


Figure 18: Les souches des bacteries *Bacillus*.



Figure 19: Les souches des bacteries *E.coli*.



**Figure 20:** Les souches des bactéries *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 21:** Les souches des bacteries *Staphylococcus aureus*.

**Tableau 8:** Diamètre de zone d'inhibition de différents extraits de plante *Péganum harmale* L. sur la croissance de *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*

Souches	Concentrations	Diamètre de zone d'inhibition en cm				
		16 mg/ml	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>		1.7	1.5	1.3	0.9	++++
<i>E. Coli</i>		4.1	2.8	0	0	++
<i>Bacillus cereus</i>		2.8	2.3	0	0	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0	0	0	0	----

L'extrait méthanolique de *Peganum harmala* L présente un effet inhibiteur limité sur certain souches testées *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*.

L'inhibition la plus importante est obtenue avec la souche *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition moyen de 4.1 cm. Les diamètres d'inhibition moyens enregistrés pour les autres souches bactériennes sont de 1.7 cm pour *Staphylococcus*, 3cm pour *Bacillus*,

En revanche, nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de *P. harmala* n'a aucun effet sur *Pseudomonas*. (**Figure 22**)

Les résultats mettent en évidence que l'extrait méthanolique a manifesté une activité limitée vis-à-vis des Gram+ et Gram-. L'activité antibactérienne observée de l'extrait méthanolique de *P. harmala* pourrait être attribuée selon les concentrations d'extrait c'est-à-dire la présence de la grande quantité des polyphénols dans cet extrait (**Edziriet al., 2010**). Donc à chaque fois la concentration diminue, la zone d'inhibition va réduire (cette observation à partir de la **Figure 19**). En effet, la littérature rapporte que l'analyse chimique des extraits de la plante révèle la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tanins les flavonoïdes dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées (**Tahrouch et al., 2002**).

Contrairement à nos résultats, **Ghanya (2015)** montre que chacune des quatre concentrations de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* L a une activité assez bien définie sur la croissance de la souche *Bacillus subtilis* avec des diamètres d'inhibition de 20, 17, 15, 13mm respectivement. Mais *E. coli* est résistant vis-à-vis de cet extrait.

En revanche, **Behidj-Benyounes et al. (2015)** ont trouvé qu'*E. Coli* et *P. aeruginosa* sont très résistants à l'extrait éthanolique des feuilles de *P. harmala*. Cependant, *B. subtilis* représente une forte sensibilité à cet extrait avec un diamètre d'inhibition de 20.66mm.

# **CONCLUSION**

## Conclusion :

*Peganum harmala L*, connue également par Harmel, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles, grâce à son contenu en métabolites secondaires.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Leur utilisation est en progression constante, étant donné la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse.

Dans le présent travail, nous avons déterminé le rendement différent extraites, activité antioxydant et les des propriétés antibactériennes de la partie graines de l'espèce *Peganum harmalaL*. récoltée de la wilaya de M'sila.

La détermination du rendement en extraits a montré que les rendements d'extractions varient en fonction du solvant utilisé les graines du notre plante. Les bons résultats sont remarqués chez l'extrait méthanolique brut desgraines avec un pourcentage de 38.08% et d'extrait Aquesse avec un pourcentage de 29.05%. Et l'extraction de coumarine 9.46%.

L'analyse de chromatographie CCM indique la présence des différents composés phénoliques dans les différents extraits de notre plante *Peganum harmala*avec différents nombres des spots et des couleurs avec des 4 systèmes solvant. Le système N°1 (le système Acétate-chloroform (7.3)est le système qui donné une meilleure séparation des molécules avec 07 spots.

Les résultats montrent que l'extraitméthanolique possèdent une activité antioxydant bien intéressant dans la partie des grains avec une  $IC_{50}=75.32$  et  $IC_{50}=84.64$  pour l'extrait aqueuse respectivement.

L'activité antibactérienne des extrais est mis en évidence par la méthode de diffusion ou aromatogramme en présence de 4 espèces bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilus*, *E.Coli*. Les souches sont résistantes au d'extrait testés qui est peut-être due à plusieurs facteurs tel que la méthode d'extraction.

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

Nous concluons que le *Peganum harmala* est une plante riche en polyphénols et flavonoides, ce qui en fait l'une des plantes médicinales les plus importantes pour traiter une variété des troubles, utilisée comme un anti-inflammatoire, elle possède également une forte activité antioxydante. Enfin, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur cette plante et autres plantes médicinales afin d'isoler, de purifier et identifier les principes actifs ayant des activités biologiques.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques :

1. **Mahmoudian M, Jalilpour H, Salehian P., 2002**, Toxicity of *Peganum harmala*: Review and a case report. Iran J Pharmacol Ther; 1:1–4.
2. **Berdai MA, Labib S, Harandou M. Peganum harmala L. 2014**, Intoxication in a Pregnant Woman. Case Reports in Emergency Medicine .Article ID 783236.
3. **Edziri H, Mastouri M, Matieu M, Zine M, Gutman L and Aouni, 2010**, Biological activities of *Peganum harmala leaves*. Afr. J. Biotechnology; 9(48):8199-8205.
4. **Asgarpanah J, Ramezanloo F., 2012** , Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala L.* African J. Pharmacy and Pharmacology ; 6:1573-1580.
5. **El Bahri L;Chemli R..., 1991**,*Peganum harmala L*: A poisonous plant of North Africa. *Vet. Hum. Toxicol.* ; 33: 276–277.
6. **Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, Ferrara SD., 2008**, a case of  $\beta$ -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Sci. Int*; 179, e37–e43.
7. **Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, El Hamidi M, Tligui N, Lyoussi B, Hassar., 2002** , M. Experimental toxicity of *Peganum harmala* seeds. *Ann. Pharm. Fr*; 60, 123–129.
8. **Bruneton J., 1999**. Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales” 3e éd., Lavoisier, Paris.
9. **Bouzidi A, Mahdeb N, Kara N., 2011**. Acute toxicity study of alkaloids of *Datura stramonium* seeds in rat. *Roavs*; 1(8): 482-488.
10. **Dybing E, Doe J, Groten J, Kleiner J, O’Brien J., 2002**. Hazard characterization of chemicals in food and diet: dose response, mechanism and extrapolation issues. *Food Chem. Toxicol*; 42: 237-282.
11. **Kwan Y P,Ibrahim D,Yeng C,Subramaniam S,Sreenivasan S., 2003** .Acute and Subchronic Toxicity Study of *Euphorbia hirta L.* Methanol Extract in Rats. *BioMed Research International*; 14:1–14.
12. **Adeneye AA, Ajagbonna OP, Adeleke TI, Bello, 2006**. SO. Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musangacecropioides* in rats. *J Ethnopharmacol*; 105: 374-379.
13. **Ababsa Z, 2009**: Caractérisation Pharmacotoxicologique ET Etude Phytochimique De *Centaurea Dimorpha*. Thèse de Magistère, Université Mentouri, Constantine, Algérie.
14. **Abbassi K., Mergaoui L., Atay Z., Stambouli A & Ghaout S, 2003** : Effets des extraits de *Peganum harmala L.* (*Zygophyllaceae*) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*. *Forskål, 1775*). *Zool. Baetica* **13/14**, 203-217.
15. **Abed H, 2017** : Dépistage et utilisation des rhizobactéries antagonistes (*pseudomonas* et *bacillus*) dans la lutte biologique contre la fusariose du pois chiche induite par *fusariumoxyporum* F, S, P Ciceris. Lebham. (2005) Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Université de Bretagne Occidentale (UBO),65p.
16. **Aboura R, 2006** : Comparaison phytoécologiques des atriplexaies situées au Nord et au sud de Tlemcen. Thèse de Magister en Ecologie Végétale, Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, Algérie, 157p.

17. **Achour S., Aadi H., Turcnt A., Banani A., Mokhtari A., Soulaymani A & Soulaymani Bencheikh R, 2012** : Intoxication au *Peganum harmala* L. et grossesse : deux observations marocaines. *Peganum harmala* L. poisoning and pregnancy: two cases in Morocco. *Med. Sante. Trop* **22**, 84-86.
18. **Agedilova M., Turmukhambetov A., Schultz E., Shakirov M & Adekenov S, 2006** : Components of the aerial part of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **42**, 226-227.
19. **Agrios G.N, 2005**: plant pathology. 5th ed., elsevier academic press, USA UK.
20. **Aimé S, 1988**: Aspects écologiques de la présence de quelques espèces steppiques (*Stipa tenacissima*, *Lygeum spartum*, *Artemisia herba-alba*, *Noaea mucronata*) en Oranie littorale. *Biocénoses. Bull. Ecol. Terr* **3(12)** ,16-24.
21. **Akpan U. G., Jimoh A & Mohammed A. D, 2006**: Extraction, Characterization and Modification of Castor Seed Oil. *Leonardo J. Sci* **8**, 43-52.
22. **Ammar R., Sghaier M.B., Boubaker J., Bhourri W., Naffeti A., Skandrani I., Bouhleb I., Kilani S., Ghedira K & Chekir-Ghedira L, 2008** : Antioxydant activity and inhibition of aflatoxin B1 , nifuroxazide , and sodium acide- induced mutagenicity by extracts from *rhamnus alaternus* L. *Chem-biol inter* **174**,1-10.
23. **Arab R, 2000**: Effet insecticide des plantes *melia azedarach* L et *Peganum Harmala* L sue l'insecticide des céréales *stochétribolium castaneum herbest (coleoptera, tenebrionidae)*. Mémoire option de valorisation des ressources végétales, université Ferhat Abbas, Sétif, pp. 20-22, 33-37.
24. **Armstrong GM., Armstrong JK, 1981**: Formes spéciales et races de *Fusarium oxysporum* causant des maladies de la wilte. In: *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*. Nelson PE., Toussoun TA & Cook RJ. eds., University Park, PA, USA: State University Press, pp. 391–399.
25. **Asgarpanah J., Ramezanloo F, 2012**: Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *Afr. J. Pharm. Pharmacol* **6**, 1573-1580.
26. **Astulla A., Zaima K., Matsuno Y., Hirasawa Y., Ekasari W., Widayawaruyanti A et al, 2008** : Alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* showing antiplasmodial and vasorelaxant activities. *J. Nat. Med* **62**, 470–2.
27. **Baayen R.P, 2000**: Van den boogert P.H.J.F., waalwijkc.
28. **Baghiani A., Djarmouni M., Boumerfeg S., Trabsa H., Charef N., Khennouf S & Arrar L, 2012** : Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Effects of *Peganum harmala* Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants* **1**, 42-56.
29. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Gazin J. C., Pinkas M., Luycky M & Gazin M, 1996**: Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittel-forschung* **46**, 1086-1094.
30. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M & Gazin M, 1996**: Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Drug Research*, 1-6.
31. **Bekkar A, 2016** : Pouvoir antagoniste et mode d'action de *trichoderma* vis à vis quelques champignons phytopathogènes.
32. **Bellakhdar J, 1997** : La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Saint Etienne, 764 p.

33. **Benbott L., Bahri L., Boubendir a &Yahia A, 2013:** study of the chemical components of *peganum harmala* and évaluation of acute toxicity of alkaloids extracted in the wistaralbinomice **4**,588-565.
34. **BlackwellM, 2011.** The fungi: 1, 2, 3...5.1million species. *American Journalof Botany*, 98(3):426–438
35. **Boudjouref M, 2011:** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris*L. thèse de magistère, université de sétif. 97pp
36. **Boullard B, 1997 :** Plantes and champignons: dictionnaire De Boeck Secundair, 875p.
37. **Bouziane N, 2012 :** Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbiaguyoniana*Boiss. &Reut. (*Euphorbiaceae*) et de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) récoltés au SaharaSeptentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Thèse Magister en Sciences Agronomiques, Ouargla, 72p.
38. **Bruinvels J., Sourkes T.L, 1968:** Influence of drugs on the temperature lowering effect of harmaline. *European Journal of Pharmacology***4**, 31–39.
39. **Bruneton J, 1993 :** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales.2<sup>ème</sup>Ed. Lavoisier, paris.
40. **Bruneton J, 1999 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.3<sup>ème</sup> Ed., Tec et Doc, Lavoisier, paris, 1120p.
41. **Bruneton J, 2001 :** Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Ed., Technique ET documentation ET EM1, Paris.
42. **Burgess LW, 1981:** General Ecology of the Fusaria. In: Fusarium: diseases, biology and taxonomy. Nelson PE., ToussounTA&CookRJ.eds., University Park, PA, USA: The Pennsylvania State University Press,pp. 225–235.
43. **Chopra IC., Abral BK &Handa KL, 1960 :** Les plantes médicinales des régions aridesconsidérées surtout du point de vue botanique. UNESCO, 97p.
44. **Chopra R.N., Chopra I.C., Handa K.L &Kapur L.D, 1958:** Chopra's Indigenous Drugs of India.2nd ed., UN Dhur and Sons Pvt. Ltd, Calcutta, India, 370p.
45. **Claude L, 1967 :** Contribution à l'étude du *Peganum harmala* L. (Hermel). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, 74p.
46. **Couplan F., Styner E, 2000 :** Guides des plantes sauvages comestibles et toxiques. Ed.,delachaux et neistlé,Paris, pp.378-379.
47. **Darabpour E., Bavi AP., Motamedi H &Seyyed-Nejad SM, 2011:** Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *EXCLI. J***10**, 252-263.
48. **Davood F., Nazanin M, 2005:** Antidepressant-like effect of harmaline and other Bcarboline in the mouse forced swim test. *EuropeanNeuropsychopharmacology***16**, 324-328.
49. **Delarras C, 2007 :** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed., TECetDOC.lavoisier.
50. **Djedioui A, 2009 :** Evaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiantedel'extrait aqueux d'*Inulaviscosa*; une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabèteinduit. Thèse magister, Universitéd'Annaba, 55p.

51. **Fan ZR, Yao XS, 1992:** Studies on the constituents and pharmacological effects of *Peganum*. *J. Shenyang. Coll. Pharm***9**, 144-151.
52. **Farouk L., Laroubi A., Aboufatima R., BenharrefA&Chait A, 2007:** Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.Possible mechanisms involved. *Journal of Ethnopharmacology***115**,449–454.
53. **Farouk L., Laroubi A., Ouachrif A., Aboufatima R., BenharrefA&Chait A, 2009:** Study on Antinociceptive Activity of Different Extracts of *Peganum Harmala*andPossible Mechanism of Action.*Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics***8**, 29-35.
54. **Fravel D.,OlivainC&AlabouvetteC, 2003:** Fusariumoxysporum its biocontrol.
55. **Frison G., Favretto D., Zancanaro F., Fazzin G & Ferrara SD, 2008:** A case of  $\beta$ -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic.Sci.Int***179**, e37–e43.
56. **Garba A, I, 2006:** Production of Detergent from Castor Oil. *Pract. Technol***9**, 153-160.
57. **Garrett SD, 1970:** *Pathogenic root-infection fungi*. London, UK: CambridgeUniversity Press.
58. **Georgé S., Brat P., Alter P &Amiot JM, 2005:** Rapid determination of polyphenolsand vitamin C in plantderivedproducts.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1370-1373.
59. **Gordon TR., Martyn RD, 1997:** The evolutionary biology of *Fusariumoxysporum*. *Annual Review of Phytopathology* **35**,111–128.
60. **Hammiche V., Merad R** (page consultée en 1997) *Peganum harmala* L. <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim402fr.htm>
61. **Herraiz T., González D., Ancín-Azpilicueta C., Arán V.J &Guillén H,2010 :** Beta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food.Chem. Toxicol* **48(3)**, 839-45. **Hilal H.S., Young ken H.W, 1983:** Certain poisonous plants of Egypt.In: Pharmaceutical Society of Egypt. The National Information and Documentation Centre. Ed., Dokki, Cairo, Egypt, pp. 88–90.
62. **Hua S., Xiaoli H., YuanmingZ&Chi Z, 2013:** Main Alkaloids of *Peganum harmala* L and Their Different Effects on Dicot and Monocot Crops. *Molecules* **18**, 2623-2634.
63. **Huang D., Ou B &Prior R.L, 2005:** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841-1856.
64. **Idrissi Hassani LM., Hermas J, 2008 :** Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L (*Zygophyllaceae*) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk (*Orthoptera, Acrididae*). *Zool. Baetica***19**, 71-84.
65. **Idrissi LMH & Miloud EH, 2013 :** Analyse de la composition de l'huile de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*).*Acta Bot. Gallica*, **146 (4)**. 353-359.
67. **Jahandiez E., Maire R, 1932 :** Catalogues des plantes du Maroc: Vol. II Minerva, Alger. 557 p.
68. **Kar A., 2007:** Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology.2<sup>nd</sup>Ed.,*NewAgeInternational (P) Limited*,Daryaganj, New Delhi, pp.122-777.
69. **Kartal M., Altun ML &Kurucu S, 2003:** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal ofPharmacological and Biomedical Analysis* **31**,263-269.
70. **Khashimov K., Telezhenetskaya M&Yunusov S, 1969:**Desoxypeganine: A newalkaloid from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **5**,381-382.

71. **Kirtikar K.R., Basu B.D, 1935:** Indian Medicinal Plants.Vol 1.2nd ed., Lalit Mohan Basu, Allahabad, 457p.
72. **Kurachko K., UmarovA&Markman A, 1969:** The oil of the seeds of *Peganumharmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **5**,358-359.
73. **Lamchouri F., Settaf A., Cherrah Y., Hassar M., Zemzami M., Atif N., Nadori EB., Zaid A & Lyoussi B,2000 :** *In vitro* cell-toxicity of *Peganum harmala* alkaloids on cancerous cell-lines. *Fitoterapia***71**, 50-54.
74. **Lamchouri F., Zemzami M., Jossang A., Abdellatif A., IsrailiZH&Lyoussi B,2013 :** Cytotoxicity of alkaloidsisolatedfrom*Peganumharmalaseeds*. *Pak. J. Pharm. Sci* **26 (4)**, 699-706.
75. **Lavergne** (page consultée en 2013) Zygothylacées.<http://www.universalis.fr/encyclopedie/zygophyllacees>
76. **Le Bourgeois T., Merlier H, 1995 :** Adventrop: les adventicés d'Afrique soudanosahélienne. Montpellier, CIRAD-CA, 640 p.
77. **Lebham,2005 :** Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Université de Bretagne Occidentale (UBO),65p.
78. **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J & Lee C.Y, 2003:** Cocoa Has More phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 7292-7295.
79. **Li H B .,Cheng K W., Wong CC., Fan K W.,Chen F & Jiang Y, 2007:**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae.*Food Chemistry* **102**,771-776.
80. **Li W.K, 1996:** Extraction of alkaloids from *Peganum harmala* L and study on their antihydatic chemical composition. *Journal of Lanzhou Medical College* **22**, 16–18.
81. **Li YK., 2005:** Study on the chemical constituents of above ground of *Peganum harmala* L. Master Dissertation, Northwest Agriculture Forestry University, Shanxi.
82. **Ma ZZ. Hano Y &Qiu F, 2007:** Triterpenoids from *Peganum nigellastrum*. *J. Asian. Nat. Prod. Res***9**, 575578.
83. **Mahmoudian M., Jalilpour H & Salehian P, 2002:** Toxicity of *Peganum harmala*:Review and a Case Report. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics***1(1)**, 1-4.
84. **Maihebiau, 1994 :** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle est des odeurs. Lausanne,635p.
85. **Maire R, 1933 :** Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central, Vol 1 et 2 Impr. La Typo-litho, 272p.
86. **Malecky M. (2005)** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins.Doctorat de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, 9- 13-19, 20, 27p.
87. **Mars B, 2009:** The Desktop Guide to Herbal Medicine. Publisher,ReadHowYouWant, 492 p.
88. **MatyushchenkoN.V.,Step nova T.A , 2003 :** quantitative determination of the total content of flavonoids in the new phytopreparationElima.*pharmaceutical chemistry journal* **37**, 261-263.
89. **McCormick S.J., Tunnicliff G, 1998:** Inhibitors of synaptosomal gammahydroxybutyrate transport. *Pharmacology* **57**, 124–131.

90. **Mina CN., Mohammad H F &Gholamreza, 2015:** Medicinal properties of *Peganum harmala* L.In: traditional Iranian medicine and modern phytotherapy: a review. *J. Tradit. Chin. Med* **35(1)**, 104-109.
91. **Nedjimi B., Guit B, 2012 :** Les steppes algériennes : causes de déséquilibre. *Revue* **2(2)**, 50–61.
92. **Nenaah G, 2010:** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia***81**,779–82.
93. **O’Hearn E., Molliver M.E, 1993:** Degeneration of Purkinje cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. *Neuroscience* **55**, 303–310.
94. **Olivain C., Alabouvette C, 1997:** Colonization of tomato root by a nonpathogenic strain of *Fusariumoxysporum*. *New Phytologist***137**,481–494
95. **Ozanda P., 1991 :** Flore et végétation du Sahara. In : mémoire de master Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l’univers AboubakrBelkaïd-Tlemcen.3éme édition. Ed., CNRS, Paris, pp.662.
96. **Ozenda P, 1977:** Flore du Sahara. CNRS, 322p.
97. **Parsons WT., Cuthbertson EG, 1992:** Noxious Weeds of Australia. InkataPress,Melbourne, 692p.
98. **PreedyVR., Watson RR & Patel VB, 2011:** Nuts and Seeds in Health and Disease
99. Prevention. AcademicPress, 1226 p.
100. **Psychonaut**, page consultée en 2006 : Conseil culture *Peganum harmala* L.<http://www.psychonaut.com/salonannonces-generales/23382-conseilculture.html>
101. **Quezel P., Santa S, 1963 :** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiquesméridionales du CNRS, 600p
102. **Qurat UA, 2013:**Isolation, Characterization and Pharmacological screening of major ingredients from a medicinally important plant, *Peganum harmala*.Master of philosophy in chemistry, University of Kashmir Srinagar, India, 36 p.
103. **Rahimi-Moghaddam P., Ebrahimi SA., Ourmazdi H., Selseleh M., Karjalian M., HajHassani G., Alimohammadian MH., Mahmoudian M &Shafiei M, 2011:** *In vitro* and *in vivo* activities of *Peganum harmala* extract against *Leishmania major*. *Journal ofResearch and Medical Science***16**, 1032-1039.
104. **Rezzagui A, 2012 :** Evaluation de l’effet toxique de l’extrait brut et de l’activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala*. Magister, universitéFerhat Abbas, Sétif, 78p.
105. **Roché C, 1991:** African rue (*Peganum harmala* L.). In : Weeds, A Pacific Northwest Extension Publication, Washington State University Cooperative Extension, Oregon State University Extension Service, University of Idaho Cooperative Extension System, USDA, PNW369.
106. **Saeed S.A., Farnaz S., Simjee R.U & Malik A, 1993:** Triterpenes and Bsitosterol from piper betel: isolation, antiplatelet and anti-inflammatory effects. *Biochemical Society Transactions***21**, 462S.
107. **Sharaf M., El-ansari MA. Stephen A M &Nabiel AMS, 1997:** Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*.*Phytochemisr***44(3)**, 533-536.
108. **Sheahan MC, Chase M, 1996:** A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R. Br. based on morphological anatomical and rbcL DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc* **122**: 279-300.

109. **Siddiqui S, Khan OY, Faizi S, and Siddiqui B S, 1978:** Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*: Isolation and structure elucidation of two  $\beta$ -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles* **27**: 1401-1410.
110. **SRIFI A, 2011 :** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de quatre espèces du genre *nepeta* du Maroc. Doctorat en Pharmacie, université Ibn Sina, Rabat, Maroc, 79p.
111. **Su X., Duan J., Jian Y., Shi J & Kakuda Y, 2006:** Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *J. Food. Compos. Anal* **19**, 348-353.
112. **Tahri N., Rhalem N & Soulaymani R, 2004 :** L'intoxication au Harmel, *Peganum harmala*. *Esperance Med* **10(5)**, 1-6.
113. **Watson RR., Patel VB & Preedy VR., 2011:** Nuts and seeds in health and disease prevention. Elsevier, Burlington, 597p.
114. **Windels CE, 1992:** Fusarium. In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. Singleton LL, Mikhail JD & Rush CM. eds., St Paul, MN, USA: American Phytopathological Society, pp. 115-128.
115. **Ghanya, A .2015.** Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Yemeni Medicinal Plants. *International Journal of Herbal Medicine* **3(3)**: 06-11
116. Behidj-Benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., Demmouche, K .2015. Screening Phytochimique et evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'SILA. *Sciences & Technologie*.
117. **Tahrouch, S., Rapior, S., Mondolot-Cosson, L., Idrissi-Hassani. L. A., Bessière. J. M et Andary. C. 2002.** *Peganum Harmala* : source combinée d'arômes et de colorants. 3337.pp.
118. **Edziri, H., Mastouri, M., Matieu, M., Zine. M., Gutman L & Aouni M. 2010.** Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology* Vol. **9(48)**, PP. 8199-8205.
119. **Zharekeev B., Khashimov K., Telezhenetskaya M & Yunusov S, 1974:** New alkaloids from *Peganum harmala*. *Chem Nat Compd* **10**, 282-283.
120. **Khelifi, D., Sghaier, R., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., Bouajila, J. 2013.** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Rutachalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology* **55** : 202-208.
121. **Burda S. et Oleszek W., 2001.** Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49** : 2774-2779 in Projet de fin d'étude pour l'obtention du diplôme National d'Ingénieur. Université de Carthage.
122. **Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N et Houali, K. 2018.** Comparative study of *in vitro* antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate Aiat (LAGHOUAT, ALGERIA) *Journal of Fundamental and Applied Sciences.*, **10(1)**, 147-157.



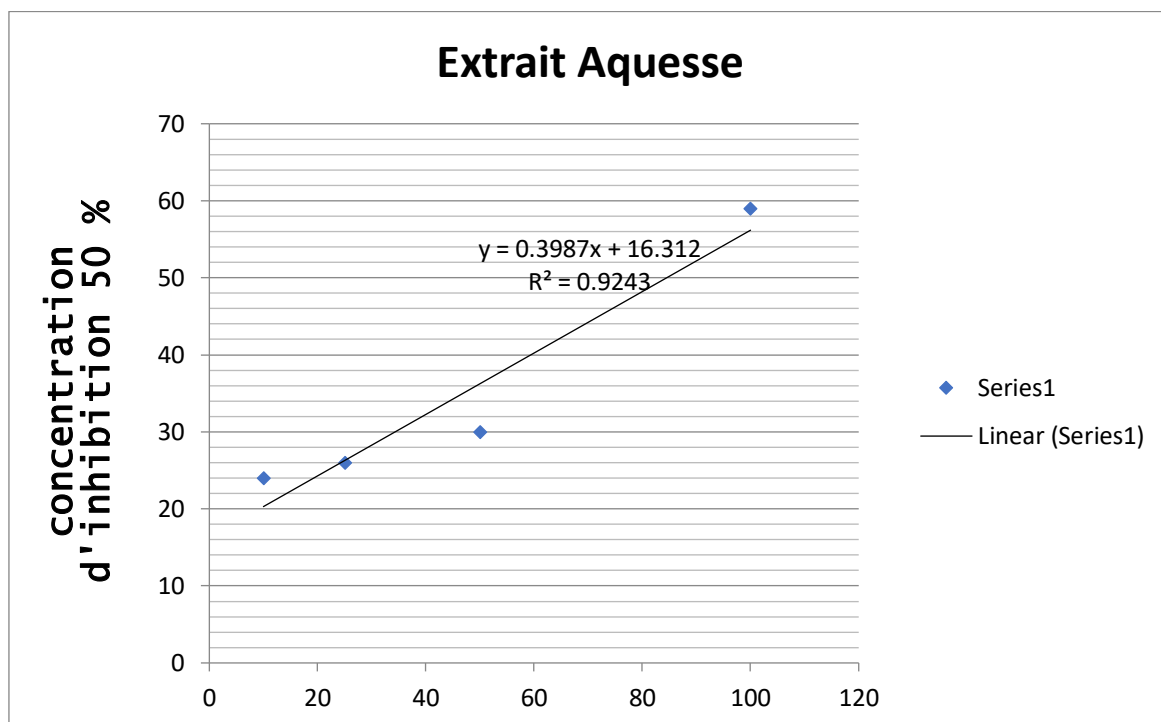
# ANNEXES

## Annexes:

### Equations:

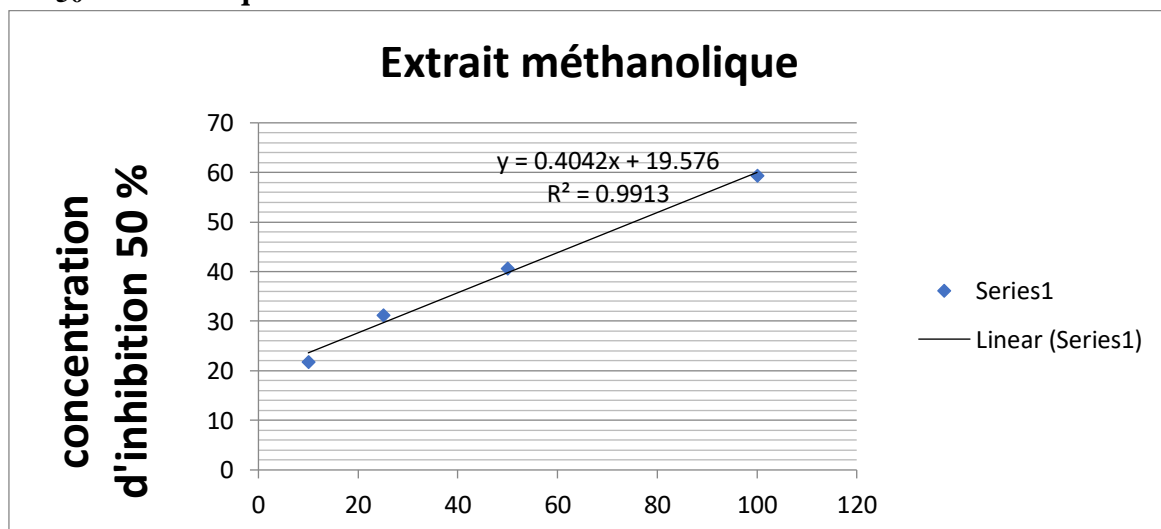
- $y = 0,3987x + 16,312$   
 $R^2 = 0,9243$
- $y = 0,4042x + 19,576$   
 $R^2 = 0,9913$

### IC<sub>50</sub>Aquesse:



Concentration d'inhibition 50 % d'extrait Aquesse.

### IC<sub>50</sub> Méthanolique:



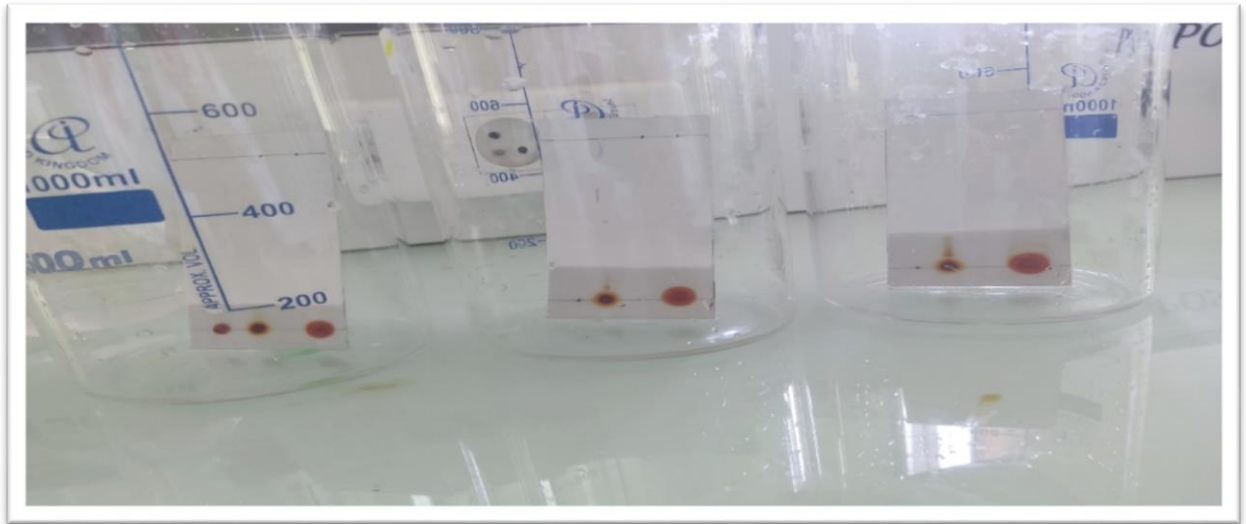
Concentration d'inhibition 50 % d'extrait Méthanolique.

## Matériels et produits utilisés :

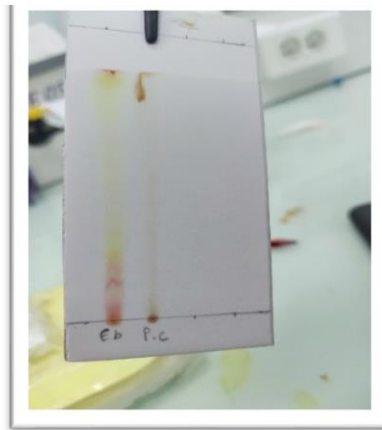
Matériels	Produits
<ul style="list-style-type: none"><li>• Becher</li><li>• Erlenmeyer</li><li>• Pipette Pasteur</li><li>• Burette</li><li>• Balance</li><li>• Agitateur/ plaque chauffante</li><li>• Vortex</li><li>• Ballon</li><li>• Ampoule à décantation</li><li>• Micropipette</li><li>• Ependove</li><li>• Plaque de CCM</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• L'eau distillé</li><li>• Méthanol MeOH</li><li>• Chloroform CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></li><li>• Acide chlorohydrique HCl</li><li>• Hydroxyde d'ammonium NH<sub>4</sub>-OH</li><li>• Acétate d'éthyle</li><li>• DPPH</li><li>• DMSO</li><li>• Gélose nutritive</li><li>• Heptane</li></ul>



Méthode d'activité antioxydant.



Les plaques de Sycilia la Chromatographie sur couche mince CCM.



Des plaques de Sycilia.

## Résumé :

L'harmel est considéré comme l'une des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne. La consommation de ses graines agit comme anesthésique et antispasmodique. Il est également utilisé dans certains cas pour traiter les rhumatismes, l'asthme et le diabète. Le but de cette étude est d'estimer la quantité de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les coumarines présents dans la plante qui sont obtenus par extraction par certains solvants chimiques tels que le méthanol et le chloroforme et avec de l'eau distillée. Ces extraits sont appelés extrait méthanolique et extrait d'EBG. brute méthanolique et aqueuse Elle permet d'étudier l'effet des antioxydants à l'aide de DPPH, et d'étudier l'effet des antibactériens sur quatre souches bactériennes: *E.coli*, *Staphylocoque*, *Pseudomonas* *Bacillus*. Où les résultats ont conduit à ce que l'extrait méthanolique et aqueux de rue avait un effet antibactérien significatif contre les souches bactériennes, à l'exception de la souche *Pseudomonas*, qui n'a enregistré aucun effet.

Les mots clés: *Péganum harmala*, Antioxydante, Antibactérienne DPPH,

## ملخص :

يعتبر الحرمل من النباتات المستعملة في الطب التقليدي الجزائري حيث استهلاك بذوره يعمل دور مخدر و مضاد للتشنج و يستخدم ايضا في بعض الحالات لعلاج الروماتيزم و الربو و لعلاج السكري .

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير كمية المركبات الفينولية مثل الفلافونويد و الكومارين الموجودة في النبات التي يتم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص بواسطة بعض المذيبات الكيميائية مثل الميثانول و الكلوفورم و بالماء المقطر تسمى هذه المستخلصات مستخلص ميثانولي و مستخلص مائي الذي يستعمل في دراسة تأثير مضاد الاكسدة و تأثير مضاد البكتيريا على اربع سلالات بكتيرية *E.coli*, *Staphylocoque*, *Pseudomonas*, *Bacillus* حيث ادت النتائج الى ان مستخلص الحرمل الميثانولي و المائي لديه تأثير كبير مضاد لبكتيريا ضد سلالات البكتيرية الا سلالة *Pseudomonas* لم تسجل اي تأثير .

الكلمات المفتاحية : *Peganum harmala* مضاد الاكسدة، مضاد للبكتيريا, DPPH ,

## Abstract:

Harmel is considered one of the plants used in traditional Algerian medicine. Consumption of its seeds acts as anaesthetic and antispasmodic. It is also used in some cases to treat rheumatism, asthma and diabetes.

The purpose of this study is to estimate the amount of phenolic compounds such as flavonoids and coumarin present in the plant that are extracted by certain chemical solvents such as methanol and chloroform and distilled water. These extracts are called methanol extract and EBG extract. Raw methanol and aqueous, it allows studying the effect of antioxidants using DPPH, and to study the effect of antibacterials on four bacterial strains: *E.coli*, *Staphylococcus*, and *Pseudomonas Bacillus*.

Where the results led to the methanol and aqueous street extract having a significant antibacterial effect against bacterial strains, with the exception of the *Pseudomonas* strain, which recorded no effect.

Key words: *Péganum harmala*, Antioxidant, Antibacterial DPPH,.