



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
قسم العلوم البيولوجية  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Thème

**Etude phytochimique et activités biologiques des  
huiles fixe et essentielle de la plante *Peganum  
harmala***

Présenté par : Kahil Merbouha  
Rouabah Imane

Devant le jury :

Président :	M <sup>f</sup> Samari H	MAB	(Université de BBA)
Encadrant :	M <sup>me</sup> Guergour H	MCB	(Université de BBA)
Examineur 1 :	M <sup>f</sup> Bellik Y	MCA	(Université de BBA)

Année universitaire : 2018/2019

## Résumé

*Peganum harmala* est un arbuste appartient à la famille des zygophyllacées. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. La présente étude visait à réaliser un screening phytochimique préliminaire qui a révélé la présence des alcaloïdes, des tannins, des coumarines dans les graines. La partie aérienne de la plante (tiges et feuilles) a été soumise à une hydrodistillation pour l'extraction des HEs, alors que l'extraction des HF des graines est obtenue par Soxhlet. Le rendement était de 4,59 %, pour les HEs et 11,54 % pour les HF. La teneur en polyphénols totaux des HF a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 53,4 mg équivalent acide gallique/ml. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium AlCl<sub>3</sub>, la teneur est de 0,81 mg équivalent quercétine/ ml.

L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de DPPH, les concentrations inhibitrices à 50 % (IC<sub>50</sub>) sont estimées à (22,52 ±1,96 µg /ml) (HEs) et de (139± 2,86 µg/ml) (HF). L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes (Gram+ et Gram-) selon la méthode de puits, les deux huiles a montré un effet inhibiteur sur *E.coli* et *P. aeruginosa*.

**Mots clés:** *Peganum harmala* ; Huiles essentielles ; Huiles fixes ; activité antioxydante; activité antimicrobienne.

## ملخص

*Peganum harmala* نبتة تنتمي إلى عائلة Zygophyllacées, من النباتات الأكثر استعمالا في الطب التقليدي في الجزائر. تم في هذه الدراسة اجراء الفحص الفيتو كيميائي الاولي الذي بين وجود القلويدات و الكومارين في بذور الحرمل. الزيوت الاساسية استخرجت من الجزء العلوي للنبات (الاوراق و الأغصان) بطريقة Hydrodistillation بينما الزيوت النباتية استخلصت بواسطة Soxhlett. المرودود 4,59 % بالنسبة ل HE و 11,54 % بالنسبة ل HF. تقدير عديدات الفينول الكلية في HF باستعمال متفاعل Folin- ciocalteu حيث قدرت النسبة ب 53,4 ملغ/مل اما الفلافونويدات الكلية قدرت بطريقة ALC13 فكانت 0,81 ملغ/مل. تقييم النشاط المضاد للأكسدة باختبار DPPH أثبت وجود نشاط مضاد للأكسدة حيث كانت IC<sub>50</sub> (22,52,µ /ml ±1,96) بالنسبة ل HE و IC<sub>50</sub> (139± 2,86 µg/ml) بالنسبة ل HF. النشاط المضاد للبكتيريا على ثلاثة فصائل من البكتيريا Gram+ و Gram- في هذه الدراسة اثبت وجود نشاط كبير للزيوت على *E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa*.

**الكلمات المفتاحية :** الحرمل ، الزيوت الاساسية ،الزيوت النباتية، النشاط المضاد للاكسدة النشاط المضاد للبكتيريا .

## Abstract

*Peganum harmala* is a plant that belongs to the Zygophyllaceae family. It is one of the most widely used plants in traditional medicine in Algeria. A preliminary phytochemical screening was performed in this study, which revealed the presence of alkaloids, tanins, and coumarins in the seeds of *Peganum harmala*. The essential oil extract from the top part of the plant (leaves, branches) was obtained by hydrodistillation, while the vegetable oil was obtained by Soxhlet extraction. The yield for HE was estimated by 4.59% and 11.54% for the HF. The total polyphenol content was measured in HF using a Folin-Ciocalteu reagent, it was 53.4 µg EQ/mg, while the total flavonoid content was measured by AlCl<sub>3</sub>, it was 0.80 µg EQ/mg. On the other hand, the antioxidant activity evaluated by DPPH test proved the presence of antioxidant activity estimated by IC<sub>50</sub> (1.96 ± 22.52 µl/ml) for the essential oil and IC<sub>50</sub> (139 ± 2.86 µg/ml) for HF. The antibacterial activity tested *in vitro* against three types of bacteria in this study has proven the presence of a remarkable effect of oils on (*Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and an absence of effect on *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** *Peganum Harmala*, essential oil, vegetable oil, antioxidant activity, antibacterial activity.

## **Remerciements**

*Avant toute chose, Nos remerciement à Dieu, le tout puissant, pour nos avoir donnée la force et la patience.*

*Nous exprimons nos profondes gratitude à **Mme H. Guergoure**, qui nos fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail. Ses conseils pertinents nos ont permis de mener à terme ce travail.*

*Nous remercions les membres de jury **M<sup>r</sup> Samari H.** et **M<sup>r</sup> Bellik Y.** d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Nous ne remercierions jamais assez **Mme MEZITI .A** et **Mr Sadrati .N** pour les nombreux services qu'ils nous ont rendus durant la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de nos remerciements les plus amicaux.*

*Nous remercierions **Mr. MAKHOUKH. N** responsable des laboratoires pédagogiques (SNV) université BBA. Nos sincères remerciements vont également à tout le personnel de laboratoire pédagogique de chimie (**Sabrin et Fadhila**) pour leurs diverses contributions.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail et que nous ne l'avons pas mentionné par son nom, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements*

## *Dédicaces*

*Merci ALLAH...*

*Je dédie ce travail*

*Aux êtres les plus chers : Mes parents,*

*A mon père,*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller*

*toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.*

*J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il*

*soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A ma mère,*

*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 CHÈRES PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.*

*A mes belles sœurs : Merzaka, Sabrina, Amina et Affaf pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse*

*A mes chers frères : Abid, Lazher, Yacine, ABD el Malek, Zorgan et Khalil*

*Mes amis : Yasmin Hamoudi, Merbouha, Sarra, Linda kerboua, Hanane, Fatima, Wissam et Latifa.*

*Merci ALLAH...*

*Je dédie ce travail*

*Aux êtres les plus chers : Mes parents,*

*A mon père,*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller*

*toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.*

*J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il*

*soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A ma mère,*

*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 belles sœurs : Salima ,Sonya ,Silya ,linda et Amira pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse*

*A mes chers frères : nadjeh et karim*

*A ma tante Saadia*

*Mes amis : Imane , Samira ,Zahra ,Nadjoua ,Ftima ,Hanan et wissam*

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie Bibliographique</b>	
<b>I .1.Présentation de la plante <i>Peganum harmala</i></b> .....	<b>3</b>
I.1.1 Généralités.....	3
I. 1.2 Description de la plante.....	3
I.1.3 Distribution géographique.....	4
I.1.4 Classification .....	4
I.1.5 Noms vernaculaires.....	5
I.1.6 Composition chimique de la plante .....	5
I.1.7 Usage traditionnelles.....	6
I.1.8 Intérêt pharmaceutique de <i>Peganum harmala</i> .....	6
I.1.9 Toxicité .....	7
<b>I.2 Les huiles essentielles et les huiles fixes</b> .....	<b>8</b>
<b>I.2.1 Les huiles essentielles</b> .....	<b>8</b>
I.2.1.1 Définition .....	8
I.2.1.2 Composition chimique .....	8
I.2.1.3 Les méthodes d'extraction .....	9
I.2.1.4 Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles .....	11
I.2.1.5 Activités biologiques des huiles essentielles.....	11
<b>I .3 Les huiles fixes</b> .....	<b>11</b>
I.3.1 Définition .....	11
I.3.2 Composition chimique.....	12
I.3.4 Méthode d'extraction.....	12
<b>I.4 Le stress oxydatif</b> .....	<b>13</b>
I.4.1Définition .....	13
I.4.2 Les radicaux libres .....	13
I.4.4 Les maladies liées au stress oxydatif .....	14
I.4.5 Les antioxydants .....	15

<b>I.5 Activité antimicrobienne</b> .....	<b>16</b>
1.5.1 Antibiotiques.....	16
1.5.2 Description des bactéries étudié.....	16

## **Matériel et méthodes**

<b>II.1 Matériel</b> .....	<b>18</b>
II.1.1 Matériel végétal.....	18
<b>II.2 Méthodes</b> .....	<b>19</b>
II.2.1 Tests qualitatifs de la composition chimique.....	19
II.2.2 Extraction d'huile fixe.....	20
II.2.3 Extraction d'huile essentielle (HE).....	20
II.2.4 Dosage des polyphénols totaux.....	22
II.2.5 Dosage des flavonoïdes totaux.....	22
II.2.6 Tests, <i>in vitro</i> , de l'activité antioxydante.....	23
II.2.6.1 Effet scavenger du radical DPPH.....	23
II.2.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	24

## **Résultats et discussion :**

<b>III. Résultats</b> .....	<b>26</b>
III .1 Rendements des extractions.....	26
III.2 Screening photochimique.....	28
III.3 Activité antioxydante des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	30
III.4.1 Effet piègeur envers le radical DPPH.....	32
III.5 Activité antibactérienne des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	35
<b>Conclusion</b> .....	<b>38</b>

## **Références Bibliographiques**

### **Annexes**



# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Les fleurs et feuilles de la plante <i>Peganum harmala</i> .....	<b>04</b>
<b>Figure 2:</b> Les alcaloïdes B-carbolines de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 3:</b> Schéma représentant les principaux constituants des HE.....	<b>09</b>
<b>Figure 4:</b> L'hydrodistillation.....	<b>10</b>
<b>Figure 5 :</b> Distillation à la vapeur d'eau.....	<b>10</b>
<b>Figure 6:</b> Les états du stress oxydant.....	<b>13</b>
<b>Figure 7:</b> Les principales réactions de détoxification.....	<b>15</b>
<b>Figure 8:</b> La plante de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>18</b>
<b>Figure 9:</b> Les graines et les feuilles de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>19</b>
<b>Figure 10:</b> dispositif d'extraction d'huile fixe .....	<b>20</b>
<b>Figure 11:</b> Montage d'hydrodistillation (Clevenger) .....	<b>21</b>
<b>Figure 12:</b> La réduction du radical DPPH .....	<b>23</b>
<b>Figure 13 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux...	<b>31</b>
<b>Figure 14:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux...	<b>32</b>
<b>Figure 15 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE (1) et fixe (2) de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>33</b>
<b>Figure 16:</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique .....	<b>33</b>
<b>Figure 18 :</b> Les valeurs IC <sub>50</sub> d'huile fixe et essentielle et d'acide ascorbique. ....	<b>34</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Composition chimique des graines de <i>Peganum harmala</i> L .....	<b>06</b>
<b>Tableau 2:</b> Les doses toxiques des alcaloïdes $\beta$ carbolines sur différentes espèces .....	<b>08</b>
<b>Tableau 3:</b> Espèces réactives oxygénées.....	<b>13</b>
<b>Tableau 4:</b> Espèces réactives azotées.....	<b>14</b>
<b>Tableau 5:</b> Les réactions de criblage phytochimique.....	<b>19</b>
<b>Tableau 6:</b> les propriétés physique chimique des huiles fixes.....	<b>26</b>
<b>Tableau 7:</b> Extraction des huiles essentielles de la <i>Peganum harmala</i> .....	<b>27</b>
<b>Tableau 8:</b> Résultats des tests photochimiques des graines.....	<b>29</b>
<b>Tableau 09:</b> Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de différentes concentrations d'Huile Essentielle .....	<b>36</b>
<b>Tableau 10:</b> Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de différentes concentrations d'Huile Fixe.....	<b>36</b>
<b>Tableau 11:</b> Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de différentes Type d'antibiotique. ...	<b>37</b>

## ***Liste des abréviations***

<b>ANOVA</b>	Analyse de variance
<b>DPPH</b>	1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl
<b>DMSO</b>	Diméthyle sulfoxyde
<b>DL50</b>	Dose létale 50
<b>HE</b>	huile essentielle
<b>HF</b>	huile fixe
<b>IC50</b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>LDL</b>	lipoprotéines de basse densité
<b>XOR</b>	Xanthine oxidoreductase
<b>SNC</b>	Système Nerveux Centrale
<b>SNP</b>	Système Nerveux Périphérique
<b>ROS</b>	Espèces réactives oxygénées
<b>RNS</b>	Espèces réactives azotées
<b>GN</b>	Gélose nutritiv
<b>GET</b>	Gentamicine
<b>CEZ</b>	Céfazoline
<b>VAN</b>	Vancomycine

## Introduction

Depuis longtemps, l'homme s'est soigné avec les plantes qu'il avait à sa disposition. A travers les siècles, les traditions humaines ont développé la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour améliorer la santé humaine (**Iserin, 2001**).

Les infections microbiennes restent des affections graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison de l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans les élevages animaux qui conduit à la sélection de souches microbiennes résistantes. Par ailleurs, Cependant, il y a une préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre le stress oxydant et les infections bactériennes. Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, alcaloïdes, terpènes etc. qui possèdent des activités antioxydantes et antimicrobiennes. De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (**Benbrinis, 2012**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve la Famille de Zygophyllaceae ce dernier est largement distribué surtout dans les régions arides et semi-arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Peganum harmala*. Cette plante largement utilisée comme analgésiques, diurétiques, anthelminthiques, antiprolifératives abortives, antimicrobiennes,...etc. (**Tahrouch et al., 2002**).

La majorité des recherches ont étudié les huiles essentielles, alors que certaines d'entre elles ont étudié les extraits organiques et aqueux.

Le présent travail a été entrepris afin d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne d'huile fixe et essentielle de la plante *Peganum harmala*. Les objectifs de la présente étude sont :

- Extraction de l'huile fixe et essentielle de la plante *Peganum harmala*
- Réaliser un screening phytochimique sur les graines de *Peganum harmala*
- Dosage en polyphénols totaux et en flavonoïdes.
- Evaluation de l'activité antioxydante des huiles par les tests de DPPH.
- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile fixe et essentielle vis-à-vis des trois souches bactériennes par la méthode des puits.

## Partie bibliographique

### I.1 Présentation de la plante *Peganum harmala*

#### I.1.1 Généralités

Le nom de l'espèce *harmala* semble être en rapport avec l'origine géographique de la plante qui croît spontanément dans la région de Harmel (Liban). C'est une Zygophyllacée cosmopolite occupant des aires géographiques très vastes : Espagne, Sardaigne, Italie méridionale, Grèce, Asie occidentale et centrale et l'Afrique septentrionale (**Maire et Jahandiez, 1932**)

*Peganum harmala* est une hémicryptophyte vivace caractérisée par une forte résistance au piétinement, un développement des rejets et un ensemencement rapide surtout sur les sols ameublis par la culture et les terrains sur pâturés (**Negre, 1962**). L'appétibilité de cette espèce est très faible à nulle surtout à l'état vert ce qui favorise son installation et son envahissement très rapide (**Negre, 1959**).

#### I.1. Description de la plante

*Peganum harmala* est une plante vivace buissonneuse de la famille des Zygophyllacées originaire du Moyen-Orient, d'Afrique du Nord et d'Europe du Sud. Elle est commune dans les régions steppiques, sur les hauts plateaux et au Sahara (**Baba, 1990**). L'harmel est une plante herbacée, glabre, de 30 à 60 cm de hauteur à base lignifiée, très ramifié à tige aillée en haut et des feuilles alternes. Les fleurs de la plante sont isolées aux aisselles des feuilles, de 1-2 cm, de couleur vert blanchâtre. (**Bayer et al., 2009**). Les fruit est une capsule ronde comprenant trois graines (Figure.1) (**Baba, 1990**). Ces dernier sont nombreuse, petites anguleuses subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère, on les récolte en été (**Chopra et al ., 1960** )



**Figure 01** : Les fleurs et feuilles de la plante *Peganum harmala* (Weckesser, 2013)

### I.1.3 Distribution géographique

Elle est largement distribuée à travers le monde, généralement dans le nord du continent africain et jusqu'au nord des Indes et en Mandchourie (Bruneton, 2009). En Algérie, *Peganum harmala* 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.1.4 Classification (Zeguada, 2009)

**Règne** : Plante

**Embranchement** : Spermaphyta

**Sous-embranchement** : Angiosperme

**Classe** : Edicots

**Sous-classe** : Rosidae

**Ordre** : Sapinales

**Famille** : Zygophyllaceae

**Genre** : *Peganum*

**Espèce** : *Peganum harmala*

### I.1.5 Noms vernaculaires (Fasla, 2009)

**Arabe :** Harmel Sahari

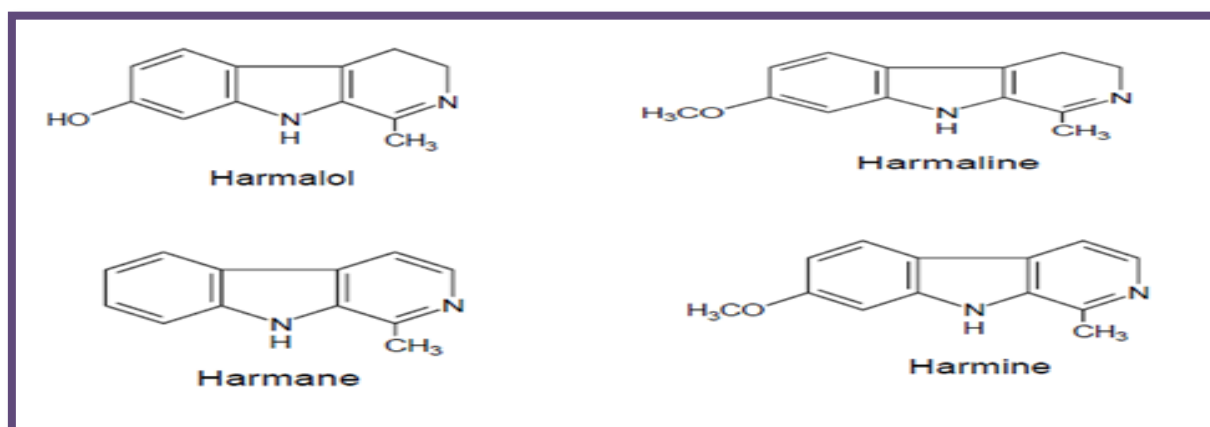
**Local :** Harmel ; Armel ; L'Harmel.

**Français :** Rue sauvage ; Rue verte ; Pégane

**Anglais :** harmala ; Wild rue ; Syrian rue

### I.1.6 Composition chimique de la plante *Peganum harmala*

Parmi les constituants de cette plante ; acides aminés (phénylalanine, valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique), flavonoïdes, coumarines, bases volatiles, tanins, stérols/triterpènes et les alcaloïdes (Al Yahya, 1986). Le taux des alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine que dans la racine, la tige et la feuille. (Tahrouch *et al.*, 2002). La plupart de ces alcaloïdes sont des alcaloïdes indoliques simples à  $\beta$  carbolines tels que, harmine, harmaline, harmalol, harmol, harman (Figure2) (Mahmoudian *et al.*, 2002).



**Figure 2 :** Les alcaloïdes B-carbolines de *Peganum harmala* (Mahmoudian *et al.*, 2002).

Les résultats d'analyses des huiles extraites des graines de *Peganum harmala* originaire du Maroc montrent une prédominance des acides gras insaturés, respectivement l'acide linoléique en quantités importantes suivi de l'acide oléique ; les acides gras saturés tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique sont en quantités plus faibles (Lalla et Hadeke, 1999).

Rezzagui en 2012 a résumé les différents métabolites secondaires présents dans l'espèce *Peganum harmala* dans le tableau suivant (tableau 1).



**Tableau 1.** Composition chimique des graines de *Peganum harmala* (Rezzagui, 2012).

Métabolites secondaires	Composition %	Molécules identifiées
Alcaloïdes	5 à 10%	$\beta$ -carboline Quinazolines
Polyphénols	4.6%	Flavonoïdes, Quinones Tanins, Coumarines
Saponines	ND	NI
Huiles fixes	15.86%	Acide linoléique, acide linoléique, palmitique, melissique, $\beta$ -sitosterol, etc. Terpènes et stérols
Caroténoïdes	0.7%	$\alpha$ -carotène, $\sigma$ -carotène $\beta$ -carotène

### I.1.7 Usage traditionnel

L'Harmel est largement employée en médecine traditionnelle comme un analgésique (Mina *et al.*, 2015) et comme une pommade pour le traitement des fièvres et friction pour soigner les rhumatismes, aussi par fumigation de la plante sèche sert à dissiper les troubles provoqués par le mauvais œil et traite les convulsions chez les enfants (Aouadhi, 2010). La poudre des graines bouillie avec l'huile d'olive est utilisée pour améliorer la qualité des cheveux (Ghulamet *al.*, 2014). De même, le colorant rouge obtenu à partir des graines est largement répandu en Turquie et en Iran pour la coloration des tapis (Nissar *et al.*, 2017).

### I.1.8 Intérêt pharmaceutique de *Peganum harmala*

- **Activité antioxydante**

*Peganum harmala* présente une grande activité antioxydante ceci s'explique par leur richesse en polyphénols et en acides gras insaturée (Maroua, 2016).

Il a été révélé dans une étude réalisée par Trabsa en 2011 que les extraits des graines de *Peganum harmala* ont une activité anti-XOR, anti-radicalaires, anti-peroxydation lipidique et

chélatrice des ions métalliques. Ça donne la plante une possibilité de l'utiliser soit comme médicament pour traiter les maladies, ou comme additif antioxydant naturel dans les produits alimentaires au lieu d'utiliser les antioxydants synthétiques.

- **Effets antibactériens, antifongiques, antiviraux et insecticides**

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux de *Peganum harmala* riches en alcaloïde sa permet de classer l'effet antimicrobien en trois types :

- ✚ Une action fortement inhibitrice contre les *Staphylococcus aureus* et *Bacillus Subtilus* qui sont des Gram positifs. Par contre, les bactéries Gram négatifs sont moins sensibles sauf pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont très résistantes à l'extrait de *Peganum harmala*. (**Behidj-Benyounes ,2015**).
- ✚ Une action inhibitrice considérable est remarquée chez les levures (*Candida albicans*) et une action inhibitrice moyenne contre les champignons (*Aspergillus niger*) (**Bitarafanb, 2005**)
- ✚ Activité antivirale sur virus de HCMV (humane cytomégalo virus) et CoxB-3 (Coxsackie B virus type 3) (**Edziriet al.,2010**)

### I.1.9 Toxicité

La plante est très riche en alcaloïdes de type B carbolines. Cette forte teneur lui offre une forte toxicité. Ils provoquent des problèmes d'empoisonnement chez l'homme ainsi que chez les animaux et peuvent présenter par : - une hypothermie permanente, des troubles respiratoires et hypersalivation (**Mahmoudian et al.,2002** ). La toxicité peut exprimer ainsi par un conscience est décroisse avec un paralysie (**Rachide, 2009**). Des lésions hépatiques et l'insuffisance rénale (**Berdai 2014 ; Sallal et al., 2013**).

Dans la plus part des cas, les animaux intoxiqués meurent, généralement, 36-38 heures après l'apparition des premiers signes d'intoxication du SNC et SNP. (**Rezzagui ,2012**)

Les doses toxiques de divers alcaloïdes dans différentes espèces sont montrées dans le (Tableau 2) (**Mahmoudian etal., 2002**).

**Tableau 2:** Les doses toxiques des alcaloïdes  $\beta$  carbolines sur différentes espèces (Guergour, 2018).

<i>Alcaloïde</i>	<i>Response</i>	<i>Animal</i>	<i>Dose (mg/kg)</i>
<b>Harmaline</b>	LD-sc	rats	120
<b>Harman</b>	LD-sc	rabbits	200
<b>Harmine</b>	LD <sub>50</sub> -iv	mice	38
<b>Harminine</b>	MLD-sc	rats	200

## I.2 Les huiles essentielles et les huiles fixes

### I.2.1 Les huiles essentielles

#### I.2.1.1 Définition

Les Huiles Essentielles (HEs) sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de la plante. Ce sont des substances de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides, très odorantes, volatiles, souvent colorées (Jouault, 2012).

Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs, soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante (Antonet Lobstein, 2005). Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles (Nogaret-Ehrhart, 2008).

#### I.2.1.2 Composition chimique

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques (Lamamra, 2008).

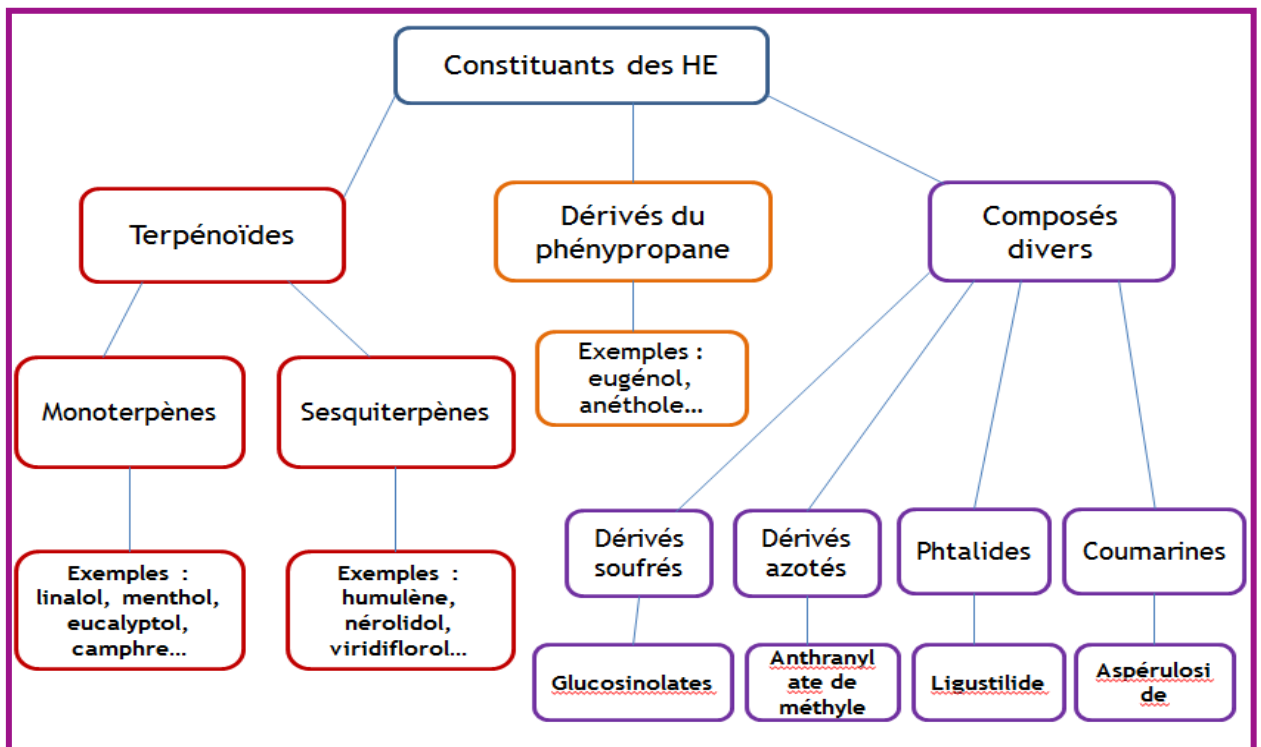
- **Les terpènes**

Selon Mailhebiau (1994), les huiles essentielles contiennent principalement :

- ✓ Les monoterpènes ;
- ✓ Les sesquiterpènes ;
- ✓ Rarement les diterpènes.

- **Les composés aromatiques**

Dérivées du phényle-propane tel que l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde (huile essentielle de Badiane et d'anis), le carvacrol (huile essentielle d'origan), l'acide et l'aldéhyde cinnamique. Ceux-ci constituent les principaux membres de cette famille (**Brada et al., 2007**). Les huiles essentielles peuvent contenir des composés aliphatiques plus ou moins fonctionnalisés à noter que pour une même espèce botanique, en fonction de différentes conditions (sol, ensoleillement, saison, partie de plante) peut fournir des huiles essentielles avec des compositions différentes, ces variations génèrent la notion de chémotype (Figure 3) (**Brada et al., 2007**).



**Figure 3:** Schéma représentant les principaux constituants des HE (**Laëtitia, 2015**)

### I.2.1.3 Les méthodes d'extraction

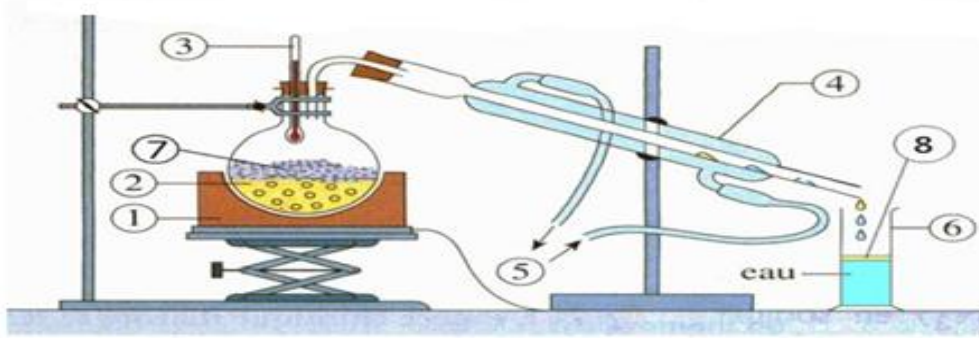
À l'heure actuelle, seules 3 méthodes d'obtention d'HE à usage thérapeutique sont autorisées par la pharmacopée européenne : l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et l'expression à froid (**Afssaps, 2008**).

#### I.2.1.3.1 L'entraînement à la vapeur d'eau (distillation)

Il existe deux formes de distillation :

### ❖ L'hydrodistillation

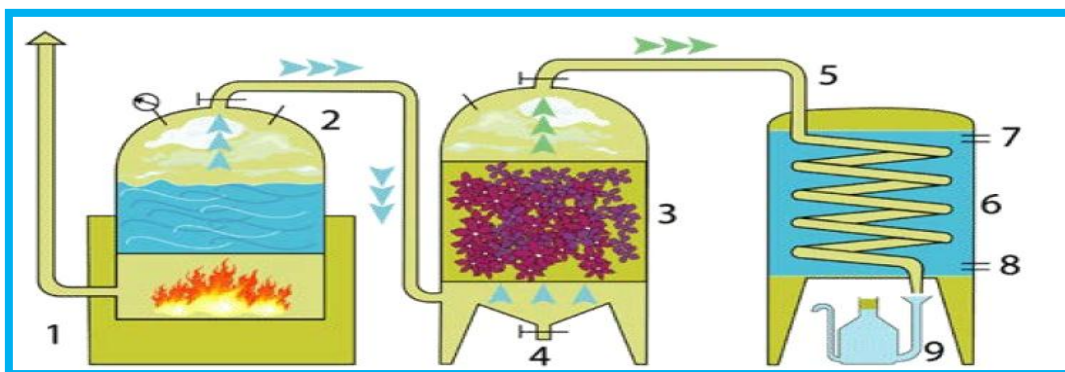
L'eau et la matière végétale sont toutes deux chauffées dans un premier ballon, puis la vapeur et les extraits végétaux sont condensés dans un réfrigérant. La mise en contact de l'eau et du végétal pendant la chauffe favorise l'altération des composés aromatiques, particulièrement des esters (Figure .4)(Jouault, 2012).



**Figure 04 :** L'hydrodistillation (Jouault, 2012).

### ❖ Hydrodiffusion (percolation)

La vapeur d'eau est d'abord produite dans un ballon, puis acheminée dans un second ballon, dans lequel elle va remonter en passant à travers le matériel végétal, entraînant avec elle les composants aromatiques. Le mélange vapeurux ainsi formé est amené dans un dernier ballon, où il va être condensé à l'aide d'un réfrigérant à eau (Figure 5) (Jouault, 2012).



**Figure 5 :** Distillation à la vapeur d'eau (Blondel, 2014)

1 : Foyer – 2 : Chaudière – 3 : Vase à fleurs – 4 : Vidange de condensation – 5 : Col de cygne – 6 : Réfrigérant avec serpentin – 7 : Sortie d'eau chaude – 8 : Arrivée d'eau froide – 9 : Essencier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat

**I.2.1.3.2 La distillation sèche :** L'huile essentielle est obtenue par distillation des bois ,corce ou racine , sans addition d'eau ou vapeur d'eau (**Afssaps, 2008**).

**I.2.1.3.3 L'expression à froid :** Les tissus végétaux très riches en HEs sont compressés pour les en extraire. Ce procédé est principalement utilisé pour isoler les HEs à partir des épicarpes (zeste frais) des fruits de Citrus. Cette opération peut se faire à la main ou après scarifications mécaniques (**Roux, 2011**).

**I.2.1.3.4 Autres méthodes :** Il existe d'autres méthodes d'extraction des huiles essentielles

- Hydrodistillation par micro- ondes sous vide
- L'extraction au CO2 supercritique.
- Enfleurage.( à froid et à chaud.)
- Extraction par des solvants (**Labioud, 2015**)

#### **I.2.1.4 Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles**

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories :

- ✚ **Facteurs intrinsèques**, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée ;
- ✚ **facteurs extrinsèques**, en lien avec ou la méthode d'extraction (**Besombes, 2008**).

#### **I.2.1.5 Activités biologiques des huiles essentielles**

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques. Les monoterpènes ; sesquiterpènes et les diterpènes sont à l'origine de très nombreuses essences qui sont dotées de certaines activités.

### **I .3Les huiles fixes**

#### **I.3.1 Définition**

L'huile végétale est une matière grasse, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température ambiante et qui est insoluble dans l'eau, les huiles se composent de lipides formées de triglycérides composés des molécules des acides gras estérifiées par le glycérol (une molécule

d'alcool). Se sont des composants majeurs de l'énergie du corps humain, car les matières grasses fournissent des calories en grand nombre .les huiles les plus importantes de nos jours sont les huiles de soja, colza, olive **Boutayeb, 2013**).

### **I.3.2 Composition chimique**

La composition chimique des huiles végétales correspond dans la plupart des cas à un mélange de 95 % de triglycérides et 5 % d'acides gras libres, de stérols, cires, et autres composants minoritaires. Les triglycérides sont des triesters formés par la réaction d'acides gras sur les trois fonctions alcools du glycérol (**Gilles,2007**)

### **I.3.3 Classification**

Les huiles végétales peuvent se diviser en 4 grands groupes, l'indice d'iode servant à les discriminer :

- les huiles dites saturées de type : indices d'iode de 5 à 50
- les huiles monoinsaturées (semi-siccatives) : indices d'iode de 50 à 100
- les huiles di-insaturées (semi-siccatives) : indices d'iode de 100 à 150.
- Les huiles tri-insaturées (siccatives) : indices d'iode >150(**Gilles, 2007**).

### **I.3.4 Méthode d'extraction**

Depuis la description de l'obtention de l'huile d'olive par Pline ou celle, plus ancienne de la presse assyrienne à huile de sésame et jusqu'aux modernes presses à vis, le principe de l'obtention des huiles n'a pas varié : la pression de la matière première fournit directement l'huile. Les procédés actuels utilisent également des solvants organiques et dans les deux cas, l'huile brute est habituellement soumise à diverses opérations de raffinage (**Bruneton, 2009**).

- **Extraction par pression** : on utilise des presses à vis qui donnent un meilleur rendement en huile que les anciennes presses hydrauliques .elles travaillent sous une pression plus élevée et avantages supplémentaire
- **Extraction par solvant** : ce type d'extraction peut s'appliquer aussi bien aux graines intactes qu'aux graines partiellement des huilées par pressage. Le solvant utilisé généralement c'est l'hexane. le taux de récupération de l'huile par cette méthode varie 95 à 99%(**Bruneton, 2009**).

## I.4 Le stress oxydatif

### I.4.1 Définition

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre de la balance entre la production de ROS et les systèmes de défenses antioxydants, en faveur des premières (Figure.6) (Pincemail *et al.*, 2009). Le stress oxydant résulte d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Haleng *et al.*, 2007)

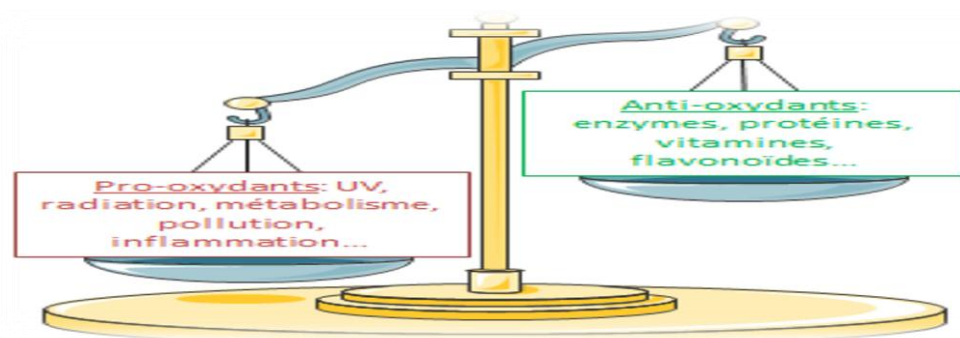


Figure 6: Les états du stress oxydant (Poinso, 2016)

### I.4.2 Les radicaux libres

Un RL est une espèce chimique porteuse d'un électron célibataire (non apparié) sur une couche périphérique (Sajous *et al.*, 2008). Les principaux radicaux libres sont les espèces réactives oxygénées (ROS) et les espèces réactives azotées (RNS) sont les termes décrivant collectivement les radicaux libres. Les (tableaux 3 et 4) regroupent les principales espèces radicalaires et non radicalaires. Les espèces oxygénées et azotées non radicalaires exhibent également une action oxydante et peuvent être facilement converties en espèces radicalaires (Hadjigogos, 2003).

Tableau 03: Espèces réactives oxygénées (Hadjigogos, 2003)

Radicaux		Non radicaux	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$	Peroxyde	$H_2O_2$
Radical hydroxyle	$OH^{\cdot}$	d'hydrogène	$HOCl^a$
Radical peroxyde	$ROO^{\cdot}$	Acide hypochloreux	$O_3$
Radical alkoxyde	$RO^{\cdot}$	Ozone	$^1O_2$
Hydroperoxyde	$HOO^{\cdot}$	Oxygène singulet	$ONOO^{\cdot b}$
		Peroxynitrite	



Les radicaux **a** et **b** peuvent être également appelés respectivement « espèce réactive chlorée » et « espèce réactive azotée » F.

**Tableau 04** : Espèces réactives azotées (Hadjigogos, 2003).

Radicaux		Non radicaux	
Radical oxyde nitrique	$\text{NO}^\bullet$	Acide nitreux	$\text{HNO}_2$
Dioxyde d'azote	$\text{NOO}^\bullet$	Tetroxyde de diazote	$\text{N}_2\text{O}_4$
		Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$
		Alkyl peroxyntirite	$\text{ROONO}$
		Cation nitrosyle	$\text{NO}^+$
		Trioxyde de diazote	$\text{N}_2\text{O}_3$
		Ion nitronium(nitryl)	$\text{NOO}^+$
		Acide peroxyntireux	$\text{ONOOH}$
		Anion nitrosyle	$\text{NO}^-$
		Chlorure nitrique	$\text{NO}_2\text{Cl}$

#### 1.4.3 Les différentes cibles des ROS

ROS sont susceptibles de générer des dommages oxydatifs au niveau de diverses cibles moléculaires (lipides, protéines, ADN) dans le cas d'un stress oxydatif (Sajous *et al.*, 2008)

#### 1.4.4 Les maladies liées au stress oxydatif

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS), ainsi qu'un potentiel oxydo-réducteur (redox) équilibré sont déterminantes pour assurer correctement les fonctions moléculaires de la cellule. Des perturbations dans l'homéostasie redox peuvent altérer les signaux cellulaires, et générer des lésions au niveau de toutes les macromolécules ; elles sont ainsi la source de nombreuses pathologies (Huang, 2017).

- **Cancer** : Les ROS semblent également jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, puisque ces espèces peuvent être responsables de mutations dans l'ADN, ce qui constitue un facteur de risque dans l'initiation et le développement du cancer (James *et al.*, 2011)
- **L'athérosclérose** : Les ROS sont susceptibles d'oxyder les lipoprotéines, notamment les lipoprotéines de basse densité (LDL), conduisant à la formation d'un plaque d'athérome (Monique *et al.*, 2003)

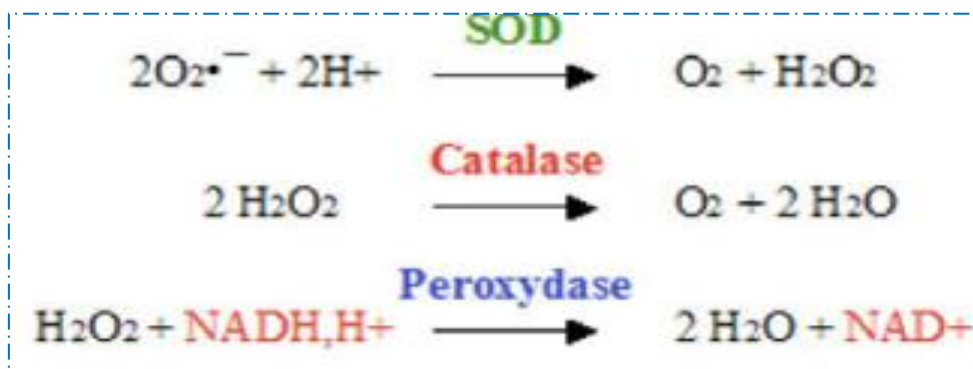
- **Diabète** : le stress oxydant est provoqué par des concentrations élevées du glucose dans l'organisme et joue un rôle très important, dans la survenue des complications diabétiques (**Boyer et al. , 2014 ; Boyer et al., 2015**)
- **Viellissement et inflammation** : Le stress oxydant est incriminé dans les processus de vieillissement cellulaire et pathologies inflammatoires (**Borel et al., 1988**).

#### I.4.5 Les antioxydants

Un antioxydant est une substance chimique qui présente, à des faibles concentrations par rapport à un oxydant, la capacité de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier (lipides ou autres molécules) et le transformer en composé plus stable, et aussi caractérisé par sa grande affinité pour un radical donné (**Wahib, 2009**).

Il existe trois types d'antioxydants : (**Maria, 2008**)

- **Les enzymes endogènes**
  - **La superoxyde dismutase (SOD)** : sont des métallo-protéines qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et  $O_2$
  - **La glutathion peroxydase (GPx)** : catalyse la réduction de  $H_2O_2$  et des peroxydes organiques.
  - **La catalase (CAT)** : permet l'élimination de  $H_2O_2$  excédentaire dans l'organisme (Figure .7).



**Figure 07:** Les principales réactions de détoxification ( **Baraka-Vidot, 2014**)

- **Les oligo-éléments** comme sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certaines enzymes antioxydantes (**Maria, 2008**).
- **Les antioxydants apportés par l'alimentation** via les fruits et légumes, sources de vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone et polyphénols (**Maria, 2008**)

## I.5 Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise, La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques (**Harrar, 2012**).

### 1.5.1 Antibiotiques

Les antibiotiques sont par définition, des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance. Leur action étant spécifique et dirigée contre les micro-organismes ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de «bactériostatiques» alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits «bactéricides».et ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes (**Toure, 2015**). Il existe des antibiotiques d'origine naturelle et autre d'origine synthétique.

- ✚ **Antibiotiques d'origine synthétique** : Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de microorganismes (**Toure, 2015**).Les principales familles sont: Bêtalactamines:( pénicilline) ; Aminosides: streptomycine) (**Boudjouref, 2011**).
- ✚ **Antibiotiques d'origine naturelle** : les huiles essentielles et Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis- à -vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésives microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire) (**Billerbeck, 2007 ; Harrar, 2012**).

### 1.5.2 Description des bactéries étudiées

#### 1.5.2.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm. Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez

l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (**Bensaadi et Guemmouda, 2017**)

#### **1.5.2.2 *Staphylococcus aureus***

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. L'espèce *Staphylococcus aureus* sera prise comme type de description (**Bensaadi et Guemmouda, 2017**).

#### **1.5.2.3 *Pseudomonas aeruginosa***

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise de types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine : jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (**Bensaadi et Guemmouda, 2017**).

## II. Matériels et méthodes

### II.1 Matériel

#### II.1.1 Matériel végétal

Les graines de *Peganum harmala* ont été achetées chez un herboriste dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, durant de mois de mars 2019, elles ont été ensuite nettoyées des impuretés, lavées avec de l'eau et séchées pendant quelques jours, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur en poudre, à partir de laquelle l'huile fixe a été préparée (Figure.09).

L'identification botanique de l'espèce a été faite sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (**Bruneton, 2008**).



**Figure 08:** La plante *Peganum harmala*

Les feuilles de l'harmel ont été récoltées de la région d'Ain Taghrout, wilaya de BBA au mois d'avril 2019, elles ont ensuite nettoyées et utilisées à l'état frais pour préparer huiles essentielles (Figure.09).



**Figure 09:** Les graines et les feuilles de *Peganum harmala*.

## II.2 Méthode

### II.2.1 Etude phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation de quelques grands groupes chimiques ou métabolites secondaires (alcaloïdes, Tanins, coumarines et saponosides) (Tableau 05). Ces métabolites sont des substances douées des différentes propriétés thérapeutiques exploités dans les traitements des différentes pathologies. Cette analyse est effectuée sur des drogues végétales sèches et/ou fraîches selon la méthodologie décrite par chaque auteur.

**Tableau 05 :** Les réactions de criblage phytochimique

Métabolites	Remarque	Référence
<b>Secondaires</b>		
<b>Les tanins,</b>	Coloration Brune verte	<b>(Trease et Evans, 1987)</b>
<b>Saponosides</b>	La formation d'une masse	<b>(Trease et Evans, 1987)</b>
<b>les alcaloïdes</b>	Précipitation brun	<b>(Paris <i>et al</i>, 1969)</b>
<b>Coumarines</b>	Fluorescence jaune après examen sous UV	<b>(Rizk, 1982).</b>

### II.2.2 Extraction d'huiles fixe

L'extraction d'huile fixe de *Peganum harmala* a été préparée à l'aide d'un Soxhlet à partir de 50 g des graines broyées. Le matériel végétal broyé est placé dans une cartouche qui sera exposée au solvant d'extraction (Hexane 300ml) mené à une température d'évaporation (40 °C). Après environ 8 cycles d'extraction, la cartouche est retirée et le solvant chargé d'extrait est récupéré pour être concentré à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait est conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation (Figure 10) (Akpan et Jimoh, 2006 ; Grabia, 2006).

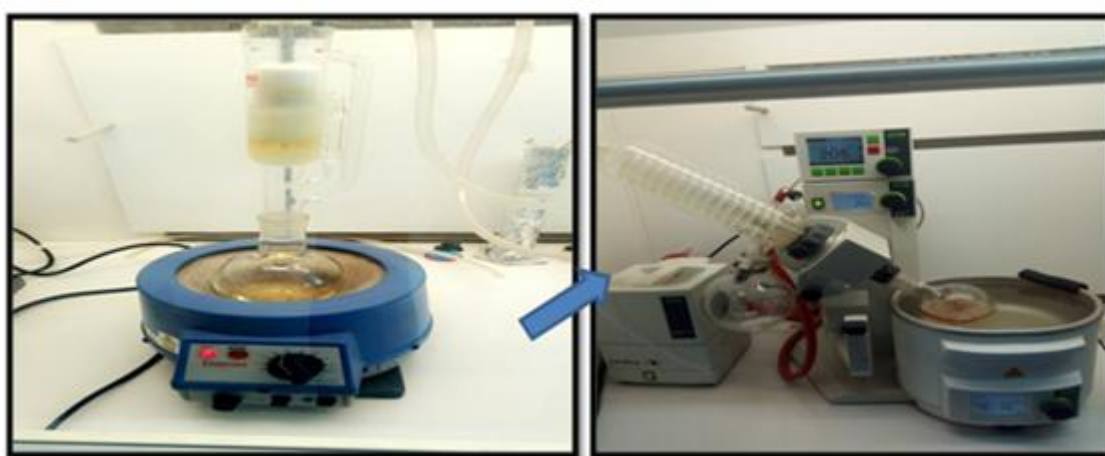


Figure 10 : dispositif de montage d'extraction d'huile fixe

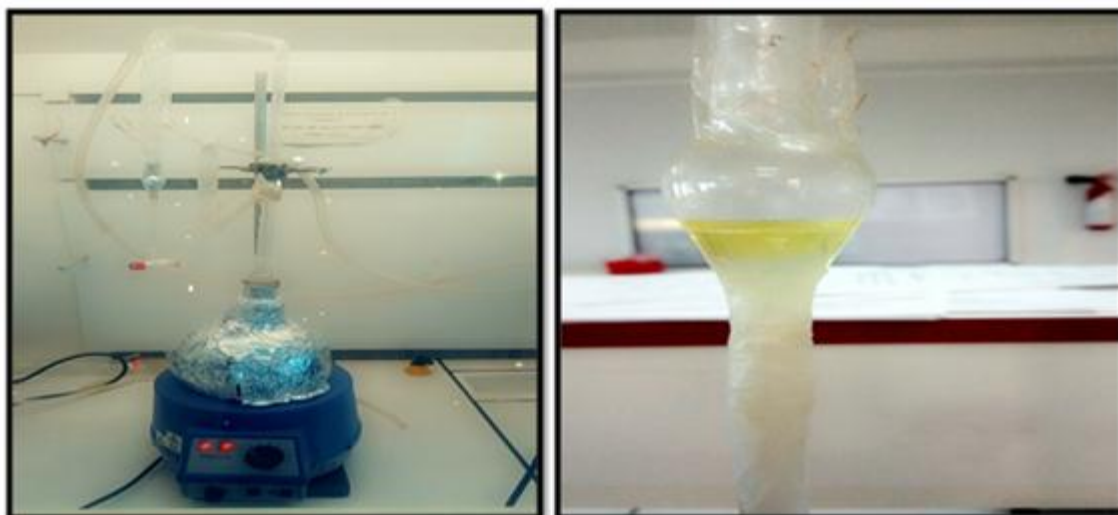
#### ➤ Rendement en huile fixe

Le rendement d'huile fixe a été déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{le poids d'huile obtenu après l'évaporation}}{\text{le poids initial de la matière végétale}} \times 100$$

### II.2.3 Extraction d'huile essentielle (HE)

Une portion (200 g) des parties aériennes de la plante se mise à une hydrodistillation, dans 1L d'eau distillée pendant au moins trois heures, en utilisant un appareil de type Clevenger (El Ajjouri et al., 2008) (Figure .11). La décantation est réalisée à l'aide d'une ampoule à décantée, le produit obtenu est déshydraté par du sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), afin d'éliminer d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique. Le produit ainsi obtenu, est une huile essentielle (Kemassi, 2008).



**Figure 11 : a-** Montage d'hydrodistillation (Clevenger) **b-** L'huile essentielle obtenue

Le volume en huile essentielle obtenue a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre bien bouché. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium puis conservé dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.

#### ➤ Rendement d'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile et le poids de la matière végétale fraîche à traiter. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Laghouiter, 2015)

$$\text{Rdt HE \%} = \frac{\text{MHE}}{\text{MVF}} \times 100$$

**Rdt HE:** Rendement en huile essentielle (%)

**MHE:** Masse d'huile essentielle (g)

**MVF:** Masse de matériel végétal frais (g)

#### Propriétés physiques et chimiques des Huiles

- **La densité :** est le rapport entre la masse d'un 1ml d'huile par rapport au même volume d'eau.
- **Aspect physique**
- **Couleur**



## II.2.4 Dosage des polyphénols totaux

### ❖ Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques (**Zarrou, 2012**).

### ❖ Mode opératoire

Le contenu en polyphénols totaux des huiles fixes de la plante *Peganum harmala* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Li et ses collaborateurs** (2007). Un volume de 200 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations sont ajoutées à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, 800 µl de carbonates de sodium (75 g/l) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir 2 heures à température ambiante, puis la lecture est faite à 765 nm. L'acide gallique (20-140 µg/ml) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en µg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait)

## II.2.5 Dosage des flavonoïdes totaux

### ❖ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Harrar, 2012**).

### ❖ Mode opératoire

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Ababsa, 2009**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les huiles fixes. Pour cela 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajoutée 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est à partir d'une

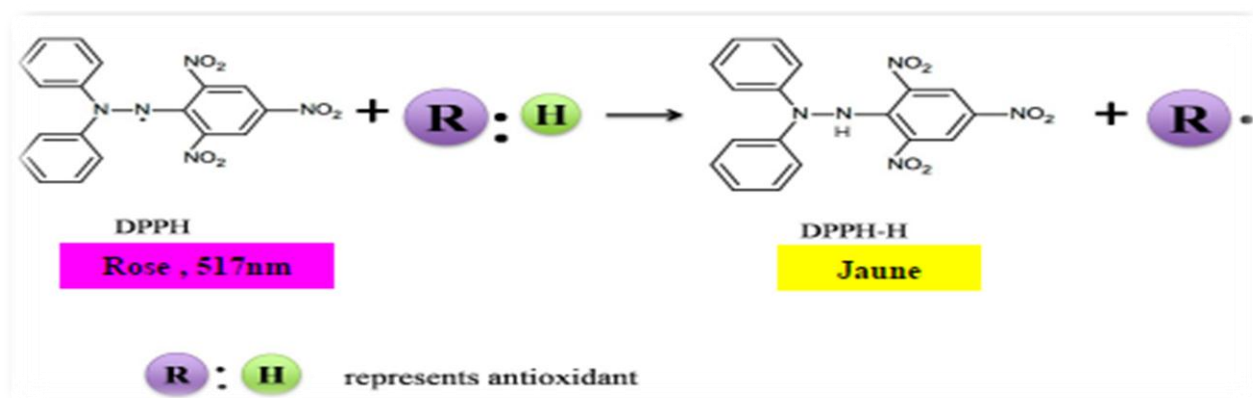
gamme d'étalonnage avec la quercitrine (0-40 µg/ml). Le résultat est exprimée en microgramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

## II.2.6 Tests, *in vitro*, de l'activité antioxydante

### II.2.6.1 Effet scavenger du radical DPPH

#### ❖ Principe

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque (Cotelle *et al.*, 1996 ; Trouillas *et al.*, 2003). Le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant (donneurs de proton); le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable (Figure 12). Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (Cotelle *et al.*, 1996).



**Figure 12:** La réduction du radical DPPH (Cotelle *et al.*, 1996).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (réduction) du DPPH (I%) et calculés selon la formule suivante: (Bensaadi et Guemmoud, 2017)

$$I\% = ((A0 - A1) / A0) * 100$$

**I (%) :** pouvoir d'inhibition en %.

**A0:** absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

**A1:** absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait

### ❖ Mode opératoire

L'activité antioxydant des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par (Mansouri *et al* ,2005). Pour chaque extrait, un volume de 0,5 ml de la solution de DPPH est mélangé avec 1.5 ml d'extrait ou des antioxydants standards (Acide ascorbique). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'IC<sub>50</sub> est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Elles sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

### II.2.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne d'huile essentielle et fixe a été évaluée contre 3 souches de référence obtenues auprès de laboratoire de microbiologie, Département de Biologie, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. La méthode de vérification *in vitro* de l'activité antimicrobienne qui a été utilisé, est la méthode des puits sur milieu gélose.

Les bactéries à Gram –	Les Bactéries à Gram +
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

#### II.2.7.1 Méthode des puits

La technique qui a été utilisée consiste à réaliser des puits à l'aide des embouts stériles. Ensuite, dans chaque puits, 25µL de chaque huile diluée est introduit sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance. La zone où les bactéries n'ont pas pousser développer a été mesurée (Bouamara et Haddad, 2016). Cette méthode est choisie en raison de sa fiabilité et sa simplicité. Elle permet de fournir des résultats préliminaires sur la sensibilité des souches en mesurant diamètres des zones d'inhibition autour des puits (mm).

### ❖ Mode opératoire

#### ▪ Préparation des dilutions des extraits

Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives ,1% ,5% ,10%.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

Un inoculum de chaque souche testée a été préparé à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures) avec de l'eau physiologique stérile 0.9%. Après homogénéisation, la densité cellulaire de chaque suspension a été ajustée par dilution dans l'eau physiologique stérile pour comparaison avec la solution à 0,5 Mc Farland à une longueur d'onde correspondante à chaque souche. Cet inoculum ajusté devra contenir  $10^8$  UFC/mL (unité formant colonie/mL) et ne doit pas être utilisé au de la de 15 minutes (**Cavallo et al., 2005**).

#### ➤ **Ensemencement**

Sélectionnés selon leur disponibilité. La gélose nutritive (GN) est coulé dans les boîtes de Pétri, après refroidissement et solidification sur paillasse, l'ensemencement est réalisé 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 deux 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

Les boîtes sont fermées avec du para film et conservées à 4°C pendant 2h ensuite, elles sont mises à l'étuve a température de 37°C pendant 24 heures. Après incubation le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres. Des puits imprégnés de DMSO sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif. Chaque essai est été réalisé en triplicata.

#### ➤ **Choix des antibiotiques utilisés**

Selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CASFM, 2012**), le choix des antibiotiques testés sur les différentes souches bactériennes isolées, repose d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel contre des antibiotiques et d'autre part sur le spectre d'activité de chaque antibiotique. Dans notre travail les disques d'antibiotiques, utilisés pour les essais de diffusion sur disque, sont Gentamicine (LG120), Céfazolyne (30µg) vancomycine (VA 30) .Ils ont été

#### ➤ **Détermination de DI (diamètre d'inhibition)**

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du puits. La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène;(Aref et Heded, 2015).

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

- $D < 0.8\text{cm}$  : Souches résistante (-).
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$  : Souches sensible (+).
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$  : Souches très sensible (++).
- $D > 2\text{ mm}$  : Souches extrêmes sensible (+++)

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibitions à l'extérieur de la boîte fermée.

### II.2.8 Analyse statistique

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne  $\pm$ SD. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant le logiciel (Graph Pad. Prism. V 5.00). La différence entre le contrôle et les différents tests, est déterminée par le test d'ANOVA univariée et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées significatives.

## Résultats et discussion

### III. 1 Rendement d'extraction

#### ➤ L'huile fixe

L'extraction d'huile des graines de *Peganum harmala* a été réalisée par soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant. Les résultats de rendement ainsi les caractéristiques organoleptiques sont illustrées dans le tableau 06. L'aspect physique représenté dans la figure 11.

**Tableau 06:** Les propriétés physique -chimiques d'huile fixe

Extrait	aspect physique	Couleur	Odeur	densité	Rendement %
Huile fixe	Liquide	Marron	Aromatique	0,86	11,54

Les résultats du rendement d'huile fixe extraite des graines de *Peganum harmala* (11,54 %) reste quantitativement différent en comparaison avec les résultats trouvés par **Kiimesnoglu et al** en 1995 à partir des graines de la même espèce, collectés en Turquie, ainsi que des résultats de **Lalla et al** en 1999 (10%) à partir de graines, collectées au Maroc.

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des graines de *Peganum harmala*, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol...), ainsi que le moment de la récolte et la méthode d'extraction (**Laib, 2012**).

#### ➤ L'huile essentielle

Les résultats de rendement de L'extraction d'huile essentielle ainsi les caractéristiques organoleptiques sont illustrées dans le tableau 07.

**Tableau 07 :** Les propriétés physique-chimiques d'huile essentielle

Extrait	Aspect physique	Couleur	Odeur	densité	Rendement %
Huile essentielle	Liquide	Jaune	Aromatique	1,02	4,59

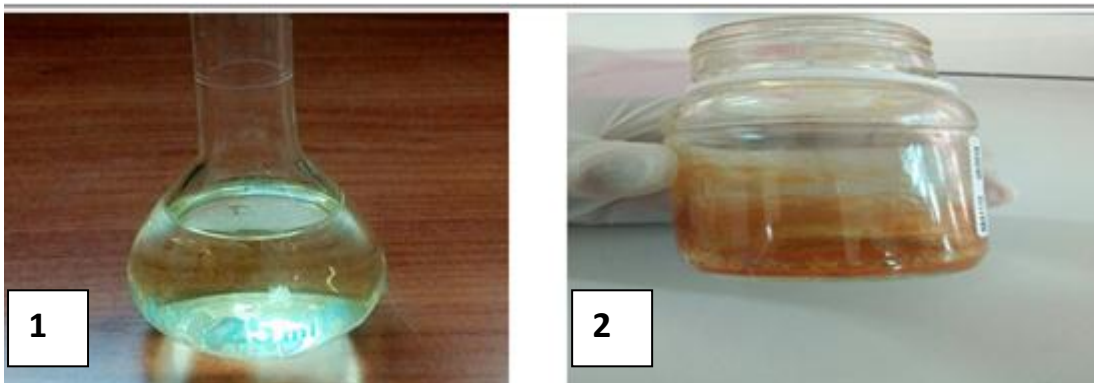
Le rendement obtenu 4,59%, montre que l'Harmel est très riche en huile essentielle. Généralement la teneur des plantes en huiles essentielles est faible et parfois très faible de

l'ordre de 1% à 1%. A l'exceptions du *Badiane de Chine* avec une teneur en essence est supérieure à 5%; et *Clou de girofle* qui renferme plus de 15% d'essence (**Benouali, 2016**).

Ce rendement le plus important pourrait être expliquée par le bon choix de la période de récolte (avril stade végétatif de *Peganum harmala*), selon **Laëtitia, (2015)** dans cette période les plantes produites une teneur maximale en essence donc pour un rendement optimal, la récolte de l'essence doit être s'effectuer pendant le stade végétatif propre à chaque plante aromatique.

De plus la composition en HEs, extraite par hydrodistillation, peut être influencé par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés tels que : le terpinèn-4-ol, l' $\alpha$ - terpinéol et le cinéol sont peu solubles dans l'eau (**Williams et Lusunzi, 1994**).

Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'a l'origine géographique de l'épice.



**Figure 11:** L'huile essentielle  
*Peganum harmala*

L'huile fixe de *Peganum harmala*

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume. Ce le rapport ente un certain volume d'huile essentielle et la masse de ce même volume.

La densité des HEs est de 1.02 est presque égale à celle d'eau par contre la densité des HF est 0, 86 est inférieure à celle d'eau

La détermination de la densité des HF et HE des plantes médicinales est très importante pour évaluer la qualité des huiles dans différents domaines de la vie (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, chimique, etc..). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraudes et d'altération le moment de la journée consacrée à la cueillette de la plante (**Boughendjioua, 2015**).

### III.2 Screening phytochimique des graines des *Peganum harmala*



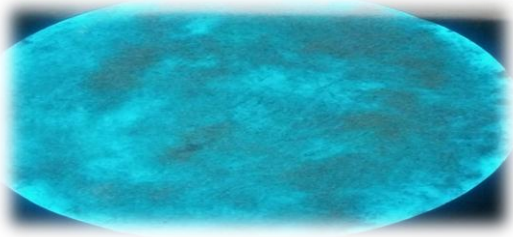
Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les graines de *Peganum harmala* en utilisant des solvants différents et des réactifs de révélation.

La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

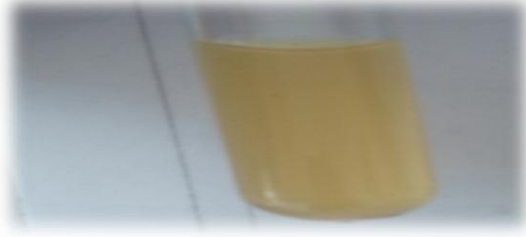
Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau de la plante comprenant les trois groupes chimiques, les tannins, les alcaloïdes, les stérols et les coumarines dans les graines. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le (Tableau 08).

**Tableau 08:** Résultats des tests photochimiques des graines.

- Négative; + Faiblement positif; +++ fortement positif

Métabolites secondaires	Réactifs chimiques	Résultats	Photos
<b>Tannins</b>	solution FeCl <sub>3</sub> à (5% dans l'éthanol)	Coloration brune verte ++	
<b>Alcaloïdes</b>	Bouchardat-Mayer Wagner	Un précipité blanc ou brun +++	
<b>Coumarines</b>	NaOH + examen sous UV	Fluorescence jaune +	



Saponosides	Indice de mousse	La formation d'une masse -	
-------------	------------------	----------------------------	--

Les résultats obtenus sont en accord avec l'analyse phytochimique qualitatif sur les graines qui a été réalisé par **Guergour , (2018) ; Braz et Hanchour , (2018)**.

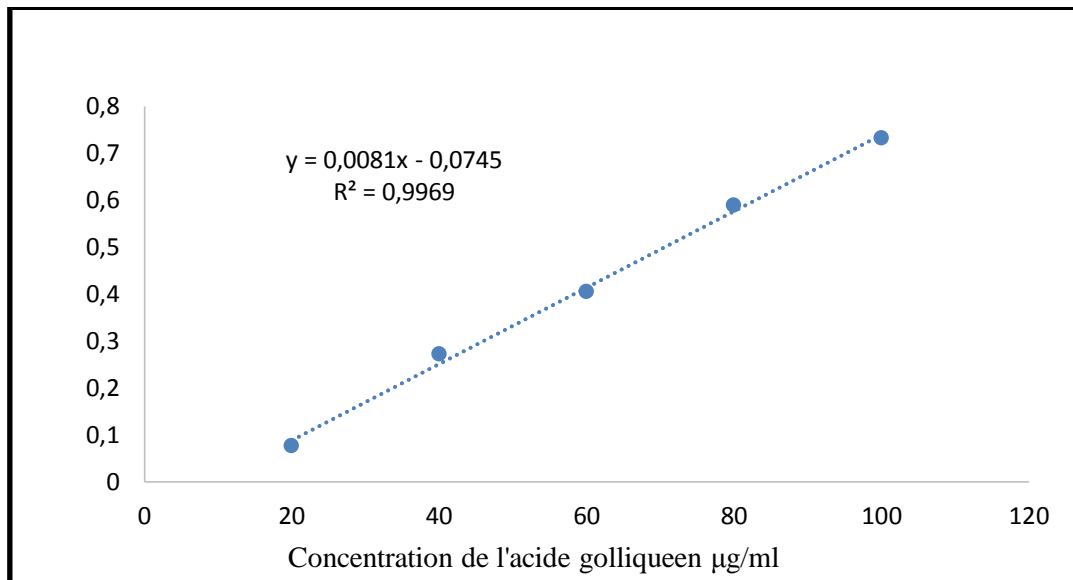
La présence des alcaloïdes expliquent l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle et la diversité de leurs activités biologiques. Elle a été employé pendant longtemps pour soulager les douleurs et comme agent antiseptique (**Derakhshanfar et al., 2010**), antibactérien (**Shahverdi et al., 2005**), antifongique (**Falahati et al., 2011**), antiviral, antidiabétique, antitumoral , antileishmanial , insecticide , et cytotoxique ( **Khademalhosseini et al., 2015**).Selon **Mabry et Ulubelen, (1980)**, les coumarines sont parmi les composés responsables des propriétés anti-inflammatoires. Ce sont des protectrices vasculaires et des anti-oedémateuses.

### III.3 Quantification des composés phénoliques d'HF

#### III.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Les polyphénols sont des composés fortement hydroxyles que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux. Ils ont la capacité d'absorber les radicaux libres dans les systèmes biologiques. Ce qui fait de ces composés de potentiels agents antioxydants (**Hagerman et al., 2005**).

La méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour doser les polyphénols pour plusieurs raisons : c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, la disponibilité du réactif de Folin et la méthode est bien standardisée (**Khadher, 2017**). Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique et déterminé par l'équation de type :  $y = 0,008 x - 0,074$  sachant que  $R_2 = 0,99$  (Figure 13).



**Figure 13:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

Les résultats de l'analyse colorimétrique de composés phénoliques totaux montrent que l'huile fixe de *Peganum harmala* est riche en polyphénols avec un teneur de 57,22 µg /EAG/mg d'extrait.

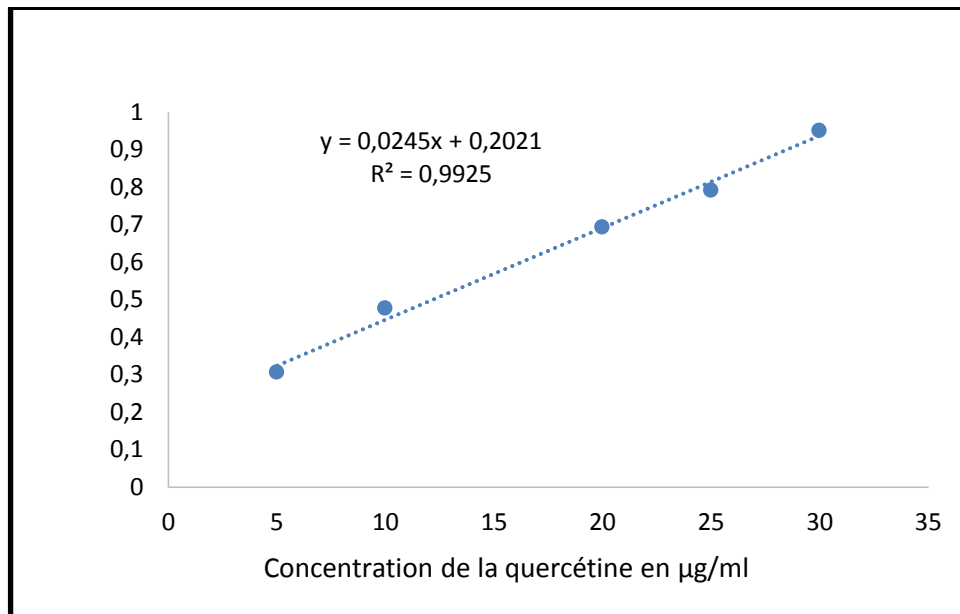
Nos résultat obtenus ressemblent à ceux qui ont été obtenus par **Khadhr et al ., (2017)** avec un teneur de (53,4 µg/ EAG /extrait ) et inférieur en comparaison avec à ceux trouvés par **Khadhr et al ., ( 2016)** avec un teneur de (0.38 mg/EAG/ ml).

Selon **Podsdek., (2007)** la déférence de teneur en polyphénols d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage).

A la lumière des résultats obtenus, on peut déduire que les huiles fixes des graines de *Peganum harmala* collecté en Algérie sont très riches en polyphénols. Ceci serait peut être utile pour envisager l'étude des activités biologiques.

### III. 3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été estimée par la méthode utilisant  $AlCl_3$ . La spectrophotométrie a permis de quantifier les flavonoïdes dans les extraits de la plante étudiée. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant différentes concentrations de la quercétine, un flavonoïde très connu de la famille des falvonols (Figure 14). Les taux des flavonoïdes des HE ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y = 0,024 x + 0,202$  sachant que  $R^2 = 0,992$  (figure 15).

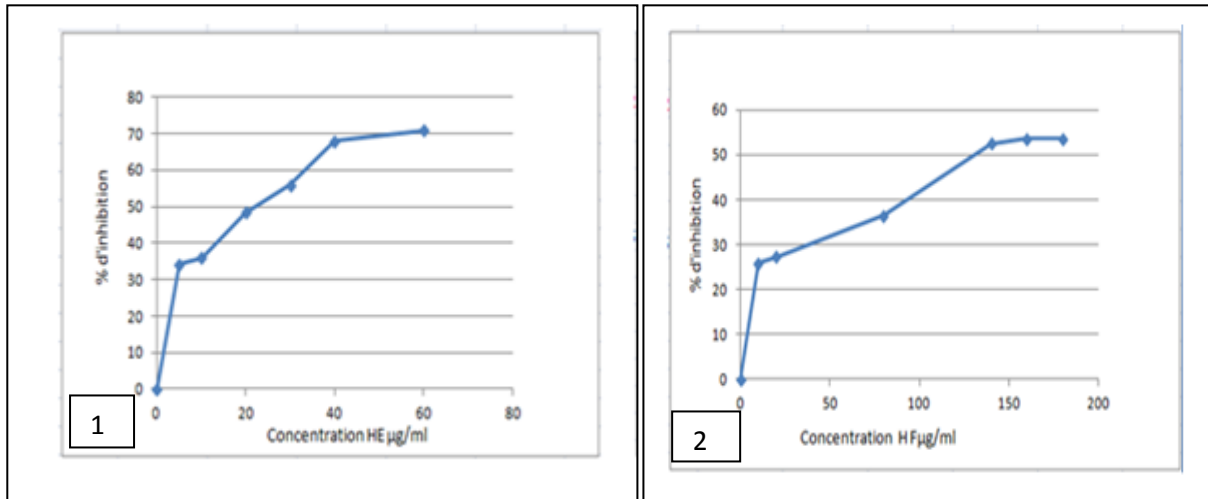


**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

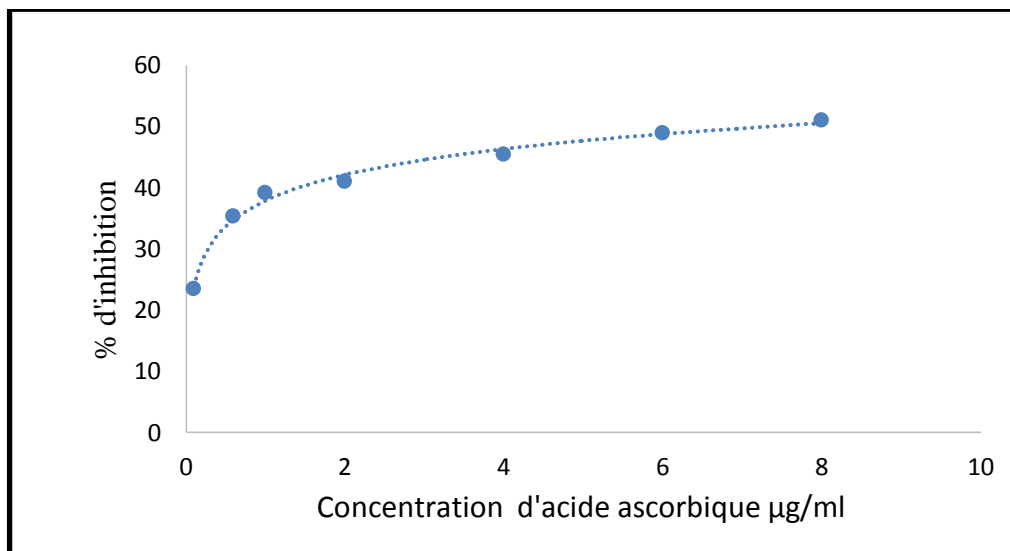
D'après nos résultats, la quantité des flavonoïdes dans l'HF des graines de *Peganum harmala* (0,816 µg/EQE /mg d'extrait) est nettement supérieur à celle trouvé par **Khadhr et al., 2017** qui est de 49,3 µg QE/100 mg ), ceci peut être expliquer par le facteur géographique, le facteur climatique ou bien les conditions de récolte et d'extraction.

#### II.4. Test anti-radicalaire (Test DPPH)

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényle-1 picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH est formée (**Cotelle et al., 1996**). L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents extraits utilisés et du témoin acide ascorbique (antioxydant de référence) (Figure 15, 16).

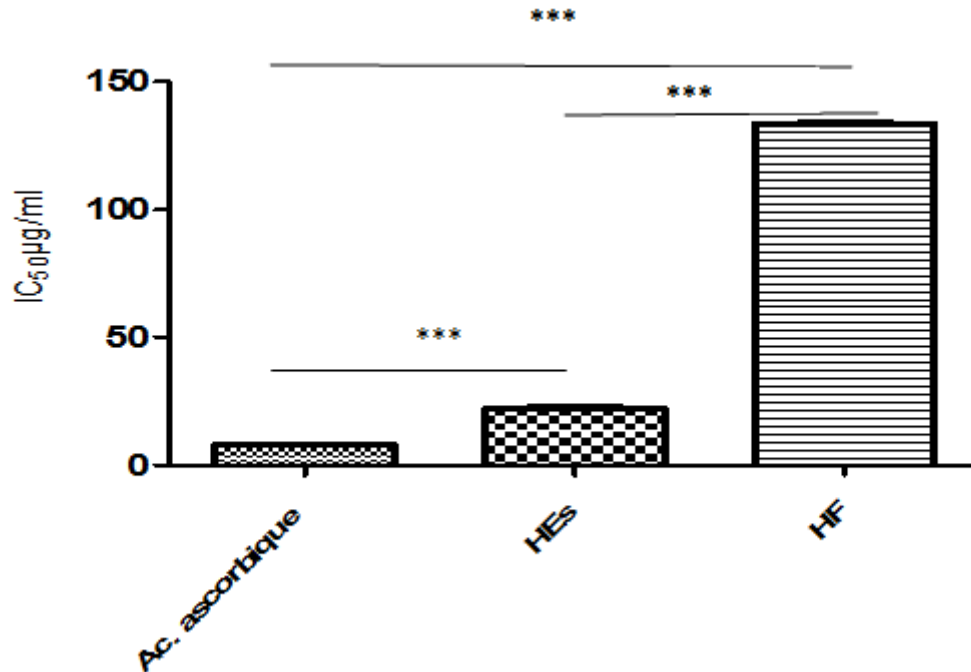


**Figure 15 :** Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d’HE (1) et fixe (2) de *Peganum harmala*



**Figure 16:** Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l’acide ascorbique.

L’activité antioxydante des extraits est exprimée en  $CI_{50}$ , il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l’activité du radical DPPH. Les valeurs d’ $I_{50}$  sont déterminées à partir des graphes (Figure17) dont l’abscisse représente la concentration des extraits et l’ordonnée l’activité antioxydante en pourcentage. Elle est de  $22,52 \pm 2,40 \mu\text{g/ml}$  pour l’huile essentielle et de  $139 \pm 2,86 \mu\text{g/ml}$  pour l’huile fixe, alors qu’elle est d’ordre de  $8 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$  pour l’acide ascorbique.



**Figure 18 :** Les valeurs IC<sub>50</sub> de l’huile fixe et essentielle et d’acide ascorbique. Les valeurs représentent la moyenne ± SD. \*\*\* : p< 0.05.

Statistiquement, l’huile fixe et essentielle a montré une différence significative (p< 0.05). D’une autre part ces huiles ont signalé aussi une différence significative en comparaison avec le standard (p< 0.05).

L’acide ascorbique, un antioxydant de référence, a montré un pourcentage d’inhibition très puissant envers du radical libre DPPH à des concentrations plus faibles. Nos résultats ont révélé aussi une importante activité anti-radicalaire des huiles (HEs, HF), HE présente l’extrait le plus actif avec un IC<sub>50</sub> de 22.52 ± 2.40 µg/ml puis HF d’IC<sub>50</sub> de 139 ± 2.86 respectivement

La vitamine C a révélé un IC<sub>50</sub> nettement inférieur à ceux d’HE et HF ce qui le rendre l’antioxydant le plus efficace. Une étude menée par **Khadhr et al., 2017** sur la même espèce en Tunisie a montré des IC<sub>50</sub> de 4.8 mg/ml d’huile fixe, lorsque l’extraction a été menée par la même méthode. Cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée avec notre huile.

En effet, il a été démontré que les constituants majeur responsable de l’activité antioxydante d’huile fixe est des polyphénols et des tocophérol (g-tocophérol, b-tocophérol, a-tocophérol (**Farouk et al., 2009** et **Khadhret al., 2016**). **Lalla en 1999** a montré que l’HF possédant aussi une quantité importante des alcaloïdes, et selon (**Djouadi et Kaci, 2017**) ces composés montrent une forte capacité de piégée les radicaux libre.

L'activité antioxydante d'HE semble aussi liée à la présence des composés phénoliques comme le thymol qui joue un rôle principal comme un réducteur des radicaux libres (**Pouya et al., 2013**).

Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires d'HE qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Laib, 2011**).

### III. 5. Activité antibactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des extraits naturels des plantes.

L'activité antibactérienne d'huile fixe et essentielle de la plante *Peganum harmala* est testée contre trois souches bactériennes via la méthode des puits. Les résultats sont exprimés et présentés par des diamètres des zones d'inhibition exercées par les différentes concentrations des huiles et les antibiotiques standards utilisés (Gentamicine GET (10µg), Céfazoline CEZ (30µg) et Vancomycine VAN (30µg)). (Tableau09).

En se basant sur les résultats obtenus, on observe que les huiles exercent un effet antibactérien considérable sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition augmentées avec une élévation des concentrations des huiles. La souche *Staphylococcus aureus* n'a révélé aucune sensibilité vers les différentes concentrations des huiles testées. Cet effet demeure très important par rapport à celui des antibiotiques de références

Selon **Biyiti et al. (2004)**, un extrait est considéré comme actif s'il enduit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Ainsi, ces résultats sont en concordance avec les données bibliographiques de **Darabpour et ses assistants (2011)**, **Benbott et ses collègues (2012)**, **Akbary et al (2015)**, **Mohsenipour et Hassanshahian (2016)** qui ont tous révélé une importante activité de différents extraits de *Peganum harmala*.

Les zones d'inhibition d'huile fixe et essentielle sont différentes, cela est due selon **Khenaka en (2011)** que l'activité antibactérienne d'une substance végétale dépend généralement de la nature, de la dose des principes actifs et la nature des souches bactériennes testées (Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des huiles, par rapport aux bactéries à Gram négatif).

L'HE de *Peganum harmala* est très riche aux monoterpènes (90,99%) (**Ghulam, 2014**), ces derniers exercent une forte activité antimicrobienne en particulier leur partie hydrophobe qui

lui permet de pénétrer vers les bicouches phospholipidiques de la membrane cellulaire bactérienne (Coste, 2007).

**Tableau 09:** Diamètre des zones d’inhibition (en mm) de différentes concentrations d’Huile essentielle

<i>Souches bactériennes</i>	<i>Concentrations (%)</i>		
	<i>1</i>	<i>5</i>	<i>10</i>
<i>Escherichia coli</i>	15,5	20	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	13	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00	00

Suite au nos résultats, l’huile fixe est jugée modérément active contre les souches d’*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec diamètre d’inhibition de (12-25 mm) et (14-25mm) respectivement (Tableau 10). Seules les souches de *Staphylococcus aureus* se révèlent les plus résistantes, cela pourrait expliquer par la composition d’huile fixe qui ne possède aucun pouvoir sur ce type des souches microbiennes.

Selon Djoud en 2012 l’action antibactérienne de notre huile peut être attribuée aux alcaloïdes qui ont un pouvoir antibactérien puissant contre les souches bactériennes testées. De plus Essawi et Srour, (2000) ont montré que l’efficacité optimale d’un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l’action combinée (synergie) de différents composés.

**Tableau10 :** Diamètre des zones d’inhibition (en mm) de différentes concentrations d’huile Fixe

<i>Souches bactériennes</i>	<i>Concentrations (%)</i>		
	<i>1</i>	<i>5</i>	<i>10</i>
<i>Escherichia coli</i>	00	12	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	17	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00	00

L’activité antibactérienne d’huile fixe et essentielle était plus efficace en comparaison avec de GET, CEZ et VAN (Tableau 11) pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* étudiée. En effet, Fernandez-Lopez et ses collaborateurs en (2005) ont rapporté que les composés

responsables de l'action antibactérienne peuvent être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes.

**Tableau11** : Diamètre des zones d'inhibition (en mm) des antibiotiques

Souches bactériennes	Antibiotiques de références		
	Gentamicine	Céfazoline	Vancomycine
<i>Escherichia coli</i>	23	32	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	06	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,5	20	24



## Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La plante *Peganum harmala* appartient à la famille des zygophyllacées, est parmi les plantes largement employée de nos jours en médecine traditionnelle à travers le monde.

Les tests photochimiques réalisés sur les graines en utilisant des réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des tanins, des alcaloïdes et des coumarines avec l'absence des saponosides .

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux des huiles fixes des graines de *Peganum harmala* par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols (57,22 µg/EAG/mg d'extrait). De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl<sub>3</sub> qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes (0,816 µg/EQE/mg d'extrait).

Les métabolites secondaires sont à l'origine des effets pharmacologiques intéressants pour cela différentes activités biologiques ; antioxydantes et antibactériennes des huiles fixes et essentielles extraites de *Peganum harmala* ont été examinées, permettant de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques traditionnelles. Ces activités importantes mais variables sont en relation avec la composition structurale des différents constituants qu'ils contiennent.

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.

## Références bibliographiques

- Ababsa Z. (2009).** Caractérisation Pharmacotoxicologique et Etude Phytochimique De *Centaurea Dimorpha*. Thèse de Magistère. *Université Mentouri* (Constantine, Algérie).
- AFSSAPS. (2008).** Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.
- Akbary P., Fereidouni M S ., Akhlaghi M. (2015).** In vitro antibacterial activity of *Peganum harmala* (L) extract to some fish pathogenic bacteria. *Iran. J. Aquatic. Anim. Health* 1(1) 7-16.
- Akpan J ., Garaba .(2006 ).** Extraction, caractérisation and modification of castor seed oil. *Leonardo J.Sci* 8,43-52.
- Alilou H., Bouchaib B., Hassani L.M. IE et Barka N. (2014).** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *Olorus*. *Afr. sci* 10(3) :316 – 328.
- Al Yahya M. A. ( 1986).** Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Saudi Arabia. *Fitoterapia* 52, 179-182.
- Anton R., & Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc* Paris, 522.
- Aouadhi S.(2010 ).** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude De 57 plantes recommandées par les herboristes ,15-166.
- Aref M., Heded M.( 2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master Académique.
- Baba Aissa F. (1990).** les plante médicinale en Algérie .
- Bayer E., Butter K et Finkenezler X. (2009).** Guide de la plante méditerranéenne.82-83.
- Behidj-Benyounes N., Dahmane T., Aknouche S et Demmouche K. (2015 ).** screening phytochimique et evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *peganum harmala* l. recol
- Berdai M., Labib S and Harandou M .( 2014).** Case Report Peganum harmala L. Intoxication in a Pregnant Woman. *Case Reports in Emergency Médecine*. Tees dans la région de m'sila. *Sciences et Technologie* 42,21-30
- Benbrinis S. (2012).** Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Pour l'obtention de diplôme de magistaire .
- Benbott A., Yahyia A., Belaïdi A.( 2012).** Assessment of the antibacterial activity of crude alkaloids extracted from seeds and roots of the plant *Peganum harmala* L. *J. Nat. Prod. Plant. Resour* 2 (5):568-573.
- Benouali d. (2016).** Extraction identification des huiles essentielles pour obtention de diplôme de master. Pp
- Ben Saadi H ., Guemmouda S. (2017).** Etude de l'activité antioxydante, Et antibactérienne d'extrait de *Suaeda fruticosa* Mémoire master académique.
- Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle, 41-45.
- Billerbeck V.G. (2007) .** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques *Pharmacognosie*, (5): 249–253 DOI 10.1007/s10298-007-0265-z

- Biyiti LF, Meko'o D., Tamzc V., Amvam ZPH. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Méd. Trad. Afr* (13) :11-20.
- Boyer F., Rondeau P., et Bourdon E. (2014).**Hyperglycemia induces oxidative damage in SW872 cells . *Arch Med biomed Res* (1) ,66\_78.
- Bouamara k., Haddad S. (2016).** Évaluation des activités biologiques de quelques huiles végétales mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme master.
- Boudjouref M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister .
- Boughendjioua H. (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau.Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat en sciences.
- Boutayeb A.( 2013).** Huile essentielle et végétale. pour obtenue de diplôme de licence.
- Brada M., Bezzina M et Marlier M. (2007) .**Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnologie. Agron. Soc. Environ* (11) ,3-7.
- Braz I., Mohamed H. (2018).**Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artemisa herba helba*, *Haloxylon scoparium*, *Peganum harmala* et *Zygophyllum album*)
- Bruneton. (2009).**Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales.4èmeEd Lavoisier Paris, 199-388
- Derakhshanfar A.k, Oloumi MM, Mirzaie M. (2010).** Study on the effect of *Peganum harmala* extract on experimental skin wound healing in rat: pathological and biomechanical findings. *Comp. Clin. Pathol* 19(2) ,169-172.
- Cavallo J. H ., Chardon C. Chidiac P., Choutet P., Courvalin H., Dabernat H., Drugeon L., Dubreuil F., Goldstein et Jarlier V. (2005) .**Comité dl'antibiogramme de la société Française de Microbiologie
- Chopra I. C., Abrial B., KHanda K .L. (1960).** La plante médicinale des régions aride considérées surtout du point de vue botanique .Ed UNESCO, Rome ,97.
- Cotelle N., Bernier J.L. Catteau J.P. Pommery J. Wallet J.C. & Gaydou E.M. (1990).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medecine*. 20: 35 -43
- Costes., P. (2007).**cycloisomerisations d'enyne issus de monoterpènes .par différentes voies l'obtention de catalytiques pour doctorat.
- Edziri M., Mastouri M. A., Mahjoub C. , Patrich D. M., Matieu D. S., Ammar S.M., Ali D. G., Laurent d M., Zine C et Aouni H.(2010).** Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala* L. grown in Tunisia. *Toxicological & Environmental Chemistry* 92, 1283–1292.
- El Ajjouri ., E., Badr S., Ghanmi M ., Aafi A., Abdellah F., Rahouti M. , Amarti F., et Aberchane M .( 2008).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 12(4), 345-351.
- Essawi T., Srour M.(2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Biol. Sci* 4(16),109–20.
- Falahati M., Fateh R., Kiani J. (2011).** Evaluation of antifungal effects of *Peganum harmala*.*Qom. Univ. Med. Sci J* 5, 14-17.

- fasla B.(2009)** .Evaluation du potentielle antimittotique et genotoxique de plante médicinale et analyse photochimique. Pour l'obtention de diplôme de magistère. Université d'Oran, 23.
- Farouk I., laroubi A., Ouchrif A., Abou fatima R., Benharrare A et Chaiatte A.(2009)** .study on antinociceptive Activity of différent Extract of P.Harmala and possible Mechanism of Acti on .*iranian Journale of pharmacology and therapeuti* (08) ,29-35.
- Garaba A.( 2006)** .productionof detergent from Castor Oil. *Pract .Technol* ( 9),153-160.
- Guergour H.( 2018 ):** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala* Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences en biochimie.
- Ghulam D., Farrukh H., Inayat Ur R.( 2014)** . Essential oil composition of some plants of family zygophyllaceae and euphorbiaceae *pak. j. bot.*, 46(6): 2043-2049.
- Hadjigogos k. (2003)** .The role of the free radicals in the pathogenesis of rheumatoid arthritis .*PANMINERVA MED* 45 ,7\_13 .
- Hagerman AE., Riedl K M., Jones GA., Sovik KN., Ritchard NT., Hartzfeld PW., Huang D., Ou B., Prior RL.( 2005)** .The chemistry behind antioxydant capacity assays. *J.agri. food chem.* 53(6): 1841-1856.
- Haleng J., Pincemai J., Defraigne O., Charlier P et Chapelle P J.(2007)** . Le stress oxydant
- Djoud H.(2012)** .L'activité antibactérienne des alcaloïdes et mécanisme d'action de la berbérine. Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures.
- Harrar A.( 2012)** . Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. mémoire Pour obtenir le diplôme de Magister.
- Hassanshahian M., Mohsenipour Z. (2016)**. Antibacterial activity of Espand (*Peganum harmala*) alcoholic extracts against six pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms.*Int. Re*
- Hua-B I., Ka-Wing C., Chi-Chun W., King-Wai F., Feng Chen, Y. (2007)** .Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae ; *Food Chemistry* (102) 771–776
- Ida A. , Luigi A ., Lucia C; Vincenzo D .,Filomena N . , Lucèia F., et Maroua K. (2016)**. Chemical Composition, Antibacterial and Phytotoxic Activities of *Peganum harmala* Seed Essential Oils from Five Different Localities in Northern Africa .*Molecules* 2016, (21) ,12335
- Iserin P.(2001)** . Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres 143, 225 ,226 p.
- Baraka V.J.( 2014)** . Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion – Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyqué mémoire Pour obtenir le Diplôme de Docteur *Pp* 42.
- Jouault S. (2012)**. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie pp 18, 19.
- Khademalhosseini AA., Tabatabaei A, Akbari P, Fereidouni MS, Akhlaghi M.( 2015)**. Comparison of *in vivo* antiseptic and *in vitro* antimicrobial effects of *Peganum harmala* L.
- Khadher M., Bousta D., El Hajaji H., Lachkar M., Barkai H., Ibsouda-K et Boukhchina S.( 2017)**. Phytochemical Screening, Total Phenolics and Biological Activities of Tunisian *Peganum harmala* Seed Extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical* (9),32-39 .
- Khadher M., Dalila B., El Hajaji H., El Mansouri S. B., Lachkar M., Bassem J and Boukhchina S**

- .( 2016). HPLC and GC–MS Analysis of Tunisian *Peganum harmala* Seeds Oil and Evaluation of Some Biological Activities. *American Journal of Therapeutics* ,1–7.
- Kemassi A., Bouziane1 N., Ould El Hadj et Boual M.D. (2008 )**. Activité biologique des huiles essentielles de *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae) et de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) sur *Schistocerca gregaria* .
- Khenaka K. (2011)**. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l’ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine. p19, 24.
- Kumesnoglu S., Turkoz S., & Koca U.( 1995)**. Constituents of the seed oil of *Peganum harmala* L. *J. Fac. Pharm. Gazi*, **12** (2), 141-142.
- Labiod R. (2015)**. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. pour l’obtention du diplôme de Doctorat en biochimie 14 -16.
- Laëtitia M. (2015)**. Utilisation des huiles essentielles chez l’enfant. Pour l’obtention du diplôme de docteur en pharmacie, 45
- Laib I. (2012)**. Etude des activités antioxydante et antifongique de l’huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technologie*
- Laghouiter O.K., Gherib A., Laghouiter H.( 2015)**. Etude de l’activité antioxydante des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa ElWahat pour les Recherches et les Etudes(8) n°1 : 84 – 93 84.
- Lalla M I .H. and El Hadeke .M. (1999)**. Analyse de la composition de l’huile de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) .*Acta Botanica..*
- Lamamra M. (2008)**. Contribution à l’étude de la composition chimique et de l’activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) et de *Filipendula hexapetala* Gibb .Pour l’obtention du Diplôme de magister ,25.
- Li A.B ., Wing Cheng K., Wong C.,King-W F et Jiang Y.( 2007)**. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry* (**102**) ,771–776
- Mahmoudian M., Jalipour H et Dardashti P. S. (2002)**. Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Iran. J. Pharmacol* (**1**), 1-4.
- Maire R et Jahandiez E. (1932)**. Catalogue des plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridiphytes) ,453.
- Maihebiau P. (1994)**. La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. 635-636.
- Maria E. G. (2008)**.The role of antioxidants and - antioxidant \_related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress antioxidant Mutation Research (**674**),137–147.
- Mansouri A, Guendez E, Kokkalou E, Kefalas P. (2005)**. Phenolic profile and antioxidant activity of Algerian ripe date palm (*Phoenix dactylifera* ) . *Food. Chem* (**89**): 411- 420.
- Meng-Er H. (2017)**. Stress oxydant, régulation Rédox et destin cellulaire.
- Mina C., Farzaei M.H and Gholamreza A. (2015)**. Medicinal properties of *Peganum harmala* L in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. *A review J Tradit Chin* (**35**),104-109.
- Mittler R. (2016)**. ROS are good. *Trends in Plant Science*.1215-1228.

- Monique Gardès-Albert, Bonnefont-Rousselot D., Zohreh A et Daniel J. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique *American Journal of Therapeutics*. 117- 120.
- Negre R. (1962).** Recherches phytogéographiques sur l'étage de végétation Méditerranéen aride (sous-étage chaud) au Maroc occidental.13.
- Nissar A. K., Aamir R., Nasir A.W et Tantray Y .R. (2017).** Distribution, Statuts, Pharmacological, and Traditional importance of *Peganum harmala* L. *International Journal of Advanced Reasearch in Science and Engineering* (6), 1887-189.
- Nogaret E. (2008).** La phytothérapie .1èmeEd. Paris, 192 *Gallica*146, 353-359.
- Ozenda P. (1991).** Flore de Saha ra .2 ème Ed, Paris,622.
- Paris R, Moyse H. (1969).** Précis de matière médicinale. Ed Masson Paris.
- Pincemail C.,Charlier C. ,Gillion P. ,Cheramy-Bien J.,Van Honacker E. ,Chapelle JP et Defraigne J.,1999 :**Evaluation biologique du stress oxydant Application en routine clinique. *Arch Med biomed Res* 1, 25-30.
- Podsedek A. (2007).** Natural antioxidants capacity of Brassica vegetables. *LWT. (40):1-11*
- Poinso A. , ( 2016).** Recherche d'inhibiteurs du superoxyde dismutase à partir de substances naturelles pour l'optention du diplôme de doctorat Pp29.
- Rached W. (2009).** Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique, mémoire pour l'optention du diplôme de magister.
- Rezzagui A. (2012).** Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydant des différents extraits des graines de *Peganum harmala* L. Pour obtenir le diplôme de Magister.
- Rizk AM. (1982).** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia* 52 (2), 35-42
- Roux D. (2011) :** Conseil en aromathérapie. 2e éd. Pays-Bas ,187
- Sajous A., Botta I et Sari M. I. (2008).** Dosage de la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine dans les urines : un biomarqueur du stress oxydatif d'origine environnementale. *Ann Biol Clin* (66), 19-29.
- Sallal A., Sahar M., AL- Jammali J. et Naki Z. J. (2013).** Effect of repeated administration of *Peganum harmala* alcoholic extract on the liver and kidney in Albino mice: A histo-pathological study *.Journal of Scientific & Innovative Research* 2 (3), 585-597
- Shahverdia A., Monsef-Esfahanib R. ,NickavareB., Bitarafanb L.,Khodaeaa S et Khoshakhlagh Z.,2005:**Antimicrobial Activity and Main Chemical Composition of Two Smoke Condensates from *Peganum harmala* Seeds . *Naturforsch* (60), 707.710.
- Solene J. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité .pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie ,17 .
- 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. *Rev. Biol . Biotech* (2), 33-37.
- Toure D. (2015).** Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes medicinales de côte d'ivoire pour l'obtention du Titre de Docteur pp32.
- Trabsa H. (2011).**Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Peganum harmala* l. pour l'obtention de diplôme de doctorat.
- Trease E., Evans WC. (1987).** (Pharmacognosy Billiaire. Editions Tindall London pp: 61-62.

**Tony P. (2016).** Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie. Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, 18.

**Wecksser W. (2013).** First record of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) in Val Verde County, Texas, and subsequent eradication treatment. *Phytoneuron* (71), 1–5

**Wang Z., Xinzhu P., Shaoyu Z. (2011).** Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis James E. Klaunig. *Toxicology and Applied Pharmacology* (254), 86–99

**Zeguada F. Z. (2009).** Activité allélopathique et analyse photochimique. Mémoire pour obtention en biologie université d'Oran, 120.

**Zarrou B. (2012).** Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Astéracées) et évaluation de leur activité antioxydante.

## Annexes

### 1. Tests d'identification des métabolites

- **Tanins**

Nous avons introduit dans un tube à essai 2 ml d'infusé à 5% ; puis nous avons ajouté quelques gouttes de solution  $\text{FeCl}_3$  à (5% dans l'éthanol). En présence de tanins il se développe une coloration brune verte qui révèle la présence des tanins

- **Les alcaloïdes**

Nous avons introduit de la poudre végétale (10 g) dans un erlenmeyer de 250 ml à laquelle nous avons ajouté 50 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dilué au 1/10 (50 ml). Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire. Nous avons filtré sur papier lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat. Puis on divise le filtrat en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner.

#### Réaction de caractérisation

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suite :

- **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1.358 g d' $\text{HgCl}_2$  dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.

- **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de  $\text{I}_2$ . Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

- **Les coumarines**

1g de poudre végétal est placé dans un tube, en présence de quelque gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de  $\text{NaOH}$  dilué (10%), et sont portés à l'ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV

- **Les saponosides**

Dans un tube à essai, 2g de poudre de la plante est mélangé avec 80 ml d'eau distillée puis portés à l'ébullition pendant 5 min , on filtre l'extrait et ensuite refroidit et agité vigoureusement pendant 2min , la formation d'une masse plus au moins important indique la présence des saponosides.



## 2. Quelques photos sur l'activité antibactérienne

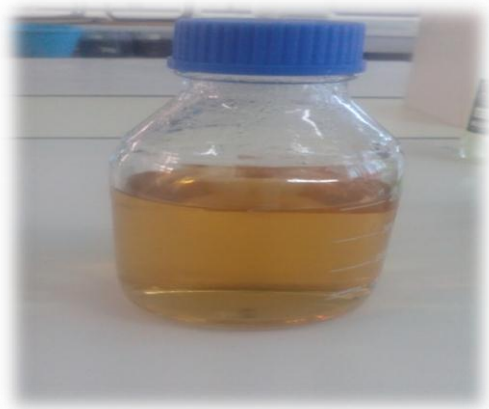


Les antibiotiques utilisés.

Préparation de l'inoculum

### Milieu de culture :

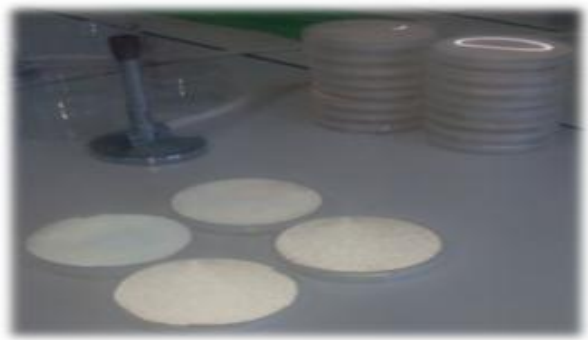
- Le milieu de culture utilisée dans cet essai est la gélose nutritive GN, 28g de poudre de gélose préparé dans un litre d'eau distillé, agité sur une plaque chauffante pendant 20 min.



Milieu de culture



Préparation des puits

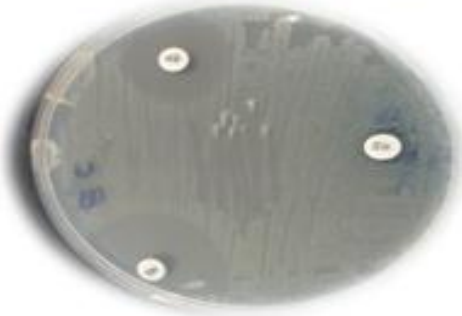








Boîtes de pétri remplies avec milieu de culture



**Ensemencement**



<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	

	HF	HE
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	