



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بو عريريج

Université Mohamed El Bachir EL IBRAHIMI B.B.A.

كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض و الكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de  
l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

## Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse et contrôle de qualité des denrées alimentaires

### Thème

**Évaluation de l'activité antioxydante et l'activité  
microbiologique des déférents extraits de  
*Peganum Harmala.***

Présenté par :

- Bendjoual Meriem
- Drouaz Soumia
- Hermouche Kheira

Devant le jury :

<b>Président :</b>	M. Djenidi. R	MCA	(Univ : BBA).
<b>Encadrant:</b>	M. Diafat. A	MCB	(Univ : BBA).
<b>Co-encadreur:</b>	M. Meribai. A	MAA	(Univ : BBA).
<b>Examineur:</b>	Mme. Fatmi. W	MCB	(Univ : BBA).

Année universitaire : 2015/2016

# Remerciements

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu  
notre créateur pour nous avoir donné la force pour  
accomplir ce travail.*

*Nous remercions infiniment M<sup>r</sup> Djenidi. R, d'avoir accepté de juger et présider  
notre travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance  
à notre encadreur Docteur Diafat Abdelouahab  
qui a mis tout son compétence à notre disposition  
pour ces directives et conseils judicieux et pour  
son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à l'examinatrice  
M<sup>m</sup> Fatmi. W.*

*Nous tenons à présenter nos remerciements à M<sup>r</sup> Meribai. A pour avoir dirigé ce  
modeste travail, son aide, et ses conseils précieux,*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous  
nos professeurs qui ont contribués à notre formation*

*Nous tenons aussi a remercié l'ensemble des techniciens  
de laboratoire de biochimie et chimie surtout  
(Khalil, Amirouch, Sabrina et fouade)*

*Pour Leur gentillesse et leur aide durant  
la période que nous avons passé dans le laboratoire.*

*Nos derniers remerciements et ce ne sont pas  
les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué  
de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*

# Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin*

*de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*A mes chères soeurs : Saadia, Nacira, Imene, Amina et Yasmine.*

*A mon petit frère: Aissa el Mahdi.*

*A ma grand-mère Zouina.*

*A mes tantes, surtout Fatima Zohra Rachedi, mes oncles.*

*A toute ma famille Drouaz et Rachedi.*

*A tous mes Amis*

*A mes collègues «Meriem et Kheira» qui ont partagées avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.*

*À tous ceux qui aiment la science*

*Soumia*

# *Dédicace*

*C'est grâce à dieu le tout puissant qui m'a donnée  
le courage et la volonté pour achever ce modeste  
travail que je dédie : à la mémoire de mon père*

*À ma douce mère pour son dévouement, son amour  
et ses encouragements.*

*À mes frères pour ses conseils et ses soutiens inconditionnel.*

*À toute ma famille et mes amis.*

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

*Kheira*

# *Dédicace*

*Par la grâce de dieu le tout puissant qui m'a donné la force et la persévérance pour achever ce modeste travail, je dédie ma recherche  
A mes parents qui n'ont ménagé aucun effort pour que je puisse arriver  
à ce que je suis aujourd'hui.*

*A mes frères Youssef, Ismail et sa femme Zahira ainsi que mes sœurs  
Zahira et Ahlem.*

*A toute la famille bendjoual, oukil, bensaadiya et mibarkj.*

*Sans oublier, mes camarades soumia et kheira*

*A mes professeurs qui m'ont aide de près ou de loin.*

*Meriem*

## Liste des abréviations

**ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**Acét d'éth** : Acétate d'éthyle.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AlCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O** : Aluminium chloride hexahydrate.

**Aw** : water activity (l'activité de l'eau).

**Chlo** : Chloroform.

**CMI**: Concentration minimale inhibitrice.

**E Act** : Extrait d'acétate d'éthyle.

**E AG** : Equivalent d'acide gallique.

**E Aqu** : Extrait aqueux.

**E met** : Extrait méthanolique.

**E Chl** : Extrait chloroformique.

**E Hex** : Extrait d'hexane.

**E PT** : Eau peptonée tamponnée.

**Eau dist** : Eau distillé.

**EQ** : Equivalent de quercétine.

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**GABA** : Acide gamma amino-butérique.

**GN** : Gélose nutritive.

**Hex** : Hexane.

**IC50**: Half maximal inhibitory concentration.

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**: Dipotassium hydrogénéphosphate.

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Monopotassium phosphate.

**Méth** : Méthanolique.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé.

**PDA**: Potato dextrose agar.

**TEAC**: Trolox equivalent antioxidant capacity.

**Trolox** : Acide 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits des graines de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>24</b>
<b>Tableau 02</b> : Teneur en flavonoïdes dans les différents extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau 03</b> : IC50 des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> pour le test de DPPH.....	<b>26</b>
<b>Tableau 04</b> : les IC50 des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> pour le test d'ABTS....	<b>26</b>
<b>Tableau 05</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits aqueux et méthanolique de <i>Peganum harmala</i> et par l'Amoxicilline.....	<b>30</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> <i>Artemisia herba alba</i> .....	04
<b>Figure 02 :</b> <i>Cotula cinerea</i> .....	04
<b>Figure 03:</b> <i>Nigella sativa</i> .....	05
<b>Figure 04 :</b> Arbuste de <i>Peganum harmala</i> .....	08
<b>Figure 05 :</b> Différentes partie de <i>Peganum harmala</i> .....	09
<b>Figure 06 :</b> Protocole de préparation des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	18
<b>Figure 07 :</b> Pouvoir réducteur des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	28
<b>Figure08 :</b> Zones d'inhibition de la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> induites par l'extrait méthanolique et l'amoxicilline.....	30
<b>Figure09 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> vis -à- vis les concentrations de l'extrait méthanolique .....	31
<b>Figure10 :</b> Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait méthanolique (activités antibactériennes).....	32
<b>Figure 11 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Bacillus cereus</i> par les concentrations de l'extrait aqueux.....	33
<b>Figure 12:</b> Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait aqueux .....	34
<b>Figure 13 :</b> Inhibition de la croissance de <i>Phytophthora infestans</i> vis-à-vis les concentrations de l'extrait méthanolique.....	35
<b>Figure 14:</b> Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait méthanolique (activités antifongiques).....	36

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction..... 01

## I- Partie bibliographique

I. 1. Compléments alimentaires..... 02

I. 1. 1. Définition..... 02

I. 1. 2. Les types des compléments alimentaires..... 02

I. 1. 2. 1. Les vitamines et les minéraux ..... 02

I. 1. 2. 2. Plante..... 02

I. 1. 2. 3. Extraits de plantes..... 03

I. 2. Les plantes et la médecine traditionnelle..... 03

I. 2. 1. Médecine Traditionnelle..... 03

I. 2. 2. Les Plantes Médicinales..... 03

I. 2. 2. 1. Quelques exemples de plantes médicinales..... 03

I. 3. Le stress oxydatif..... 05

I. 3. 1. Définition..... 05

I. 3. 2. Les radicaux libres..... 05

I. 3. 3. Les espèces réactives de l'oxygène..... 05

I. 3. 4. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif..... 05

I. 3.4. 1. L'oxydation de l'ADN..... 06

I. 3. 4. 2. L'oxydation des protéines..... 06

I. 3. 4. 3. L'oxydation des lipides..... 06

I. 3. 4. 4. Oxydation des glucides..... 06

I. 3. 5. Systèmes de défenses antioxydants ..... 07

I. 3. 5. 1. Antioxydants enzymatiques..... 07

I. 3. 5. 2. Antioxydants non enzymatiques..... 07

I. 4. Généralités sur la plante <i>Peganum harmala</i> .....	08
I. 4. 1. Présentation de la plante.....	08
I. 4. 2. Classification .....	08
I. 4. 3. Description botanique .....	09
I. 4. 4. Nom vernaculaire.....	09
I. 4. 5. Répartition géographique.....	10
I. 4. 6. Données phytochimiques.....	10
I. 4. 7. Usage traditionnel .....	10
I. 4. 8. Les propriétés pharmacologique et biologique de <i>Peganum harmala</i> .....	11
I. 4. 8. 1. L'activité antibactérienne et antifongique.....	11
I. 4. 8. 2. Propriétés antidiabétiques .....	11
I. 4. 8. 3. Les Propriétés insecticide .....	12
I. 4. 8. 4. Activité antioxydante.....	12
I. 4. 8. 5. Activité allélopathique.....	12
I. 4. 8. 6. Les propriétés toxicologiques.....	12
I. 5. Activités antimicrobiennes .....	13
I. 5. 1. les substances antimicrobiennes. ....	13
I. 5. 2. Les microorganismes .....	14

## II- Matériel et méthodes

II. 1. Matériels.....	17
II. 1. 1. Matériel biologique.....	17
II. 1. 1. 1. La plante <i>Peganum harmala</i> .....	17
II. 1. 1. 2. Les souches des bactéries.....	17
II. 1. 1. 3. Les souches des champignons.....	17
II. 2. Méthodes.....	17
II. 2. 1. Préparation des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	17
II. 2. 2. Dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes.....	18
II. 2. 2. 1. Dosage des poly phénols totaux .....	18
II. 2. 2. 2. Dosage des flavonoïdes.....	19
II. 2. 3. Activités biologiques de la plante.....	19
II. 2. 3. 1. Évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits.....	19
II. 2. 3. 1. 1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH.....	19
II. 2. 3. 1. 2. Réduction des ions métalliques (Pouvoir réducteur).....	20

II. 2. 3. 1. 3. Test de réduction du radical cation ABTS+.....	20
II. 2. 3. 2. Activités antimicrobiennes de <i>Peganum harmala</i> .....	21
II. 2. 3. 2. 1. Préparation des extraits de <i>Peganum harmala</i> .....	21
II. 2. 3. 2. 2. Réactivation des souches microbiennes.....	21
II. 2. 3. 2. 3. Réalisation des interactions proprement dites sur la gélose nutritive.....	21

### **III- Résultats et discussion**

III. 1. Teneur en poly phénols et flavonoïdes.....	24
III. 1. 1. Teneur en poly phénols.....	24
III. 1. 2. Teneur en flavonoïdes.....	24
III. 2. Activités biologiques.....	25
III. 2. 1. Activité Antioxydante.....	25
III. 2. 1. 1. Inhibition du radical DPPH.....	25
III. 2. 1. 2. Réduction du radicalcation ABTS+.....	26
III. 2. 1. 3. Pouvoir réducteur.....	27
III. 2. 2. Activités Antimicrobiennes.....	29
Discussion.....	37
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	
Annexes	

## Résumé

*Peganum harmala*, connue également par Harmel, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne de cinq extraits (Aqueux, Méthanolique, Chloroformique, Hexane et Acétate d'éthyle) des grains de *Peganum harmala*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits des grains de *Peganum harmala* en utilisant ainsi trois techniques : piégeage du radical DPPH, radical cation ABTS<sup>+</sup> et le pouvoir réducteur, ces techniques montrent que tous les extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes. L'extrait méthanolique est le plus actif avec IC<sub>50</sub> de 0.34, 0.4 et 1.5 mg de poids des grains secs des tests DPPH, le pouvoir réducteur et le test du radical cation ABTS<sup>+</sup> respectivement.

L'effet antimicrobien des extraits a été évalué par le test de diffusion sur l'agar vis-à-vis de dix souches microbiennes. Les résultats révèlent que seul l'extrait aqueux et méthanolique ont exercés un effet antibactérien sur quatre souches et une levure, et que l'extrait méthanolique possède la meilleure activité antifongique sur les trois souches utilisées.

L'étude phytochimique montre que la plante est riche en polyphénols, surtout l'extrait méthanolique et aqueux avec des valeurs de 5.94, 4.22 mg EAG/g de poids des grains secs respectivement. Par ailleurs, la teneur en flavonoïdes est très importante dans l'extrait aqueux avec 0,42 mg EQ/g de poids des grains secs.

**Mots clés:** *Peganum harmala*, Activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, réduction du radical cation ABTS<sup>+</sup>, pouvoir réducteur, activité antifongique, Antibactérien.

## **Abstract**

Peganum harmala, also known by Harmel, is a plant largely used in Algerian traditional medicine to treat a variety of disorders.

The objective of this study was to evaluate the antioxidant activity and the antimicrobial activity of five extracts (Aqueous, Méthanolique, Chloroformic, Hexane and Acetate of ethyl) of the grains of Peganum harmala, a medicinal herb of the traditional pharmacopeia of Algeria.

The study of the antioxidant activity of the extracts of the grains of peganum harmala by using three techniques: trapping of radical DPPH, radical cation ABTS<sup>+</sup> and the reduction, these techniques show that all the extracts of the studied plant present antioxidant properties. The extract methanolic is most active with IC<sub>50</sub> of 0.34, 0.4 and 1.5 mg of weight of the dry grains of tests DPPH, the reduction and the test of radical cation ABTS<sup>+</sup> respectively.

The antimicrobial effect of the extracts was evaluated by the test of diffusion on agar with respect to ten microbial strains. The results reveal that only the extract aqueous and methanolic exerted an antibacterial effect on four strains and a yeast, and that the extract methanolic has the best antifungal activity on the three strains used.

The phytochemical study respectively shows that the plant is rich in polyphenols, especially the extract methanolic and aqueous with values of 5.94, 4.22 mg EAG/g of weight of the dry grains. In addition, the teneur in flavonoïdes is very important in the aqueous extract with 0.42 mg EQ/g of weight of the dry grains.

**Keywords:** *Peganum harmala*, Antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, DPPH, reducing the radical cation ABTS<sup>+</sup>, reducing power, antibacterial, antifungal activity.

## ملخص

لحرمل من أهم النباتات المستعملة في الطب التقليدي الجزائري لعلاج العديد المعروفة أيضا بـ *Peganum harmala* من الأمراض. إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات لخمسة *Peganum harmala* و الكوروفورم، وخلات الإيثيل والهكسان) لبذور مستخلصات (مائية، والميثانول،

، محاصرة DPPH تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات حرمل باستخدام ثلاث تقنيات: محاصرة راديكالية و قدرت الإرجاع، تظهر هذه التقنيات أن جميع مستخلصات الحرمل لها خصائص مضادة +ABTS الجذور الموجبة 1.5 من بذور mg للأكسدة على مختلف المستويات. و كان مستخلص الميثانول الأكثر نشاطا مع نتائج 0.34 ، 0.4 و ، قدرت الإرجاع ومحاصرة الجذر الموجب DPPH من الاختبارات محاصرة راديكالية *Peganum harmala* على التوالي. +ABTS

تم تقييم تأثير مضادات الميكروبات للمستخلصات باختبار الانتشار على الأجار ضد عشر سلالات ميكروبية. حيث بينت أن المستخلص المائي و الميثانول فقط تطبق تأثير كبير مضاد البكتيريا على أربعة سلالات بكتيرية و خميرة. وأن النتائج مستخلص الميثانول فقط لديه أفضل نشاط مضاد على ثلاث سلالات من الفطريات.

mg خاصة المستخلص الميثانولي و المائي حيث قدرت ب أظهرت الدراسة الفيتوكيميائية أن هذه النبتة غنية بالبوليفينول ، مقارنة 0.42 mg EQ/g ب 4.22. من جهة أخرى إن كمية الفلافونويد كبيرة في المستخلص المائي ، 5.94 EAG/g بالمستخلصات الأخرى.

،إرجاع الحديد مادة البوليفينول ، DPPH ، +ABTS، النشاط المضاد للأكسدة، *Peganum harmala*: كلمات مفتاحية الفلافونويد، مضاد للفطريات، مضاد للبكتيريا.



## Introduction

---

Un complément alimentaire comme son nom l'indique, sert à compléter un régime alimentaire normale, son but est d'aider notre organisme à garder la santé voire à l'améliorer. Parmi ces substances on trouve les vitamines, les minéraux, les plantes et les extraits des plantes.

La médecine par les plantes n'a pas d'âge. On sait de source sûre que les Egyptiens de l'antiquité utilisaient de très nombreuses plantes médicinales.

Cette pratique traditionnelle, a permis de découvrir l'utilisation de nombreuses plantes après expériences sur le terrain. De plus elle est massivement employée dans certains pays en voie de développement.

L'Algérie possède une flore riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve l'espèce *Peganum harmala*, largement distribuée surtout dans les régions arides et semi arides. Utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, Cette plante largement utilisée pour traiter différents troubles digestifs, cutanés, infectieux...etc.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de *Peganum harmala*.

Dans ce présent travail, nous sommes fixés les objectifs suivants :

- La détermination de la teneur en polyphénols et flavonoïdes des différents extraits obtenus à partir des graines de *Peganum harmala*.
- L'étude de l'effet piègeur (effet scavenger) des extraits des graines de *Peganum harmala* envers le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH).
- L'étude de la capacité des extraits de *Peganum harmala* à piéger le radical-cation ABTS<sup>+</sup>.
- L'étude du pouvoir réducteur des différents extraits.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Peganum harmala* sur quatre souches par le test de diffusion sur l'agar.
- Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *Peganum harmala* sur cinq souches fongique.

## Conclusion

---

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante et antimicrobienne a concerné une plante appartient à la famille des *Zygophyllaceae*, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes. Il ressort de ces analyses que la plante *Peganum harmala* est riche en polyphénols et flavonoïdes.

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH, réduction du radical-cation  $ABTS^+$ , et le pouvoir réducteur dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une meilleure activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis dix souches pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que l'extrait aqueux et méthanolique de *Peganum harmala* ont une action très forte sur toutes les espèces bactériennes testées. Et que seul l'extrait méthanolique a exercé une activité antifongique considérable sur trois souches, les deux autres *Fusarium solani.var.coeruleum* et *Aspergillus flavus* ont manifesté une résistance pour tous les extraits.

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antioxydants et antimicrobiens ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

Dans des études ultérieures il faut faire :

- Une Etude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de cette plante.
- De même, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d'une part les composés de la plante *Peganum harmala*. (Notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques et des flavonoïdes) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets biologiques.

## **Conclusion**

---

- Etude d'autres effets biologiques tels que l'effet anti-inflammatoire, anti hémolitique et anti arthritique...etc.
- Evaluation du risque toxicologique de la plante (la toxicité aigüe, subaigüe et chronique), tératogénèse, mutagénèse.

### Résultats

#### III. 1. Teneur en poly phénols et flavonoïdes

##### III. 1. 1. Teneur en poly phénols

La teneur des différents extraits des graines de *Peganum harmala* en polyphénol a été déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu et exprimée en mg EAG/g de grains secs. Les concentrations des polyphénols ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe IV**).

La teneur en polyphénols des différents extraits varie de 0,1 à 5,94 mg EAG/g de grains secs. Il est clair que l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénol (5,94 mg EAG/g de grains secs) suivie par l'extrait Aqueux (4.22mg EAG/g de grains secs), l'extrait Acétate d'éthyle (0.23mg EAG/g de grains secs), l'extrait Hexane (0.15mg EAG/g de grains secs) et l'extrait chloroformique (0.1mg EAG/g de grains secs) (**Tableau 01**).

**Tableau 01** : Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits de graines de *Peganum harmala*.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux
	mg EAG/g de grains secs
<b>E Aqu</b>	4,22
<b>E Met</b>	5,94
<b>E Hex</b>	0,15
<b>E Chl</b>	0,1
<b>E Act</b>	0,23

##### III. 1. 2. Teneur en flavonoïdes

Les concentrations des flavonoïdes ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Annexe IV**).

L'estimation de la teneur en flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, et les résultats obtenus varient entre 0.42 mg EQ/g de grains secs pour l'extrait aqueux à 0.001mg pour l'extrait d'hexane (**Tableau 02**).

**Tableau 02** : Teneur en flavonoïdes dans les différents extraits de *Peganum harmala*.

Extraits	Teneur en flavonoïdes
	mg EQ/g de grains secs
<b>EAqu</b>	0,42
<b>Emet</b>	0,12
<b>EHex</b>	0,001
<b>EChl</b>	0,015
<b>EAct</b>	0,013

Les résultats montrent que l'extrait aqueux a une forte teneur en flavonoïdes (0,42 mg/g de grains secs) par rapport à celles des autres extraits, l'extrait Hexane à une faible teneur (0,001 mg EQ /g de grains secs).

### III. 2. Activités biologiques

#### III. 2. 1. Activité Antioxydante

##### III. 2. 1. 1. Inhibition du radical DPPH

L'inhibition de radical DPPH, est exprimée en IC<sub>50</sub>. Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à l'IC<sub>50</sub> la plus faible.

Les résultats de l'activité anti radicalaire de nos extraits montrent que l'extrait méthanolique est le plus actif avec un IC<sub>50</sub> de 0.34% (**Tableau 03**).

**Tableau 03** : IC50 des différents extraits de *Peganum harmala* pour le test de DPPH.

Extrait	IC50 mg /g de grains secs
E hex	<b>95</b>
E acét	<b>6,48</b>
E chlo	<b>5,8</b>
E mét	<b>0,34</b>
E aqu	<b>2,62</b>
Quercétine	<b>2,20</b>
Acide gallique	<b>0,43</b>
Acide ascorbique	<b>2,20</b>

Les standards utilisés sont l'acide gallique, acide ascorbique et quercétine qui ont montrés une activité antioxydante puissante avec une IC50 de l'ordre de 0.43, 2 .20 et 2.20 mg /ml respectivement.

### III. 2. 1. 2. Réduction du radical-cation ABTS+

Le test de réduction de radical cation ABTS+ est déterminé en comparant les IC50 trouvés avec un antioxydant de référence Trolox (**Annexe IV**).

Les résultats de test de réduction de radical cation ABTS+ ont montré que les différents extraits des graines de *Peganum harmala* piègent les radicaux ABTS avec des IC50 de l'ordre de 1.5, 30.4, 42.80, 56.3 et 98,80 mg de grains secs pour l'extrait méthanolique, chloroformique, Aqueux, Hexane et Acétate d'éthyle, respectivement (**Tableau 04**).

**Tableau 04**: les IC50 des différents extraits de *Peganum harmala* pour le test d'ABTS.

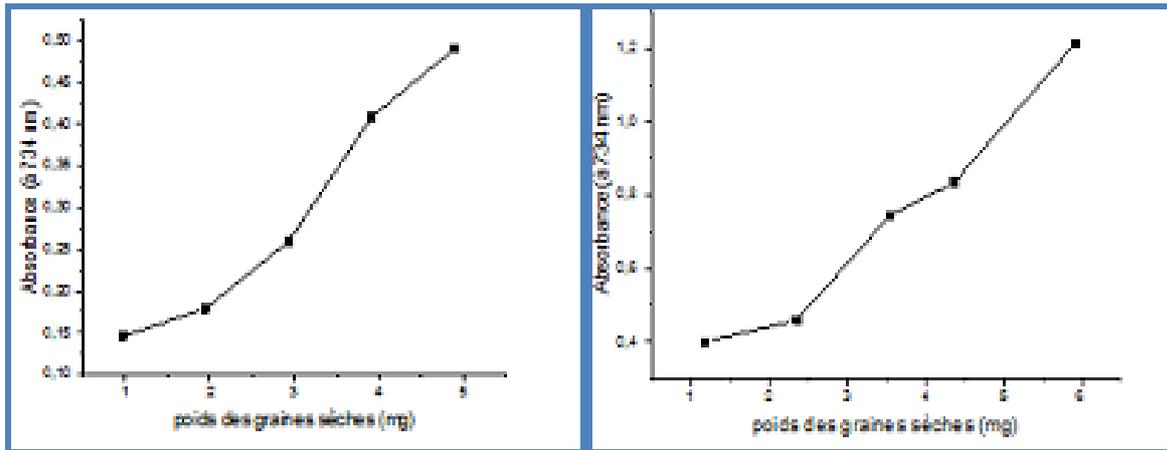
Extrait	IC50 mg de grains secs
E Hex	<b>56,3</b>
E Acét	<b>98,80</b>
E Chlo	<b>30,4</b>
E Mét	<b>1,5</b>
E Aqu	<b>42,80</b>
Acide gallique	<b>14</b>

### III. 2. 1. 3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de *Peganum harmala* est mesuré par la réduction directe de  $\text{Fe}^{3+} (\text{CN}^-)_6$  en une forme ferreuse  $\text{Fe}^{2+} (\text{CN}^-)_6$  qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe  $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6]_3$  ayant une forte absorption à 700 nm.

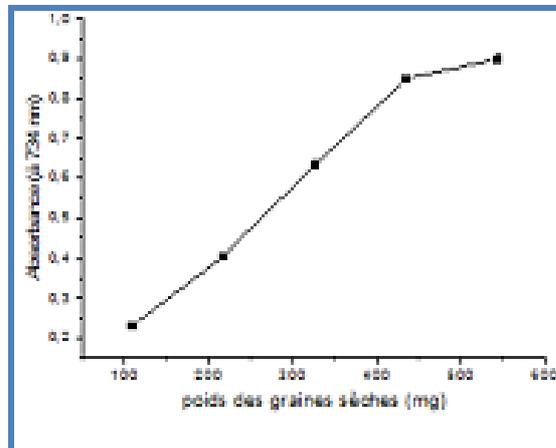
Les résultats montrent que les extraits de *Peganum harmala* possèdent un pouvoir réducteur remarquable, concentration-dépendante, tandis que l'acide gallique et l'acide ascorbique montrent une activité réductrice maximale à 50  $\mu\text{g/ml}$  (**Annexe IV**).

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante augmente avec l'augmentation de la concentration, on observe que l'extrait méthanolique à un pouvoir réducteur le plus élevé suivait de l'extrait aqueux (**Fig07**).

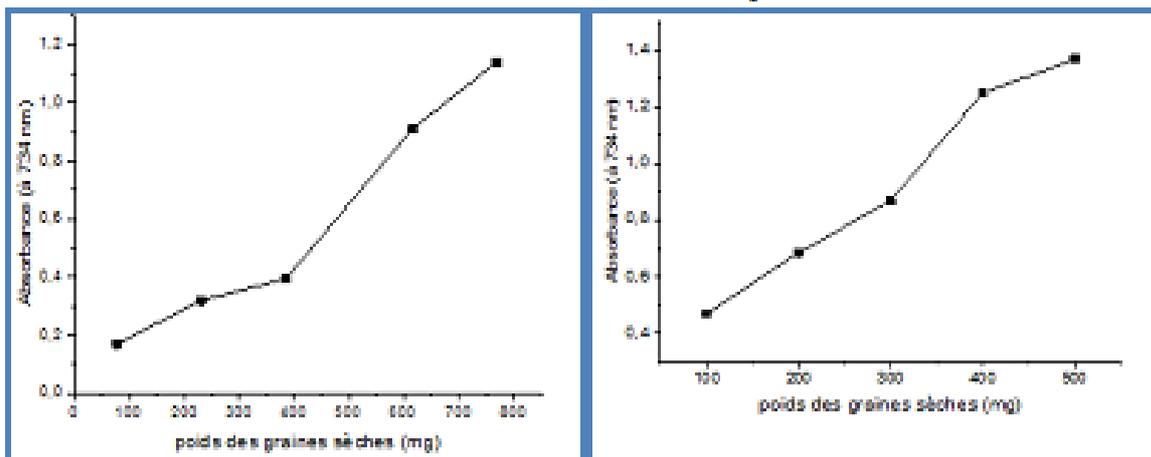


Extrait Aqueux

Extrait Méthanolique



Extrait Acétate d'éthyle



Extrait Hexane

Extrait Chloroformique

Figure 07: Pouvoir réducteur des différents extraits de *Peganum harmala*.

### III. 2. 2. Activités Antimicrobiennes

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien des extraits isolés de *Peganum harmala* par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton et la gélose nutritive pour les bactéries et le milieu PDA pour les champignons.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits à tester vis-à-vis de dix (10) germes pathogènes dont (4) bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> et (5) champignons et une levure.

L'effet inhibiteur de la croissance des germes est manifesté par les deux extraits, l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique à partir d'une concentration mère de 300 mg/ml, sur les 04 souches bactériennes (*Salmonella typhimurium*, et *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, et *Staphylococcus aureus*), la levure *Candida albicans*, et 03 champignons (*Phytophthora infestans*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum schlechtendahlf.sp.albedinis*).

L'extrait d'hexane, d'acétate d'éthyle et de chloroforme n'ont, cependant, produit aucun effet vis-à-vis de toutes les souches testées.

Le DMSO a été testé, les résultats montrent que le DMSO est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

#### III. 2. 2. 1. Résultats d'antagonisme

##### a- Antibactériennes

L'activité antibactérienne des extraits de *Peganum harmala* a été testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes via la méthode de diffusion sur l'agar (GN). Les résultats révèlent que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux de *Peganum harmala* exercent un effet antibactérien considérable sur toutes les souches (**Tableau 05**).

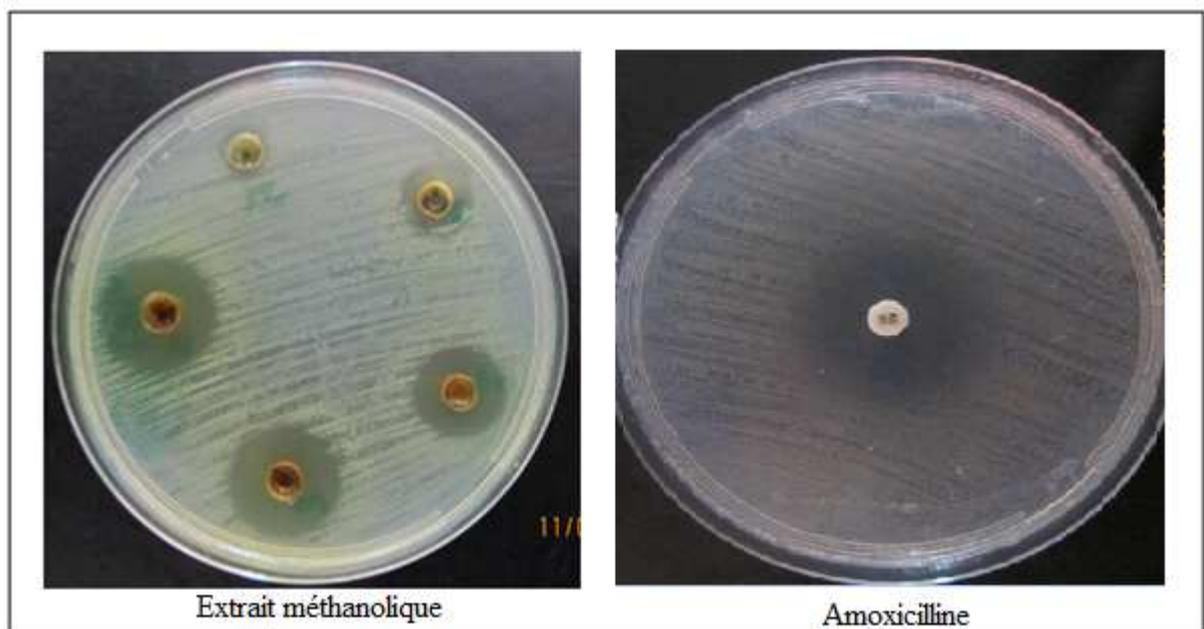
Cet effet demeure plus fort par rapport à celui de l'amoxicilline, utilisée comme antibiotique de référence (**Fig 08**).

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, le tableau ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les extraits et l'antibiotique sur les différentes souches étudiées.

**Tableau 05.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits aqueux et méthanolique de *Peganum harmala* et par l'amoxicilline.

Souches	Diamètre des zones d'inhibitions (mm)			
	Contrôle négatif	Amoxicilline	E Aqu	E Met
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	20/20	14/14	22/23
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	0	10/10	20/15
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	19/17	33/34
<i>Escherichia coli</i>	0	17/17	16/19	17/15

L'extrait méthanolique de *Peganum harmala*, présente un effet inhibiteur très important sur la croissance de *Staphylococcus aureus* (**Fig 08**) cet effet est presque similaire à celui de l'amoxicilline.



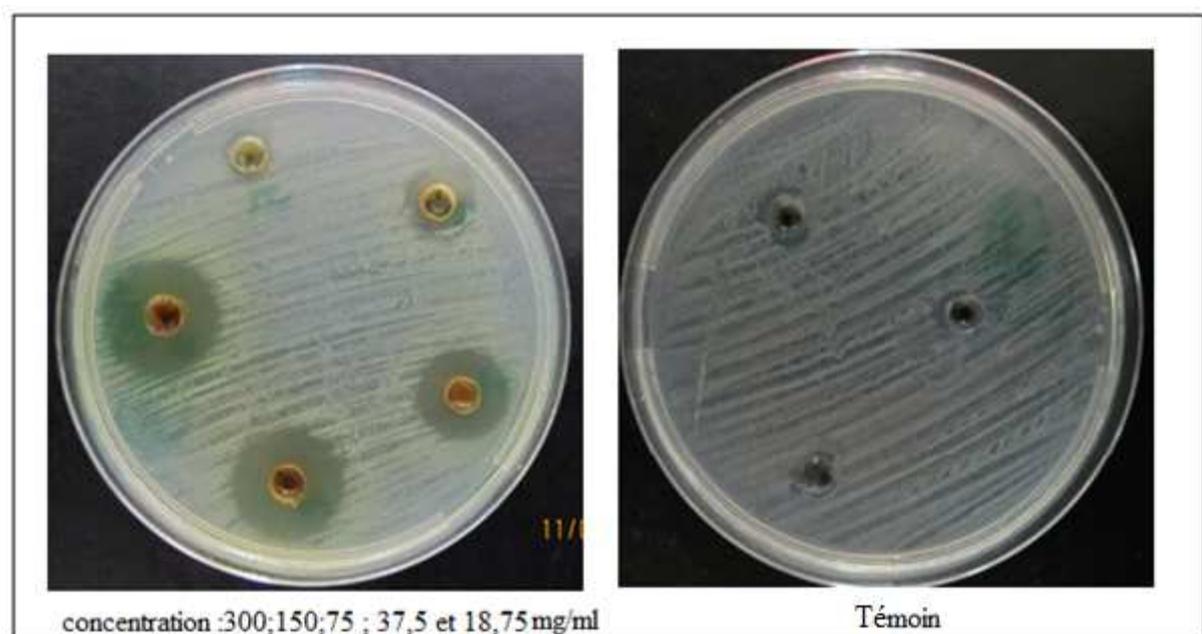
**Figure 08 :** Zones d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* induites par l'extrait méthanolique et l'amoxicilline.

Nous avons effectué des dilutions au demi. Les résultats apparaissent sous forme des zones claires autour les puits

### ➤ Extrait méthanolique :

On a choisies la souche *Staphylococcus aureus*, pour présenter notre résultat; l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*, présente un effet inhibiteur très important sur la croissance de *Staphylococcus aureus*. Cet effet avait diminué graduellement avec la diminution en concentration (300 ; 150 ; 75 ; 37,5 ; 18,75mg/ml) (**Fig 09**).

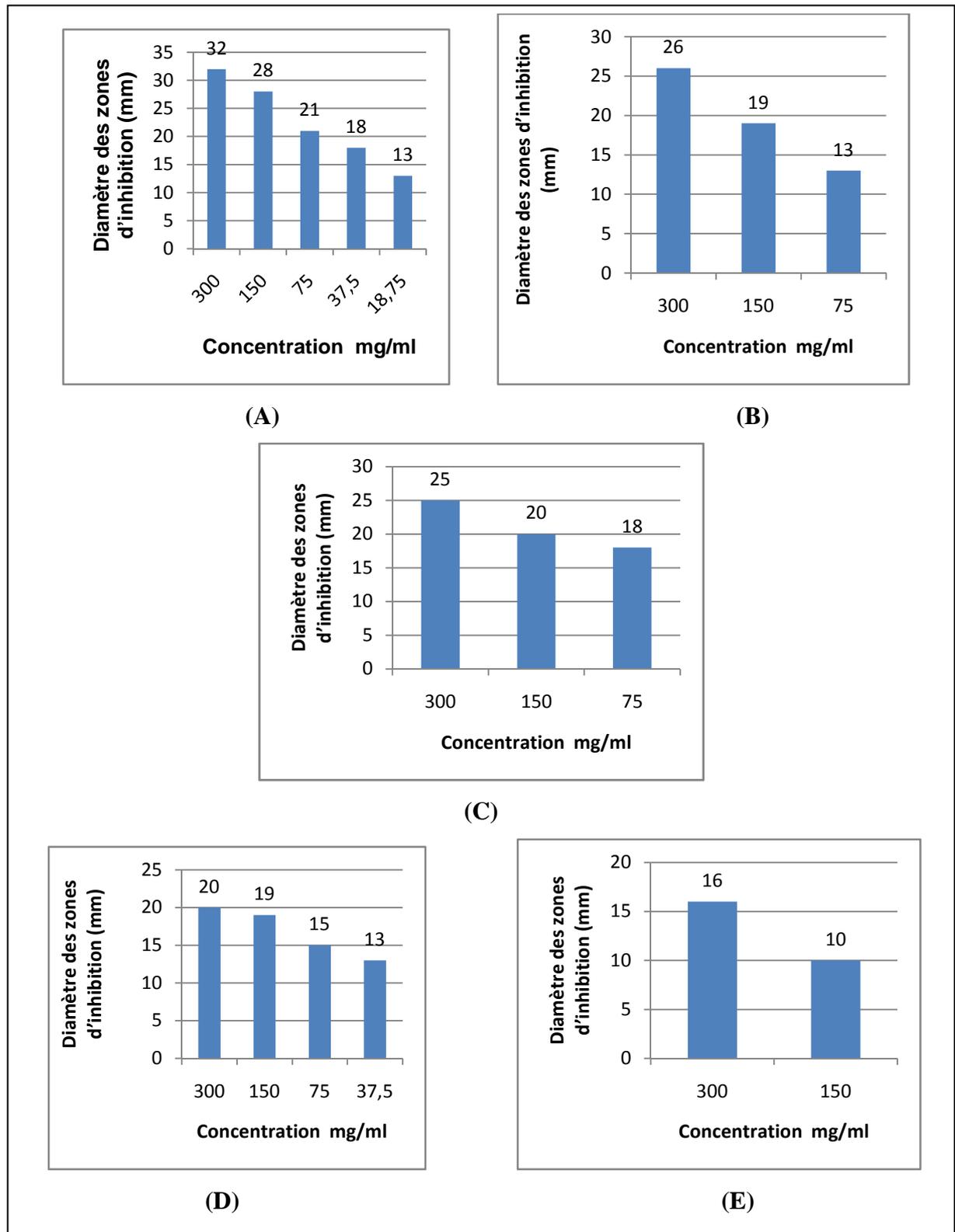
Comparativement avec le témoin, qui présente une croissance normale de la souche. Et qui contient le DMSO a la place de l'extrait (le DMSO ne présente aucun effet sur la croissance de la souche *Staphylococcus aureus*).



**Figure 09:** Inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* vis -à- vis les concentrations de l'extrait méthanolique.

Selon l'histogramme ci dessous (**Fig 10**), on remarque que le diamètre des zones d'inhibition au tour des puits diminue avec la diminution de concentration en extrait méthanolique.

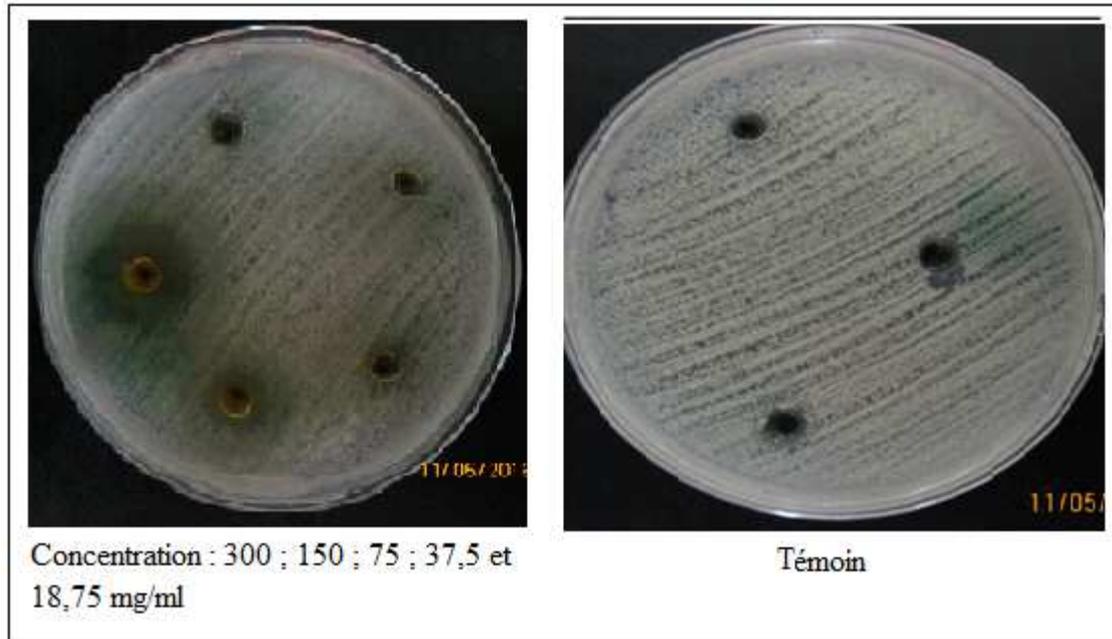
Pour la souche *Bacillus cereus*, à 300 mg/ml le diamètre d'inhibition est de 32 mm, à (150 ; 75 ; 37,5 ; 18,5 mg/ml) le diamètre d'inhibition est de (28 ; 21 ; 18 ; 13 mm) respectivement.



**Figure 10:** Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait méthanolique ((A); *Bacillus cereus*, (B); *Salmonella typhimurium*, (C); *Escherichia coli*, (D); *Staphylococcus aureus* et (E); *Candida albicans*).

### ➤ Extrait aqueux :

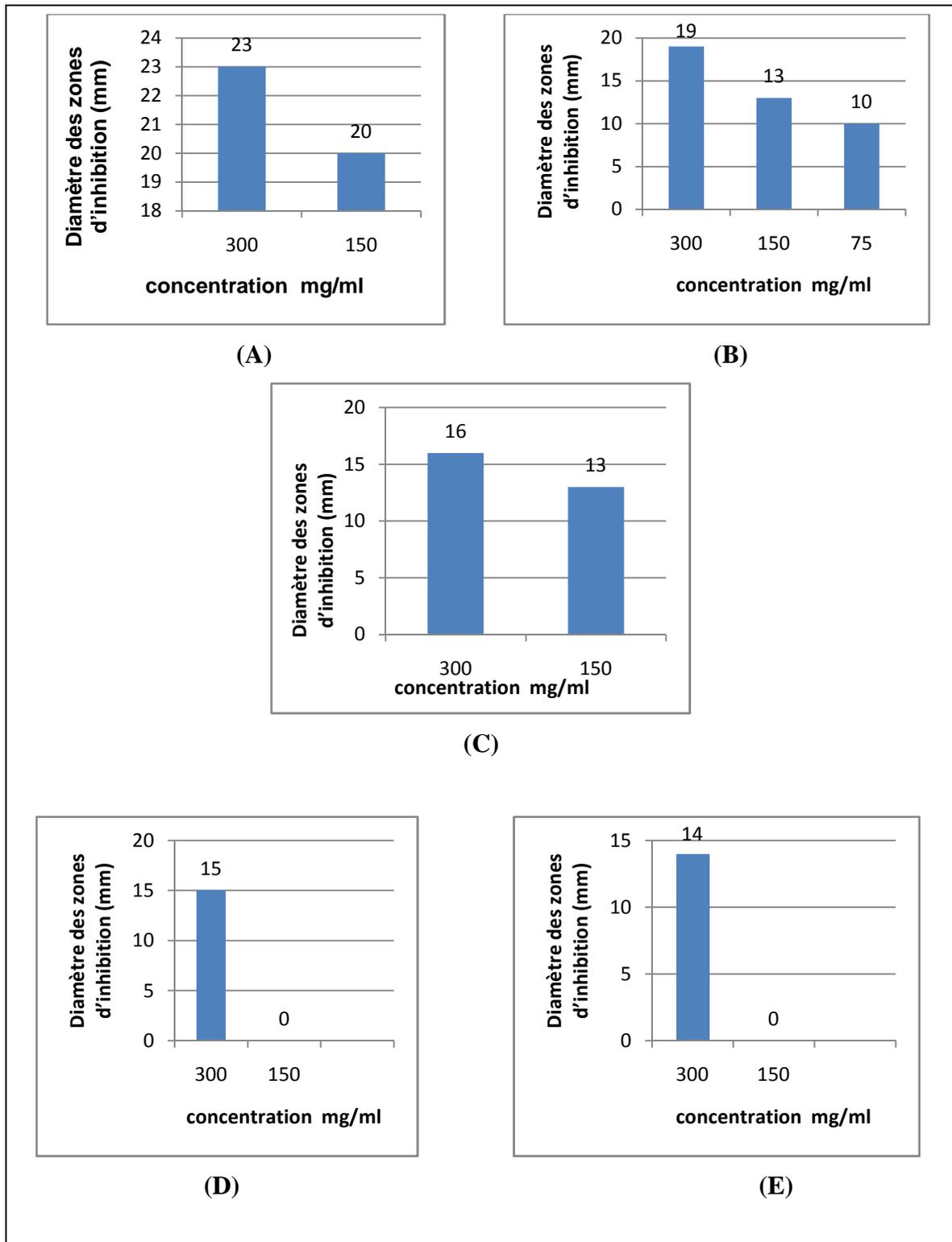
L'extrait aqueux de *Peganum harmala* présente un effet inhibiteur de la souche *Bacillus cereus*, et cela pour les trois premières concentrations (300 ; 150 ; 75mg/ml) testées en extrait (**Fig 11**).



**Figure 11:** Inhibition de la croissance de *Bacillus cereus* par les concentrations de l'extrait aqueux.

L'extrait aqueux de *Peganum harmala* présente un fort effet inhibiteur de la souche (*Candida albicans*, *Bacillus cereus*), avec un diamètre de (23 et 19 mm) respectivement (**Fig 12**).

Par contre; on remarque un effet très faible sur l'inhibition des souches (*Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) avec un diamètre de (16, 15 et 14 mm) respectivement.



**Figure 12:** Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait aqueux ((A); *Candida albicans*, (B); *Bacillus cereus*, (C); *Salmonella typhimurium*, (D); *Staphylococcus aureus* et (E); *Escherichia coli*).

### b- Antifongiques

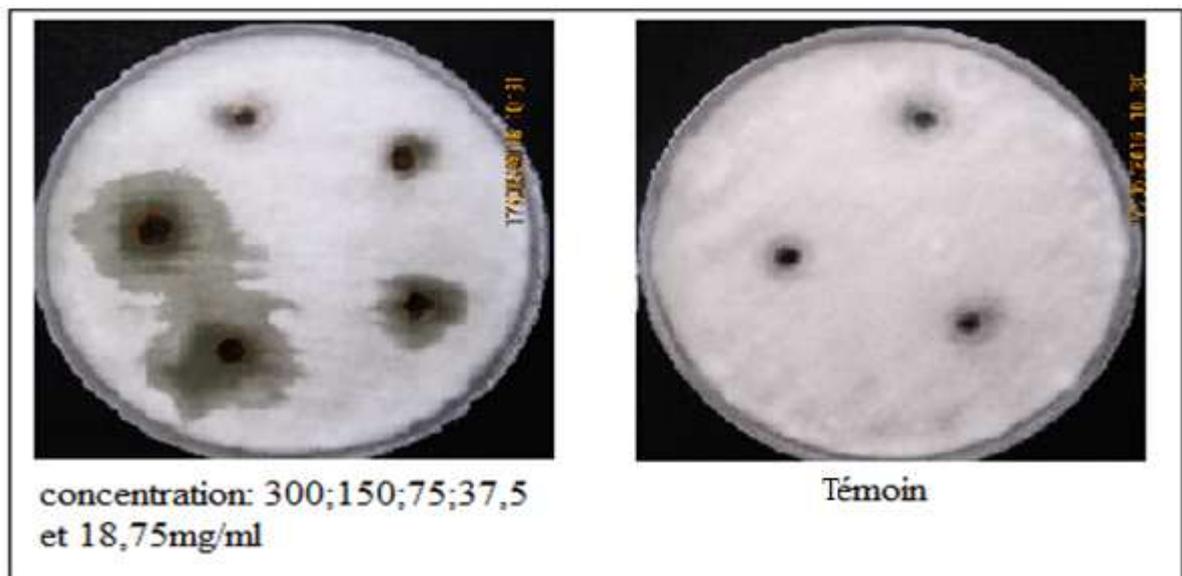
Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antifongique de l'extrait méthanolique de *Péganum harmala* sur la croissance in vitro de 03 souches (*Fusarium oxysporum schlechtendahl f. sp .albedinis*, *Phytophthora infestans*, et *Aspergillus niger*).

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement aux témoins de contrôle de croissance.

- Les souches (*Fusarium oxysporum schlechtendahlf.sp.albedinis*, *Phytophthora infestans*, *Aspergillus niger*) étudiée sont sensibles à notre extrait.
- Cette sensibilité est différente selon les souches.

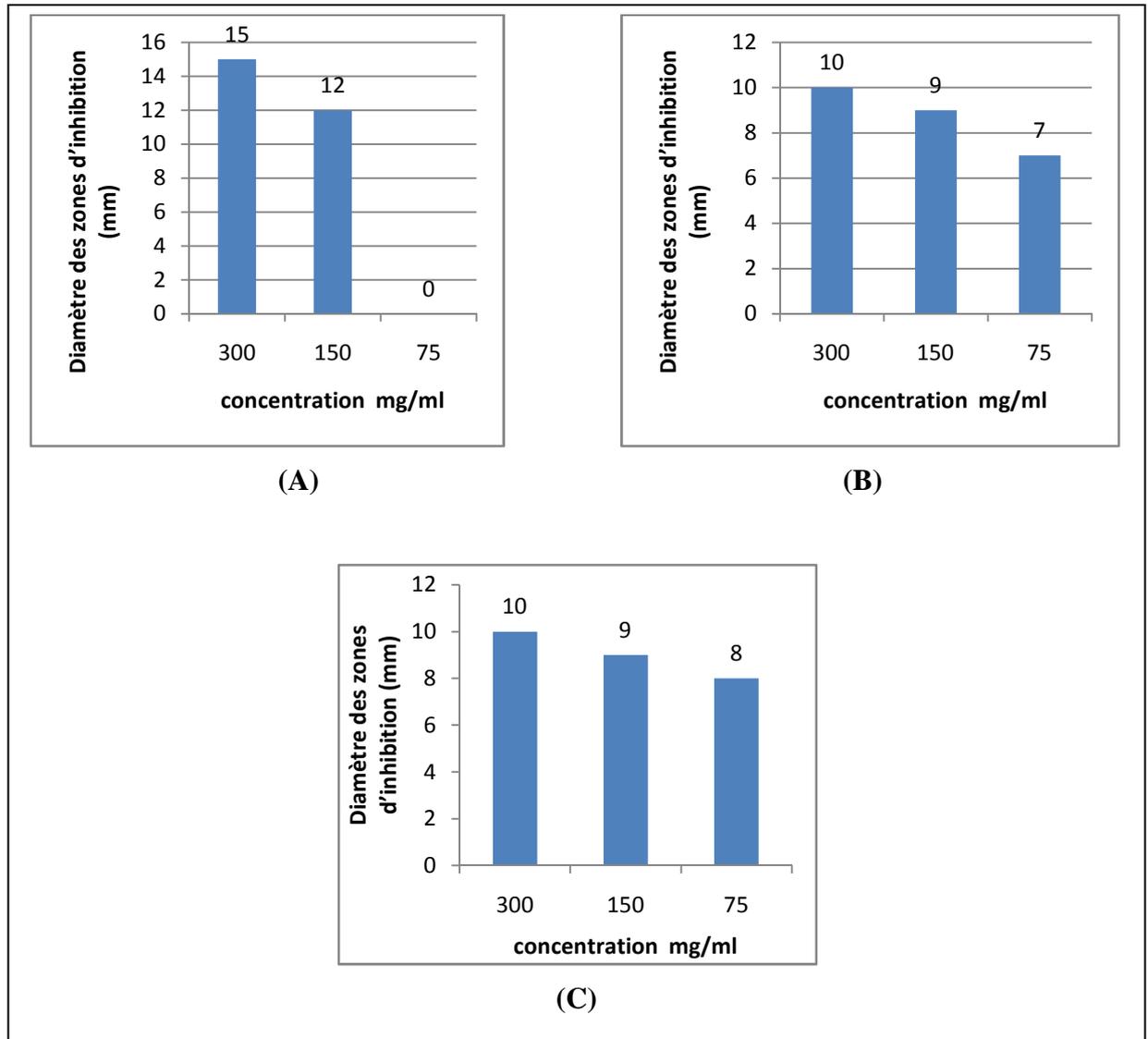
#### ➤ Extrait méthanolique

A partir de la (**Fig 13**) nous avons remarqué que l'extrait méthanolique possède une activité inhibitrice sur la croissance du champignon *Phytophthora infestans*, cette inhibition diminue avec la diminution de concentration en extrait méthanolique.



**Figure 13:** Inhibition de la croissance de *Phytophthora infestans* vis-à-vis les concentrations de l'extrait méthanolique.

Selon la (**Fig 14**), *Phytophthora infestans* est la souche la plus sensible, à 300 mg/ml le diamètre d'inhibition est de 15 mm, suivie de *Fusarium oxysporum schlechtendahlf .sp.albedinis* et *Aspergillus niger* avec une sensibilité similaire dont le diamètre d'inhibition est de 10 mm.



**Figure 14:** Diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait méthanolique ((A); *Phytophthora infestans*, (B); *Aspergillus niger* et (C); *Fusarium oxysporum schlehtendahlf .sp.albedinis*).

### Discussion

Les plantes médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Le *Peganum harmala*, est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle, est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante, La plante et ses extraits ont été employés depuis l'aube de la civilisation (**Ghaouas, 2014**).

Cette plante largement représentée dans les régions arides et semi-arides du globe (**Bruneton, 1994**). Est très utilisé pour traiter différents troubles: Digestifs, Gynécologiques Infectieux, Cutanés...etc (**Hazard, 1950**).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait méthanolique est l'extrait le plus riche avec: 5.94 mg EAG/g de grains secs, suivi de l'extrait aqueux 4.22 mg EAG/g de grains secs, l'extrait d'acétate d'éthyle 0.23 mg EAG/g de grains secs, l'extrait d'hexane 0.15 mg EAG/g de grains secs. L'extrait de chloroforme contient la plus faible teneur en polyphénols avec 0.1 mg EAG/g de grains sec.

Une étude qui a été réalisés par **Rezzagui, (2012)**, à montré que la teneur en polyphénols des différents extraits est de l'ordre décroissant ; Emet 16.09 mg, EAqu 10.87 mg, EChl 0.76 mg, EAct 0.75 mg et EHex 0.030 mg EAG/g de graines secs, donc ces résultats presque similaire que celle trouvée dans notre étude.

Les polyphénols sont des molécules organiques considérés comme quasi universels des végétaux ; ils sont issus du métabolisme secondaire. Ils prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé, Ils constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales, Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité organoleptique des fruits et légumes (**Dehak, 2013**).

Ces métabolites secondaire ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

L'activité antioxydante des polyphénols est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Manallah, 2012**).

Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols, ce sont des molécules aromatiques polysubstituées ayant un rôle de métabolites secondaires chez les plantes. Ces

composés sont réputés pour leur caractère anti-oxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de maladies. Ils sont donc à l'origine d'effets physiologiques bénéfiques pour l'organisme humain (**Ghada ben rhouma, 2013**)

Ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**).

En ce qui concerne les flavonoïdes, les résultats du dosage montrent que l'extrait aqueux de la plante *Peganum harmala* est le plus riche en flavonoïde (0.42 mg de grains secs) que les autres extraits : extrait méthanolique, extrait chloroformique et l'extrait d'acétate d'éthyle qui ont respectivement (0.12, 0.015, 0.013 mg de grains secs).

Les flavonoïdes se trouvent avec des concentrations très élevées dans l'extrait méthanolique (**khelifi et al., (2013)** ; **Zeghada, (2008)** ; **Bouزيد et al., (2011)** ).

La teneur en flavonoïdes des extraits de *Peganum harmala* sont relativement identiques à ceux trouvés par **khelifi et al., (2013)**, elle semble inférieure à celles trouvées par **Zeghada, (2008)**, mais supérieure aux résultats de **Bouزيد et al., (2011)**.

La différence dans la teneur en composés phénoliques peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique et la sécheresse), la période de la récolte et le stade de développement de la plante peuvent également influencer sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (**Locatelli et al., 2010**)

L'activité anti-radicalaire est très importante du au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques (**Gulçin et al., 2010**). La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydante de l'extrait étudié est estimée par le degré de piégeage des radicaux libres (**Gulçin et al., 2010**).

Les résultats obtenus avec ce test montrent que les extraits méthanolique et aqueux de *Peganum harmala* ont des valeurs d'IC50 trop faibles de l'ordre de 0.34 mg de grains secs et 2.62 mg de grains secs de plante respectivement ce qui se traduit par d'excellents effets antiradicalaires, par contre les extraits d'hexane, d'Acétate d'éthyle et de Chloroforme ont un très faible effet antiradicalaires dont l'IC50 est de 95 mg, 6.48 mg et 5.8 mg de grains secs respectivement. La comparaison de ces valeurs avec celles des antioxydants standards, montrent que pour l'extrait méthanolique 0.34 mg de grains secs est équivalent à 0.43 µg/ml d'acide gallique.

Ces résultats suggèrent que les extraits de *Peganum harmala* contiennent des agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants primaires. L'action de ces

antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons (**Le et al., 2007**).

Une étude menée par **Rezzagui, (2012)** sur *Peganum harmala* a montré des IC50 de 181 et 345 µg/ml de l'extrait méthanolique et aqueux respectivement. Ces résultats sont similaires avec nos résultats.

Les deux extraits méthanolique et aqueux de *Peganum harmala* sont plus riches en polyphénols que les autres extraits donc ses capacités de piéger les radicaux DPPH est plus élevée. Cela montre qu'il y a une corrélation entre le contenu en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits, et pourrait indiquer que les polyphénols sont responsables de cette activité. Cette corrélation a été rapportée par plusieurs auteurs ; **Falleh et al., (2008)** ont montré qu'il existe une corrélation significative entre la teneur en polyphénols et l'activité scavenger des radicaux DPPH de l'extrait méthanolique de *Cynara cardunculus*, **Ranilla et al., (2010)** ont rapporté aussi que les polyphénols contribuent significativement à l'activité antioxydante des extraits obtenus de *Tagetes minuta* et *Galinsoga parviflora*, **Kintzios et al., (2010)** ont trouvé que les extraits méthanoliques de quelques plantes médicinales ont des effets piègeurs de radicaux DPPH plus grands que ceux de leurs extraits aqueux.

L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite aussi par sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>+</sup> obtenu à partir de l'ABTS, comparativement à un antioxydant de référence; le Trolox (ou d'antioxydant donneur de H) (**Lien et al., 1999**).

Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits testés par la réduction d'ABTS, montrent que le pourcentage d'inhibition des extraits méthanolique et chloroformique de *Peganum harmala* est supérieur aux autres extraits.

Les résultats trouvés par **Khelifi et al., (2013)** montre que ces résultats sont inférieure à nos résultats avec IC50 de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* de 90µg/ml.

Le radical ABTS<sup>+</sup> est formé par arrachement d'un électron (e<sup>-</sup>) à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de l'extrait méthanolique (donneur de H), l'atome d'azote concerné piège un H, conduisant à l'ABTS<sup>+</sup> (**Lien et al., 1999**).

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antiradicalaire (antioxydant), cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le Fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) (**Bentabet et al., 2014**). En effet, le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton (**Doukani, 2014**).

On remarque que l'extrait méthanolique atteint une absorbance de 0.4 à 1.18 mg de grains secs, pour l'extrait aqueux arrive à 3.91 mg de grains secs, qui reste inférieur de celle

du méthanol, le dernier extrait c'est celui qui a la plus faible activité que les autres c'est l'extrait d'hexane. Mais ces valeurs sont nettement inférieures à ceux des standards : acide gallique et acide ascorbique.

Les travaux de **Bougandoura et Bendimerad, (2013)** sur *Satureja calamintha*, ont trouvé des valeurs de pouvoir réducteur à la concentration de 2,5 mg/ml, l'absorbance de l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha* étant de 0.484, par contre l'absorbance de l'extrait aqueux à la même concentration est de 0,2.

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et méthanolique est peut être dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**). Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Dans notre étude, sur l'activité antibactérienne des extraits de *Peganum harmala* on a trouvé que, uniquement les deux extraits aqueux et méthanolique de graines de *Peganum harmala* se sont révélés actifs envers toutes les souches bactériennes testées, ce qui s'est traduit par la différence des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Sachant que l'extrait méthanolique doté d'une activité antibactérienne très forte que celui de l'extrait aqueux, par contre les autres extraits : acétate d'éthyle, chloroforme et hexane n'ont montré aucune activité antibactérienne.

**Naili et al., (2010)** ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris*. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes étudiées.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) exprimées par l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* sur les souches bactérienne testées ont été de 18.75 mg/ml pour *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, 75 mg/ml pour *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, et 150 pour *Candida albicans*. **Aligiannis et al., (2001)** avaient établi une classification de l'efficacité de l'inhibition des extraits des plantes, selon les valeurs de CMI comme suit : inhibition modérée: varie de 600 µg/ml à 1500 µg/ml, faible inhibition: CMI supérieure à 1600 µg/ml.

D'après cette classification, nos extraits exercent une faible inhibition sur les souches sensibles.

**Darabpour et al., (2011)** ont étudiées l'activité antibactériennes d'extrait méthanolique de *Peganum harmala* contre treize souches bactériennes, parmi lesquelles on trouve: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* :

Les résultats de l'étude ont montré une CMI de 50 mg/ml contre tous les souches testées. Pour les souches a Gram+ ; *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, notre extrait est le plus actif avec une CMI de 18.75 mg/ml, alors que, pour les souches a Gram<sup>-</sup> ; *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* leur extrait est le plus actif.

**Ben ammar et al., (2008)** ont trouvés des valeurs de CMI d'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* tunisienne supérieurs à 6 mg/ml avec les souches d'*Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*.

**Cowan, (1999)** avait rapporté que les différentes classes de polyphénols peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes.

L'hydrophobicité des polyphénols, tels que flavonoïdes est un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires et d'exercer leurs effets antibactériens à l'intérieur de la cellule procaryote (**Daglia, 2011**). La déstabilisation de la membrane cytoplasmique de la cellule, la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc (via la propriété de chélation des métaux) sont des mécanismes qui peuvent inhibés le développement des bactéries (**Daglia, 2011**).

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 (**Essawi et Srour, 2000**) qui, lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement (**Sarker et al., 2005**).

Un antibiotique standard a été testé sur quatre souches bactériennes gram (+) et gram (-), on a observés que les différents types de souches réagissent différemment aux antibiotiques étudiés.

La souche *Staphylococcus aureus* a été la plus sensible à l'antibiotique (Amoxicilline) avec un diamètre d'inhibition de 20 mm, suivit de la souche *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 17 mm. Tandis que les deux autres souches *Bacillus cereus* et *Salmonella typhimurium* semblent plus résistantes.

Les résultats obtenus dans le test antifongique, ont montré que, l'extrait méthanolique, à une forte activité antifongique sur les trois souches *Phytophthora infestans*, *Aspergillus niger*, et *Fusarium oxysporum schlechtendahl f. sp. albedinis*.

Les autres extraits de *Peganum harmala* n'avaient aucun effet inhibiteur, dirigé contre la croissance de toutes les souches fongiques testées. Les diamètres d'inhibition enregistrés varient de 12 mm à 15 mm pour *Phytophthora infestans*, de 07 à 10 mm pour *Aspergillus niger* et de 08 à 10 mm, pour *Fusarium oxysporum schlechtendahl f. sp. albedinis*. Selon la classification de **Goumni et Salhi, (2013)**, les trois souches sont sensibles à l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*.

## II. Matériels

### II. 1. 1. Matériel biologique

#### II. 1. 1. 1. La plante *Peganum harmala*

Les graines de *Peganum harmala* ont été achetées au mois de Novembre 2015, à partir d'un herboriste qui les a ramenés de la région d'Ain Welman, Wilaya de Sétif.

#### II. 1. 1. 2. Les souches de bactéries

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai antibactérien sont des souches pathogènes : les bactéries à Gram<sup>-</sup> (*Salmonella typhimurium*, et *Escherichia coli*) et les bactéries à Gram<sup>+</sup> (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) et une levure (*Candida albicans*).

#### II. 1. 1. 3. Les souches des champignons

Les champignons (pathogènes) utilisés sont : *Fusarium oxysporum schlechtendahl f.sp.albedinis*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium solani.var.coeruleum*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Les souches bactériennes et fongiques étudiés proviennent du laboratoire de microbiologie appliqué- université de Sétif.

## II. 2. Méthodes

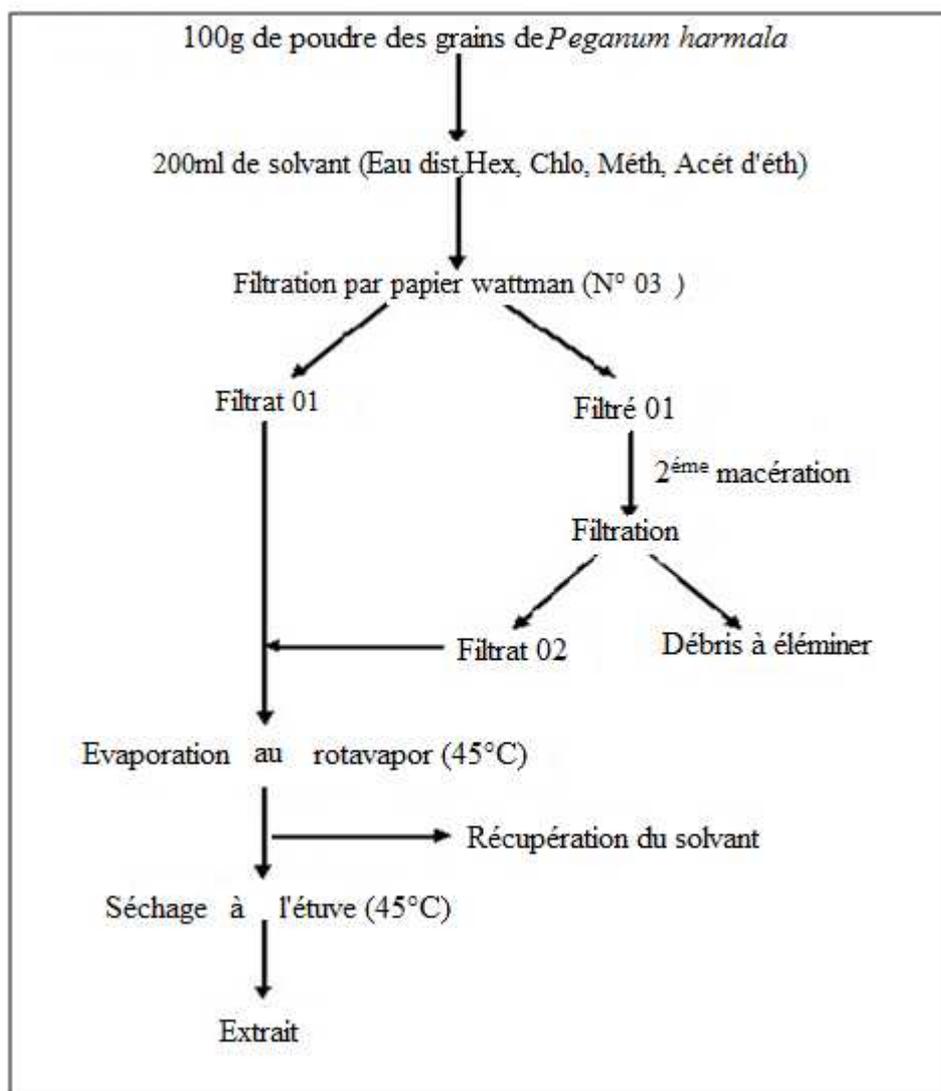
### II. 2. 1. Préparation des extraits de *Peganum harmala*

Les graines de *Peganum harmala* ont été nettoyées des impuretés, séchées à température ambiante et à l'ombre pendant une semaine, puis broyées à l'aide d'un mixeur pour avoir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés.

#### ➤ Protocole d'extraction de la plante

L'extrait a été obtenu par la macération de 100 g de poudre des graines dans 200 ml de solvants (hexane, acétate d'éthyle, chloroforme, méthanol et l'eau distillé) selon la technique du **Markham (1982)** avec quelques modifications. Le mélange a été agité pendant 72 heures sur un agitateur magnétique. Après une période de décantation durant quelques heures, le surnageant a été filtré sur papier Wattman (N° 03).

Le filtrat est récupéré et le même volume de solvant est ajouté pour faire une 2<sup>ème</sup> macération. Après la deuxième filtration les deux filtrats sont mélangés et évaporés à 45°C à l'aide d'un rotavapor de type BÜCHI. L'extrait obtenu a été conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation (**Fig 06**).



**Figure 06 :** Protocole de préparation des extraits de *Peganum harmala*.

## II. 2. 2. Dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes

### II. 2. 2. 1. Dosage des poly phénols totaux

La quantification de ces métabolites secondaires est effectuée selon plusieurs méthodes analytiques, La méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu.

#### a- Principe

La teneur en composés phénoliques des différents extraits des graines de *Peganum harmala* a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li et al., 2007) qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $\text{WO}_4^{2-}$ ) phosphomolybdique ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue.

Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Brièvement, 1 ml de

réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-175 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par gramme de grains secs (µg E AG/g de grains secs).

### II. 2. 2. 2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de *Peganum harmala*. À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 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 déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-50 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par gramme de grains secs (µg EQ/mg de grains secs).

### II. 2. 3. Activités biologiques de la plante

#### II. 2. 3. 1. Évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

##### II. 2. 3. 1. 1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

###### a- Principe

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir des graines de *Peganum harmala* est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical DPPH. La réduction du radical DPPH, ayant une couleur violette foncée, par les groupements hydroxyles des antioxydants présents dans les extraits, conduisant à la formation d'un composé stable d'une couleur jaune. La couleur violette foncée, mesurable à 517nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire de l'extrait (**Amrani et al., 2014**).

###### b- Protocole

Dans ce test, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 3.94 mg de DPPH dans 100ml du méthanol au jour de la manipulation. 1.5 ml des extraits ou des standards (acide gallique) sont ajoutés à 0.5 ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel est laissé à l'obscurité pendant 30min et l'absorbance est mesurée à 517nm (**Amrani et al., 2014**). L'effet piègeur est estimé selon l'équation ci-dessous :

Activité anti-radicalaire (%) = [(A contrôle – A échantillon) / A contrôle] x 100.

### II. 2. 3. 1. 2. Réduction des ions métalliques (Pouvoir réducteur)

Le pouvoir réducteur des extraits ont été déterminés par la méthode d'Oyaizu., (1986). 1.25 ml de différentes concentrations d'extraits ont été mélangés avec 1.25ml de tampon phosphate (200mM, pH 6,6) et 1.25 ml de 1% de ferricyanure de potassium. Les mélanges ont été incubés pendant 20 min à 50 ° C dans un bain marie. Après incubation, 1.25 ml d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés aux mélanges, suivis d'une centrifugation à 3000 × g pendant 10 min. 1.25 ml de surnagée a été mélangée avec 1.25 ml d'eau distillée et 0.5 ml de 0,1% de chlorure ferrique et l'absorbance de la résultante solution a été mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. En utilisant un blanc sachant que l'extrait est remplacé par du méthanol.

### II. 2. 3. 1. 3. Test de réduction du radical-cation ABTS+

#### a- Principe

Dans la méthode TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS•+, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine ou *horseradish peroxidase*) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS+, en contact avec un donneur de H• conduit à l'ABTS+ et à la décoloration à 734 nm de la solution (Sarr et al., 2015).

#### b- Dosage

Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à volume égal une solution de 3 mM de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> et une solution stock d'ABTS à 8 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 16 heures avant utilisation. La solution obtenue est diluée avec du tampon phosphate (0,2 M, pH 7,4) contenant 150 mM de NaCl pour obtenir une absorbance de 1,5 à 734 nm. 1,9 ml de cette solution fraîchement préparée sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait et la lecture est faite à 734 nm après 07 min pour chaque série d'analyses. Le Trolox est utilisé comme standard et le résultat final est exprimé en microgramme d'équivalent Trolox par gramme de matière sèche (Sarr et al., 2015).

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs teste}) / (\text{Abs contrôle})] \times 100$$

Abs contrôle : l'absorbance du radical ABTS<sup>+</sup> méthanol.

Abs test : l'absorbance de l'échantillon ABTS radical + Extrait / standard (Sarr et al., 2015).

### **II. 2. 3. 2. Activités antimicrobiennes de *Peganum harmala***

#### **II. 2. 3. 2. 1. Préparation d'extraits de *Peganum harmala***

On a effectué un test préliminaire pour identifier les extraits qui possède une activité inhibitrice sur dix (10) germes pathogènes, dont (4) bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> et (5) champignons et une levure. (Tagg et Mc Given, 1971).

Les concentrations utilisées pour les extraits aqueux et méthanolique est de 300 mg/ml, ainsi que pour les extraits ; Chlo, Hex et Acet. Les extraits de *Peganum harmala* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO). (Tagg et Mc Given, 1971).

Pour les extraits qui ont une activité inhibitrice, des dilutions successives au demi ont été effectuées, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 300 mg/ml (Tagg et Mc Given, 1971).

#### **II. 2. 3. 2. 2. Réactivation des souches microbiennes**

##### **a- Pour les eucaryotes**

La revivification des espèces mycologiques s'est fait par l'ensemencement de 24 heures sur bouillant eau peptonée tamponnée (EPT) et incubation à 20°C (Tagg et Mc Given, 1971).

##### **b- Pour les procaryotes**

La revivification des souches procaryotes gram<sup>+</sup> et gram<sup>-</sup> s'est fait sur le bouillant cœur cervelle par incubation de 24 heures à 37° (Tagg et Mc Given, 1971).

#### **II. 2. 3. 2. 3. Réalisation des interactions proprement dites sur la GN (gélose nutritive)**

➤ Des puits ont été creusée stérilement, après ensemencement de la souche cible (écouvillonnage superposée).

➤ Pour chaque puits, un volume de 25 µl de chaque extrait à été stérilement déposé.

Après repos d'environ 30 minutes sous la hotte, les boites ont été incubées à 37°C pour les procaryotes et les champignons (Tagg et Mc Given, 1971).

➤ De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant l'antibiotique (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les puits imprégnés de DMSO (témoin négatif) (Harrar, 2012).

La lecture, après 24 heures consiste à l'estimation des diamètres des zones d'inhibition (Tagg et Mc Given, 1971).

### I.1. Compléments alimentaires

#### I. 1. 1. Définition

La définition du complément alimentaire est reprise dans la Directive 2002/46/CE du Parlement Européen et du Conseil du 10 juin 2002 : On entend par « compléments alimentaires », les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité ».

Cette définition a permis de statuer sur la position du complément alimentaire en tant que « denrée alimentaire » et non en tant que médicament. Il convient dès lors de considérer les compléments alimentaires comme des aliments et non comme des substances aux propriétés thérapeutiques (**Baillet, 2012**).

#### I. 1. 2. Les types des compléments alimentaires

Les compléments alimentaires peuvent être classés en vitamine, minéraux, acides aminés, plantes et extrait de plantes.

##### I. 1. 2. 1. Les vitamines et les minéraux

Les vitamines et minéraux constituent une famille essentielle dans les compléments alimentaires, et sont les plus consommées. Les vitamines ne sont pas synthétisées par notre organisme (à l'exception de la vitamine D), on les retrouve dans notre alimentation. Ils sont extraits à partir d'aliments et les concentrent sous différentes formes pharmaceutiques (comprimés, gélules, solutions buvables...). Les vitamines utilisées dans la fabrication des compléments alimentaires sont : Vitamines A, D, E, K, B1, B2, B6, B12 et C, la Niacine, l'Acide pantothénique, l'Acide folique et la Biotine (**Caro et al., 2010**).

Les minéraux utilisés dans la fabrication des compléments alimentaires sont le Calcium, le Magnésium, le Fer, le Cuivre, l'Iode, le Zinc, le Manganèse, le Sodium, le Potassium, le Sélénium, le Chrome, le Molybdène, le Fluorure, le Chlorure, le Phosphore (**Caro et al., 2010**).

##### I. 1. 2. 2. Les plantes

L'utilisation des plantes pour leurs propriétés sur la santé remonte à l'antiquité et est ancrée dans toutes les cultures. Les plantes à usage traditionnel détiennent une place importante dans les ingrédients utilisés dans les compléments alimentaires.

Les réglementations liées à l'usage des plantes visent à sécuriser la consommation. Les risques liés à l'utilisation des plantes ne sont pas anodins et une augmentation de leur consommation est observée dans une époque qui effectue un retour à la nature (**Caro et al., 2010**).

Les utilisations de plantes dans les compléments alimentaires s'appuient sur des usages traditionnels (poudres, extraits secs ou aqueux) ou sur des techniques d'extraction plus modernes permettant l'obtention de substances isolées de plantes (**Caro et al., 2010**).

### **I. 1. 2. 3. Les extraits des plantes**

On peut extraire des végétaux de très nombreuses familles d'éléments : des carotènes, des flavonoïdes, phyto-œstrogènes, des quinones, des mucilages, des glucosides, des phytostérols, des saponines... tous sont des phytonutriments. Citons par exemple les extraits de ginseng, de chrysanthellum, de millepertuis... ils sont purifiés et standardisés dans le meilleur des cas, c.à.d qu'on retrouve toujours le même taux de principe actif dans le produit fini, un point primordial pour garantir l'efficacité (**Festy, 2014**).

### **I. 2. Les plantes et la médecine traditionnelle**

#### **I. 2. 1. Médecine Traditionnelle**

Selon l'OMS la médecine traditionnelle est « l'ensemble de toutes les connaissances et de toutes les pratiques, explicables ou non, transmises de génération en génération, oralement ou par écrit, utilisées dans une société humaine pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien-être physique, mental, social, moral et spirituel » (**Sanogo, 2006**).

#### **I. 2. 2. Les Plantes Médicinales**

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales, l'être humain utilise les plantes depuis des milliers d'années pour traiter plusieurs maladies, tel que le diabète, l'arthrite, l'hypertension...etc (**Benayad, 2008**).

##### **I. 2. 2. 1. Quelques exemples de plantes médicinales**

###### ***a- Artemisia herba alba***

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées (Composités), avec plus de 350 espèces différentes qui se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord et d'Asie. Les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées comme plantes médicinales en médecine traditionnelle (**Nikolova et al., 2010**).

L'*Artemisia herba alba* est très utilisée en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Gharabi et Sand, 2008**). Plusieurs

études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Fig 01**) (**Boudjelal, 2013**).



**Figure 01** : *Artemisia herba alba* (**Boudjelal, 2013**).

### ***b- Cotula cinerea***

L'espèce *Cotula cinerea* est très rencontrée dans la région saharienne de l'Algérie, elle pousse dans les sols peu ensablés. Où elle est connue sous le nom de shihia (**Bouziane, 2002**).

Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques comme : l'activités anti-inflammatoire, analgésique, antiseptique, antibactérienne, antipyrétique et contre les larves. Dans le Sahara algérien plus précisément à Ouargla, cette plante est destinée contre la colique, la diarrhée, la toux, le rhumatisme et la stérilité (**Fig 02**) (**Maiza et Hammiche, 1993**).



**Figure02** : *Cotula cinerea* (**Maiza et Hammiche, 1993**).

### ***c- Nigella sativa***

*Nigella sativa* est une plante herbacée appartenant à la famille des Renonculacées. Elle se développe sur les terres semis arides au sein de communautés naturelles où prédominent les thérophytes (**Ghedira, 2006**).

Traditionnellement utilisée dans les pays arabes, dans le sous-continent indien et en Europe depuis des millénaires à des fins culinaires et médicinales. C'est un remède naturel pour de nombreuses pathologies, notamment pour le traitement de l'asthme, de l'inflammation, de la toux, de l'eczéma et des états grippaux. La graine ou l'huile qui en est

issue est employée comme diurétique, carminatif, cholagogue et vermifuge (**Fig03**) (**Ghedira, 2006**).



**Figure 03:** *Nigella sativa* (**Ghedira, 2006**).

### **I. 3. Le stress oxydatif**

#### **I. 3. 1. Définition**

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

#### **I. 3. 2. Les radicaux libres**

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André, 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

#### **I. 3. 3. Les espèces réactives de l'oxygène**

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ) (**Gutteridge, 1993**).

#### **I. 3. 4. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif**

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003**).

Les principales cibles radicalaires sont:

### **I. 3. 4. 1. L'oxydation de l'ADN**

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN protéines (**Krippeit- Drews et al., 1994**). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, ce qui donne naissance à un grand nombre de bases modifiées.

Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

Les radicaux libres peuvent aussi attaquer les protéines qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger (histones) ou pour le lire (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraîne des pontages des protéines. Comme ils peuvent attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (**Rehman et al., 1999**).

### **I. 3. 4. 2. L'oxydation des protéines**

L'action des radicaux libres a lieu sur les chaînes latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques peuvent se dérouler des réactions d'oxydation qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport) (**Jacques et André, 2004**).

### **I. 3. 4. 3. L'oxydation des lipides**

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique (**Hennebelle et al., 2004**).

### **I. 3. 4. 4. Oxydation des glucides**

Le glucose peut s'oxyder en présence des ions métalliques conduisant à la libération des cétoaldéhydes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et OH. Qui peuvent entraîner la coupure des protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

### **I. 3. 5. Systèmes de défenses antioxydants**

Pour contourner les dommages causés par les ERO, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (**Tang et Halliwell, 2010**).

#### **I. 3. 5. 1. Antioxydants enzymatiques**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (**Avissar et al., 1989**).

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Marfak, 2003**).

#### **I. 3. 5. 2. Antioxydants non enzymatiques**

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants. Notons à titre d'exemples, les plus courants: La vitamine E, C, A, Le glutathion, Les oligoéléments, et les polyphénols (**Gardès-Albert et al., 2003**).

### I. 4. Généralités sur la plante *Peganum harmala*

#### I. 4. 1. Présentation de la plante

*Peganum harmala* est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle à des fins rituelles, magiques et surtout thérapeutiques (Achour et al., 2012).

Elle se retrouve de façon abondante dans les zones subdésertiques de l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Libye, Egypte et au Maroc), dans certaines régions de l'Europe méditerranéenne et en Russie méridionale, elle a été introduite en Amérique et en Australie (Fig 04) (Achouret al., 2012).



Figure 04 : Arbuste de *Peganum harmala* (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

#### I. 4. 2. Classification

**Règne** : Plante

**Embranchement** : Spermaphyta.

**Sous- Embranchement** : Angiospermae.

**Classe** : Eudicots.

**Sous- Classe** : Rosidae.

**Ordre** : Sapindales.

**Famille** : Zygophyllaceae.

**Genre** : *Peganum*.

**Espèce** : *Peganum harmala* (Zeghada, 2009).

### I. 4. 3. Description botanique

La famille des Zygophyllaceae compte environ 24 genres avec 240 espèces xérophytes et halophytes (Ronse et al., 1996).

Cette famille largement représentée dans les régions arides et semi-arides du globe, est connue pour la toxicité de certaines espèces pour l'homme telles que *Peganum harmala* et *Clarrea divaricata* (Bruneton, 1994).

*Peganum harmala* est une plante vivace glabre à tiges dressées, buissonnante, d'une hauteur de 30 à 100 cm, à rhizome épais, son odeur forte, désagréable rappelant celle de la Rue (Ghaouas, 2014).

Les feuilles sont multifides à lanières linéaires. Les fleurs blanches sont assez grandes (25-30 mm), avec 5 sépales et 5 pétales (Quezel et Santa, 1963).

Les étamines 10 à 15 à filets très élargi se trouvent dans la partie inférieure des fleurs. L'ovaire globuleux repose sur un disque charnu et aboutit à un fruit qui est une capsule sphérique à trois loges, de 6 à 8 mm déprimée au sommet, entourée des sépales persistants et s'ouvrant par 3 ou 4 valves pour libérer les graines (Quezel et Santa, 1963).

Les graines nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère, On les récolte en été (Fig05) (Chopra et al., 1960).



A. Fleurs et tiges de *P. harmala*. B. fruits de *P.harmala*. C. grains de *P. harmala*.

Figure 05 : Différentes parties de *Peganum harmala* (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

### I. 4. 4. Nom vernaculaire

**Arabe** : Harmel sahari (حرمال السحاري).

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

**Touareg** : Bender tiffin.

**Français** : rue sauvage; rue verte; pégane.

**Anglais :** harmal; wild rue; syrian rue (**Fasla, 2009**).

### **I. 4. 5. Répartition géographique**

Espèce cosmopolite très commune sur les sols sableux et un peu nitrés, Elle pousse en Europe australe et austro-orientale, Asie mineure, Tibet, Iran, Turkestan, Syrie, Arabie, Egypte et en Afrique du Nord. 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 (**Bouziane, 2012**).

### **I. 4. 6. Données phytochimiques**

*Peganum harmala* est très réputée pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes (de type  $\beta$ -carbolinique), ce qui la classe parmi les plantes hallucinogènes à effet psychotrope.

Ces alcaloïdes ont donné lieu à nombreux travaux d'isolement, d'études de structure et de synthèse chimique. Outre l'harmine et l'harmaline, les graines de *Peganum harmala* contiennent en effet d'autre alcaloïdes de types  $\beta$ -carbolinique, ainsi que des alcaloïdes de type quinazolinique telle que la péganine, le péganol, la vasicine, l'oxyvasicine et désoxyvasicine (**Duke, 1929**).

Une recherche sur les qualités organoleptique de l'huile des graines de *Peganum Harmala* a montré qu'elle était comestible. L'huile des graines est composée majoritairement d'acide oléique, linoléique et palmitique et constitue 10 à 12% des graines (**Kusmenoglu et al., 1995**).

### **I. 4. 7. Usage traditionnel**

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

- Gynécologiques: emménagogue, abortif, stérilité féminine.
- Généraux: hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif.
- Digestifs: coliques, troubles digestifs.
- Cutanés: antiseptique et cicatrisant.
- Infectieux: antipaludique, oreillons.
- Autres: sudorifique et purgatif, diabète, hypertension artérielle, venins de serpent (**Hazard, 1950**).

*Peganum harmala* est utilisé soit en usage externe, soit interne :

-**Usage externe** : la plante fraîche est soit hachée et employée en cataplasme, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisses de mouton.

La plante sèche ou les graines peuvent aussi être utilisées sous forme de fumigations.

-**Usage interne** : graines ; posologie en médecine traditionnelle nord africaine ; une cuillère à café, soit environ 2.5g avalés tels quels avec un verre d'eau ou mélangés au miel ou pilés avec de l'huile d'olive (**Zeghada, 2009**).

### **I. 4. 8. Les propriétés pharmacologique et biologique de *Peganum harmala***

#### **I. 4. 8. 1. L'activité antibactérienne et antifongique**

L'activité antibactérienne de différentes parties de *Peganum harmala*, y compris la graine, racine, fleur, feuille et tige a été étudiée et comparée. Parmi les différentes parties évaluées de *Peganum harmala*, les extraits de les graines et les racines ont montrées la meilleure activité antibactérienne contre des espèces bactériennes gram positives, y compris *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* et *Streptococcus pyogenes*. Et les espèces bactériennes gram négatives, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, *Brucella melitensis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia*.

L'activité antifongique du *Peganum harmala* sur 06 espèces de *Candida* et 03 espèces *Aspergillus*, respectivement .L'analyse sur des *Aspergilli* a donné différents résultats au niveau des espèces (**Darabpour et al., 2011**)

L'extrait était efficace sur *Aspergillus fumigatus* comme inhibition de croissance. L'activité antibactérienne et antifongique d'extrait de graines de *Peganum harmala* est principalement liée au harmaline (**Darabpour et al., 2011**)

#### **I. 4. 8. 2. Propriétés antidiabétiques**

Les résultats des études récente sont clairement indiqué que extrait éthanolique de graine de *Peganum harmala* sensiblement abaissé le niveau du glucose sanguin chez les rats normaux et diabétiques (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2012**).

Cependant, l'extrait de *Peganum harmala* n'a aucune activité sur la sécrétion d'insuline (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2012**).

### **I. 4. 8. 3. Les Propriétés insecticide**

L'étude de l'activité larvicide des différents extraits de *Peganum harmala* se fait sur des larves de *Drosophila melanogaster* (Habbachi et al., 2008).

Les résultats montrent que l'extrait aqueux des graines agit sur la durée de développement larvaire et sur la mortalité des larves en fonction de la concentration appliquée (Habbachi et al., 2008).

### **I. 4. 8. 4. Activité antioxydante**

Un antioxydant est défini comme une substance qui présente à de basses concentrations par rapport à ceux du substrat oxydable, la capacité d'empêcher l'oxydation de ce substrat. Les antioxydants sont d'intérêt aux biologistes, parce qu'ils aident à protéger le corps humain contre des dommages induits par les radicaux libres produits : l'athérosclérose, maladie cardiaque ischémique, cancer, maladie d'Alzheimer, Maladie de Parkinson et même dans le processus vieillissant (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

### **I. 4. 8. 5. Activité allélopathique**

L'extrait aqueux de *Peganum harmala* présente un effet inhibiteur très important sur la croissance des plantules de *Lactuca sativa*. Et de *Rhaphanus sativus*. Cet effet augmente graduellement avec l'augmentation en concentration (Zeghada, 2009).

### **I. 4. 8. 6. Les propriétés toxicologiques**

Toute la plante est toxique mais le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine (3 à 4 %) que dans la racine, la tige (0,36 %) et la feuille (0,52 %). La teneur en alcaloïdes s'élève brusquement en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine (Aarons et al., 1977).

Les principales toxines sont Les alcaloïdes en nombre de quatre qui ont un noyau indole: harmane, harmine, harmaline et harmalol (harmol) (Aarons et al., 1977).

Les doses élevées peuvent provoquer la paralysie. La structure chimique, parfaitement connue, associe un noyau indole à un noyau pyridine. Elle conditionnerait l'effet stimulant du système nerveux central des quatre alcaloïdes. La spécificité de l'action d'un alcaloïde par rapport à l'autre serait, par contre, en rapport avec la variation des radicaux et du nombre de doubles liaisons portées par le cycle commun. C'est cette variation qui expliquerait les nuances constatées au niveau des mécanismes d'action (Aarons et al., 1977).

Les Harmane, Harmine et Harmaline exercent :

- soit un blocage direct des récepteurs cérébraux GABA énergiques et donc de leur médiation inhibitrice, produisant un effet stimulant qui serait responsable de l'élévation du tonus musculaire et au maximum de convulsions (**Aarons et al., 1977**).
- soit une facilitation de l'accès aux récepteurs GABA énergiques d'une substance endogène qui serait du thromboxane A2, dérivée des prostaglandines, et qui pourrait jouer un rôle important dans la régulation des mouvements calciques neuronaux et donc de l'excitabilité neuronale, quoi qu'il en soit ces alcaloïdes prédisposeraient aux modifications des conductances membranaires sodiques et/ou calciques (**Aarons et al., 1977**).

La Harmine et la Harmaline exercent une action anti-cholinergique centrale pouvant expliquer la crise d'agitation et les manifestations digestives observées, et elles sont aussi des antagonistes de la sérotonine, un neurotransmetteur impliqué dans le mode d'action des hallucinogènes indoliques. La harmaline et la harmine prennent la place de la sérotonine dans les mécanismes enzymatiques en raison de la ressemblance des structures (**Aarons et al., 1977**).

### I. 5. Activités antimicrobiennes

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. 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 (**Kaufmann, 1997**).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**Billing et Sherman, 1998**).

#### I. 5. 1. Les substances antimicrobiennes

##### ➤ Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : Antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Boudjouref, 2011**).

### I. 5. 2. Les microorganismes

#### ➤ Les bactéries

##### *a-Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Harrare, 2012).

##### *b-Salmonella typhimurium*

Appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. En microscopie optique, elles apparaissent comme des bâtonnets à Gram négatif de 0,3  $\mu\text{m}$  à 1 $\mu\text{m}$  de large et longs de 1 à 6  $\mu\text{m}$ , mobiles grâce à une ciliature péritriche. Les *Salmonella typhimurium* sont des bactéries mésophiles se développant à des températures de manière optimale entre 35 et 37°C, à des pH compris entre 4,5 et 9, avec une activité en eau ( $A_w$ ) supérieur à 0,93. Sont naturellement présentes dans l'intestin des animaux, en particulier chez les volailles et les porcs. Elle vit également dans l'environnement (Navoun, 2005).

##### *c-Staphylococcus aureus* :

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1  $\mu\text{m}$ . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré, *Staphylococcus aureus* représente la cause de la méningite, l'ostéomyélite et la diarrhée (Boudjouref, 2011).

##### *d-Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* est une bactérie Gram positif sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermorésistante; les températures de croissance de cette bactérie peuvent varier de 5 à 50 °C. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action de bactéricides, aux désinfectants, aux radiations, à la dessiccation et au cycle du froid. Sept groupes reflètent les différentes aptitudes des souches à se développer à différentes températures, à la thermorésistance de leurs spores et à la fréquence de leur implication dans les toxi-infections alimentaires collectives (Six, 2012).

### e- La levure *Candida albicans*

*Candida albicans* est la seule souche eucaryote (levure) prise dans notre étude. Elle est principalement à l'origine de la candidose disséminée. C'est un champignon fréquemment retrouvé au niveau de la bouche et du tractus gastro-intestinal de plusieurs personnes normales. Parmi les conditions favorisant une infection à candida, notons le diabète, la grossesse, les antibiotiques, les cortico- stéroïdes et toute maladie pouvant affecter l'état général d'un individu. La nystatine (Mycostatin) est très efficace dans le contrôle des infections muco-cutanées (**Pieri et Kir-kiacharian, 1992**).

### ➤ Les champignons

#### a-*Fusarium oxysporum schlechtendahl f. sp. Albedinis*

Est un groupe de champignons filamenteux imparfaits, considéré comme l'un des genres les plus variés et adaptables dans le règne des Eumycota. Les espèces de *Fusarium* joué un rôle important comme agents pathogènes de plantes causant des dégâts d'ordre économique important ; telles que la pourriture de la couronne, brulure de l'épi. Elles sont très répandues dans le sol et sur les parties des plantes. Le *Fusarium oxysporum schlechtendahl f. sp. Albedinis* est l'un de agents pathogène les plus redoutables pour l'agression du palmier dattier (**Fravel et al., 2003**).

#### b-*Fusarium solani var. coeruleum*

Ce champignon est fréquemment détecté dans le sol situé à proximité des parties souterraines des plantes ainsi que sur les tubercules en voie de pourriture. Il est caractérisé sur milieu d'isolement par un mycélium ras, un aspect des colonies souvent poudreux et une pigmentation homogène, même sur de jeunes colonies, de couleur brique, parfois violet foncé (**Bernard, 1988**).

#### c-*Aspergillus niger*

Est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition. *Aspergillus niger* est capable de croître dans la plage

température large de 6 - 47 ° C avec une température relativement élevée avec un optimum de 35 à 37 ° C. La limite d'activité de l'eau pour la croissance est 0,88 (Aw) qui est relativement élevée comparativement aux autres espèces d'*Aspergillus*. *Aspergillus Niger* peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4-9,8 (**Schuster et al., 2002**).

### **d-*Aspergillus flavus***

C'est une espèce appartenant à la classe des Ascomycètes, il a une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud ; ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, l'air, l'environnement, les denrées alimentaires (**Morin, 1994**).

Il se développe rapidement sur les milieux classiques à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C. Sur le milieu de culture PDA *Aspergillus flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés (**Morin, 1994**).

### **e-*Phytophthora infestans***

N'est pas un vrai champignon, mais est plutôt considéré comme un organisme champignon semblable. Ce pathogène est actuellement classé comme un Oomycètes, qui est membres du royaume Chromista (straménopiles ou Straminopiles). Les oomycètes appartiennent à une de deux ordres, Saprolegniales et Peronosporales. L'ordre Personosporales contient des espèces de *Phytophthora* et un certain nombre d'autres plantes pathogènes très important genres, notamment du genre *Pythium* (**Scot, 2008**).

*Phytophthora infestans* a la distribution dans le monde entier, mais plus sévère des épidémies se produisent dans les zones à refroidir fréquemment, Météo humide (**Scot, 2008**).



# Annexes

---

## Annexe I

### Produits

#### Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont :

- Les solvants : Méthanol, Hexane, Acétate d'éthyle et Chloroforme ;
- Les réactifs :  $\text{AlCl}_3$ , Folin-Ciocalteu,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$  (Acide gallique), quercétine, acide ascorbique,  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (Ferricyanure de potassium),  $\text{FeCl}_3$  (Chlorure ferrique), NaCl (chlorure de sodium) ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Dihydrogénophosphate de sodium) ;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Hydrogénophosphate de sodium),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  et  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ; TCA (Acide trichloracétique) ;
- DPPH; ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ) ; 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl;
- ABTS ; TROLOX ;  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (persulfate de potassium);
- DMSO (diméthyle sulfoxyde) ; l'eau peptonée.

Les produits chimiques solides proviennent tous de biochem Chemophorme, alors que les solvants et les produits chimiques liquides sont obtenus auprès de Sigma Aldrich.

#### Les milieux de culture

Les milieux de cultures utilisé dans notre étude sont : GN (la gélose nutritive) ; Muller Hinton ; PDA; Cœur cervelle.

#### Appareillages

- Centrifugeuse (Sigma Laborzentrifugen, Germany) ;
- Spectrophotomètre (UV mini-1240 UV\_VIS SPECTROPHOTOMETERS SHIMADZU);
- Evapourateur rotative (Buchi Labortechnik AG) ;
- Bain marie (type WNB14, Germany).

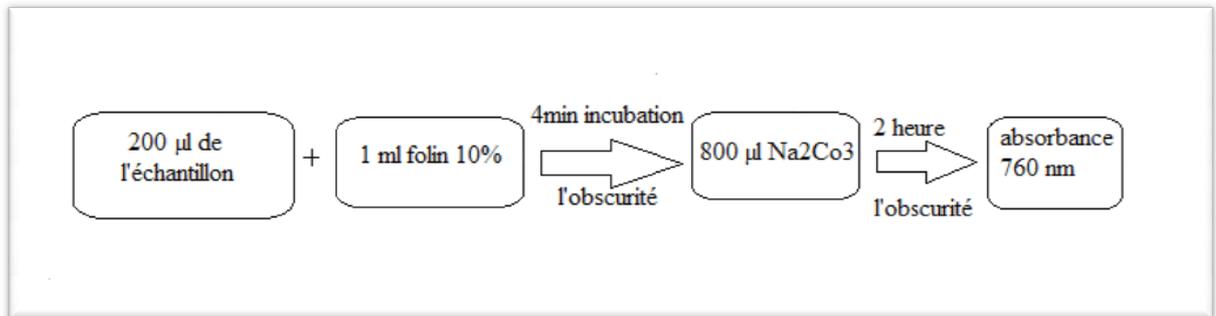
# Annexes

---

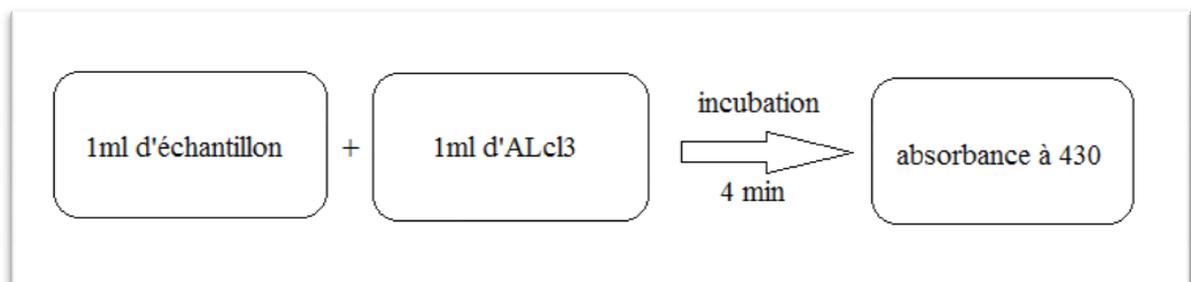
## Annexe II

### Protocoles

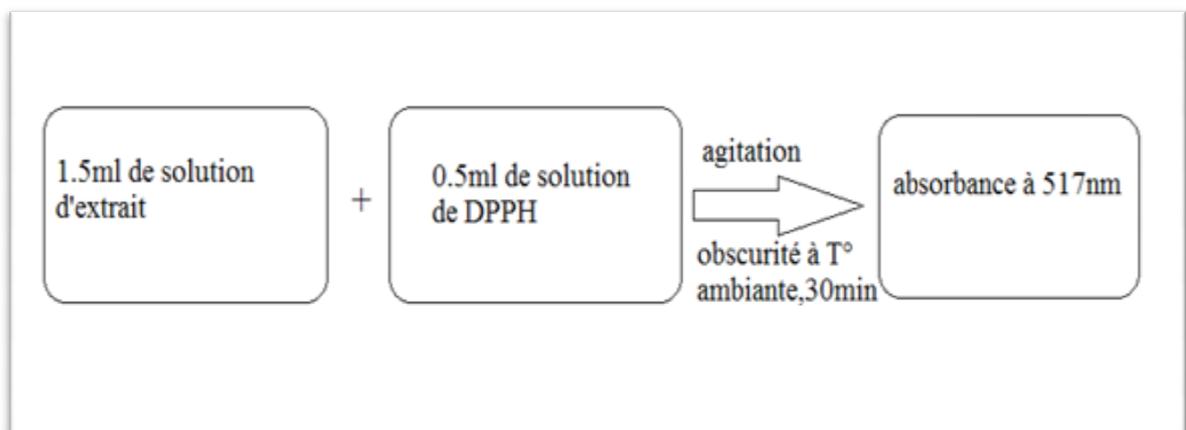
#### 1-Dosage de polyphénole



#### 2-Dosage de flavonoïde

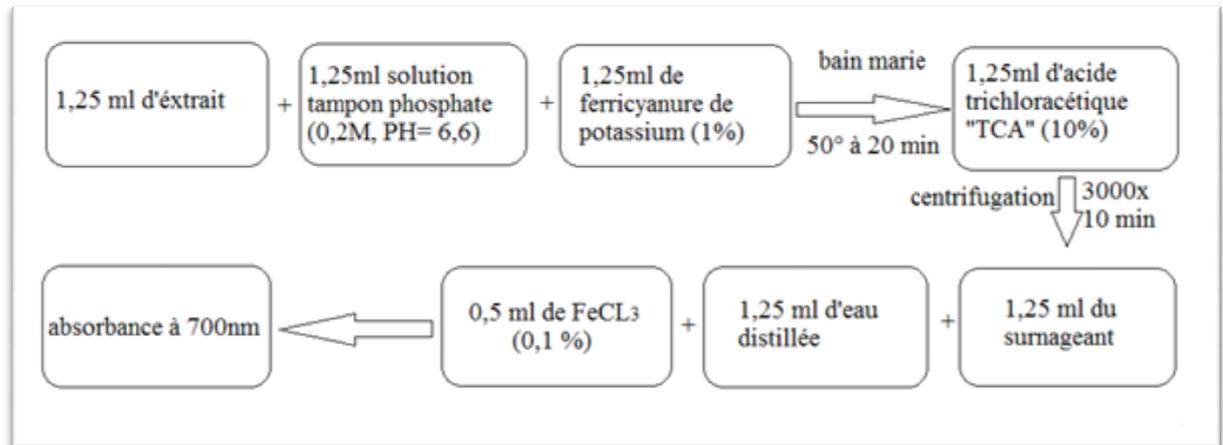


#### 3-Dosage d'activité antioxydant par le DPPH

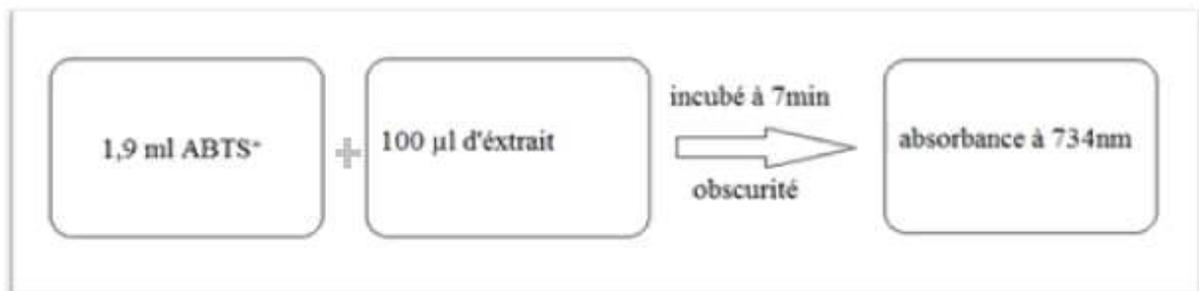


## Annexes

### 4-Protocole de pouvoir réducteur :



### 5-Protocole de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>



## **Annexes**

---

### **Annexe III**

#### **Préparation du milieu Mueller-Hinton**

Muller Hinton est, le milieu complexe, recommandé pour la réalisation des interactions, nécessaire pour obtenir des résultats fiables au niveau de l'antibiogramme et préparée comme suivant :

- Mettre 38 g de Muller Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète.

#### **Préparation du milieu gélose nutritive**

Gélose nutritive préparée comme suivant

- Dissoudre 20 g de la gélose nutritive dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète.

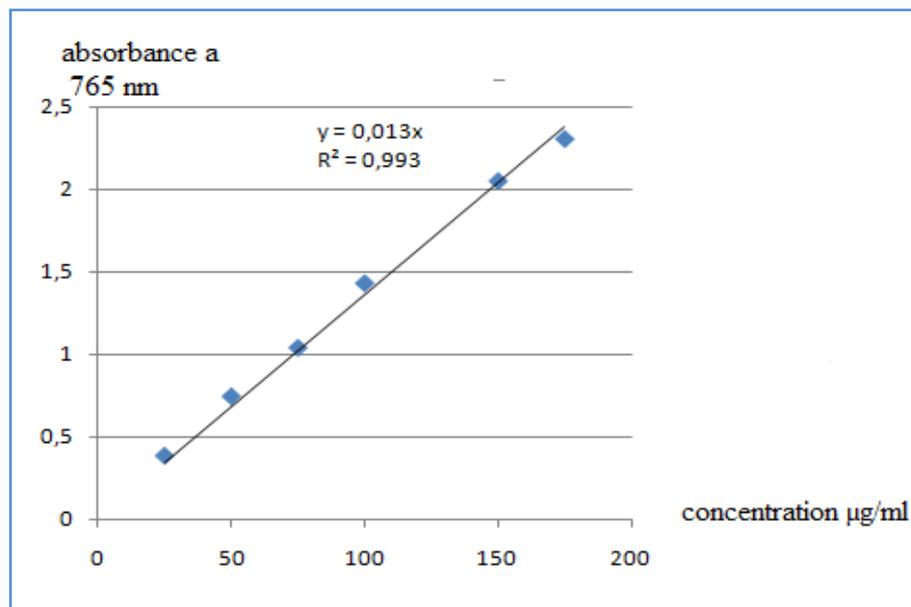
#### **Préparation du milieu PDA**

Pour l'étude de l'activité antifongique on a utilisée le milieu PDA qui est préparée comme suivant :

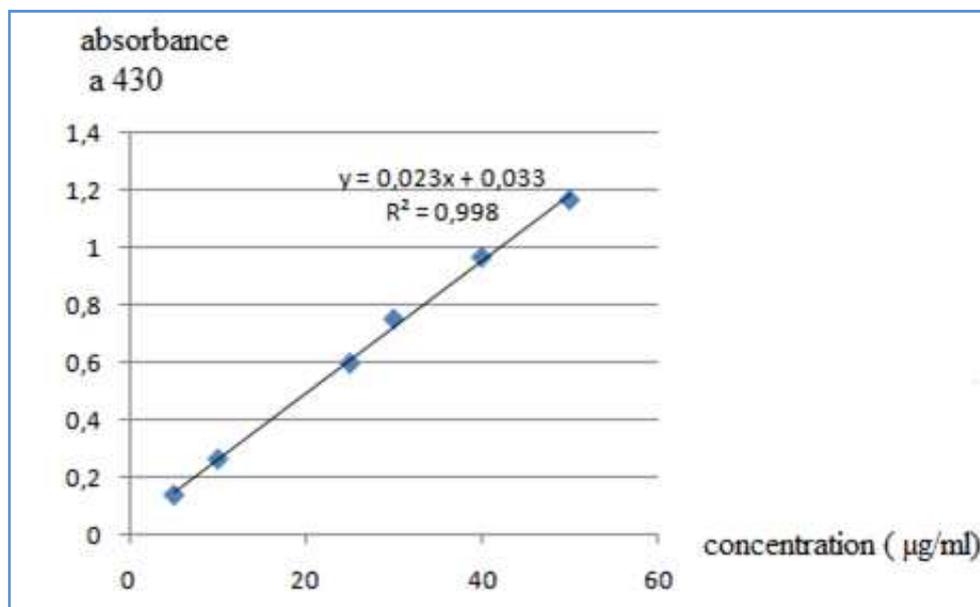
- 200g pomme de terre bouillir dans 500 ml d'eau distillée sur une plaque chauffante avec agitation ,puis filtrée pour obtenir un filtrat.
- Dissoudre 20g de glucose avec 18 g d'agar dans 500ml de l'eau distillée, se dernier mélangé avec le filtrat obtenue.

## Annexes

### Annexe IV



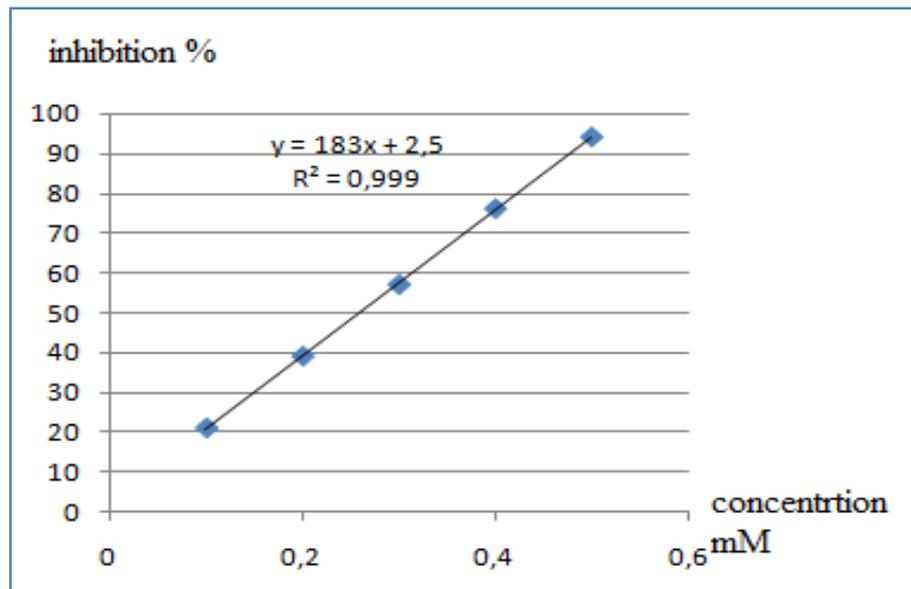
Annexe IV. 1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



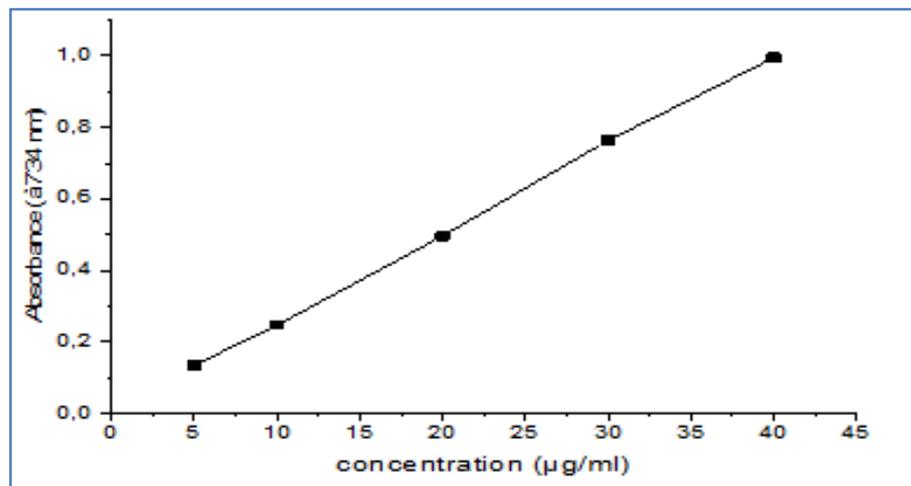
Annexe IV. 2: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

## Annexes

---



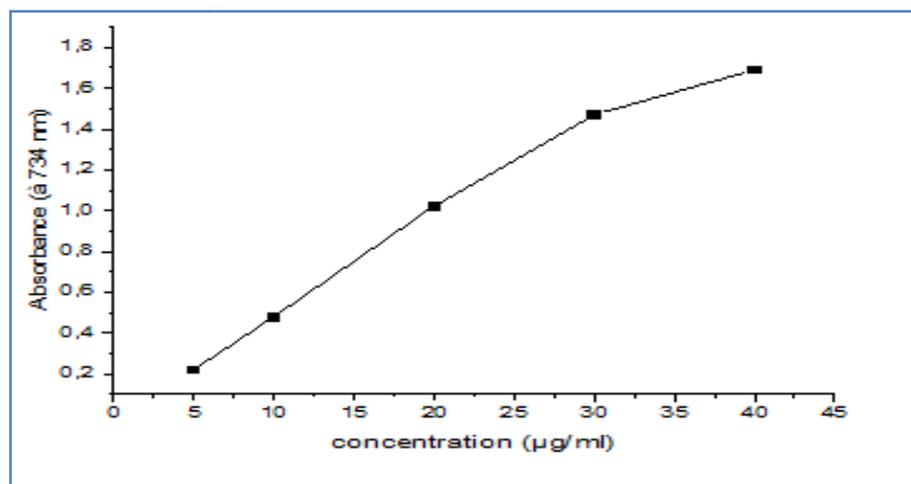
Annexe IV. 3: Courbe d'étalonnage du Trolox.



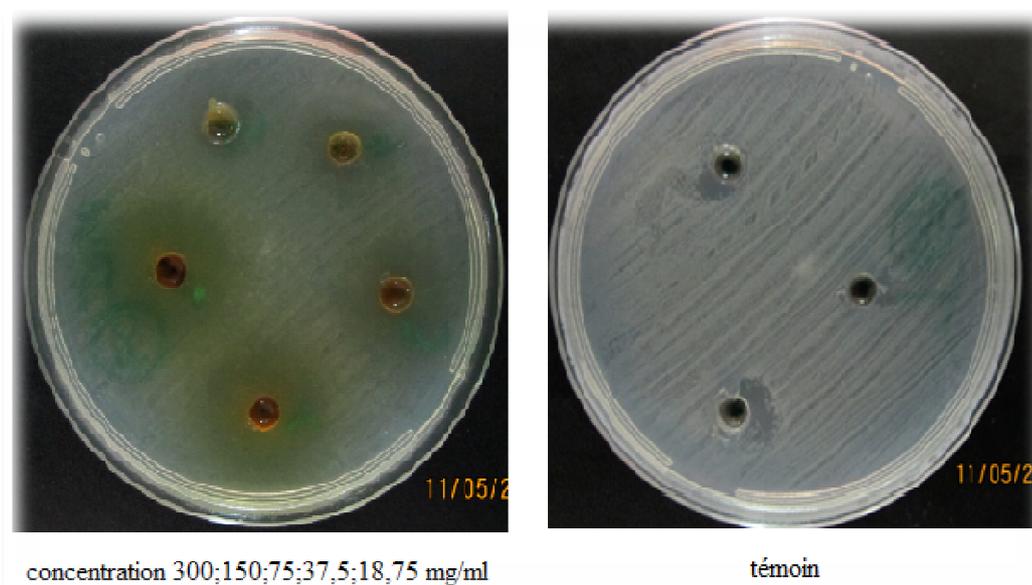
Annexe IV. 4: Pouvoir réducteur d'acide ascorbique.

## Annexes

---



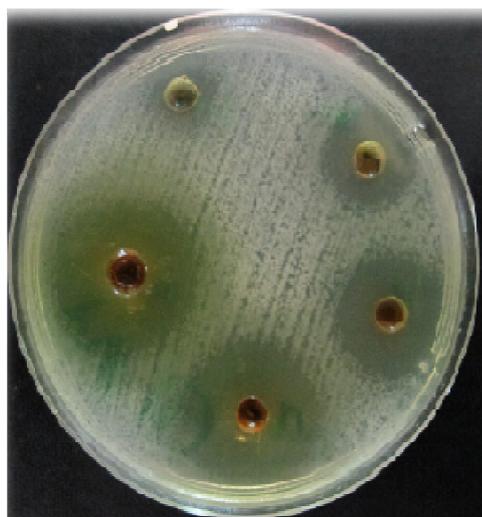
**Annexe IV. 5:** Pouvoir réducteur d'acide gallique.



**Annexe IV.6:** *Salmonella typhimurium*: extrait méthanol

## Annexes

---

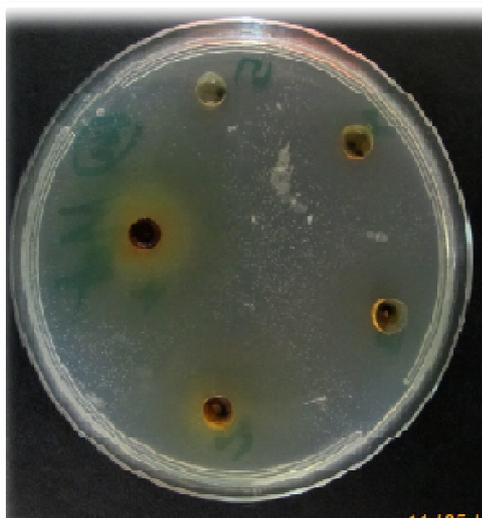


concentration :300;150;75;37,5;18,75 mg/ml

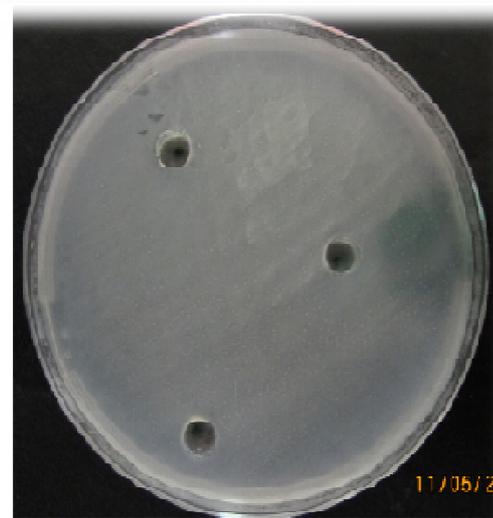


témoin

### Annexe IV.7: *Bacillus cereus*: extrait méthanol



concentration 300;150;75;37,5;18,75 mg/ml

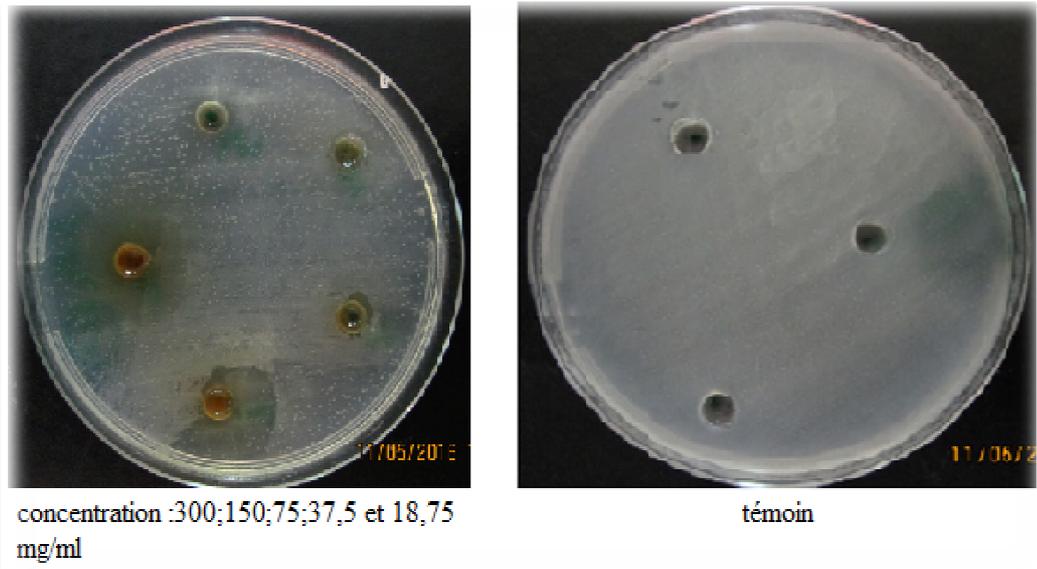


témoin

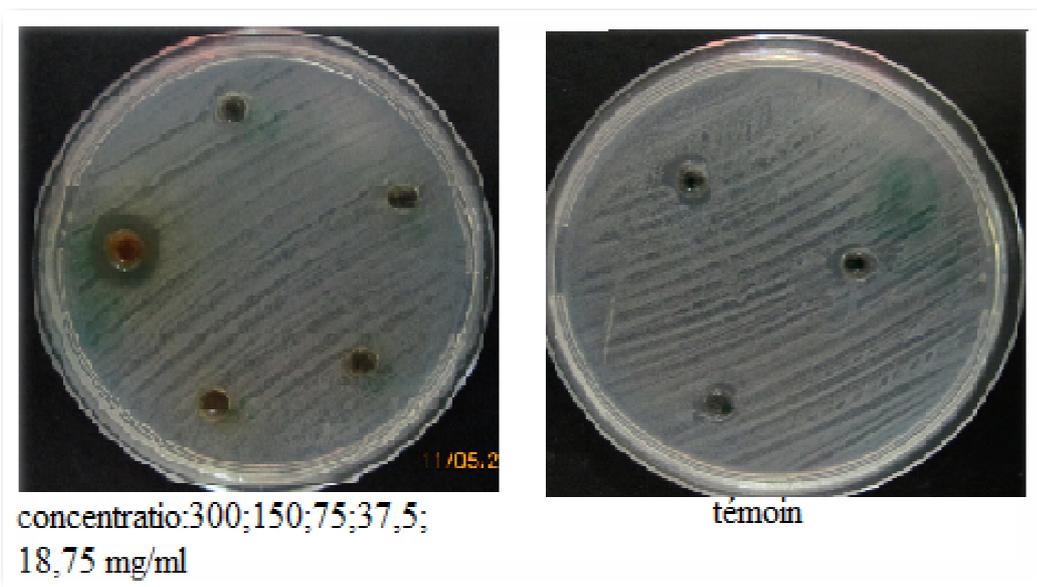
### Annexe IV. 8: *Candida albicans* : extrait méthanol

## Annexes

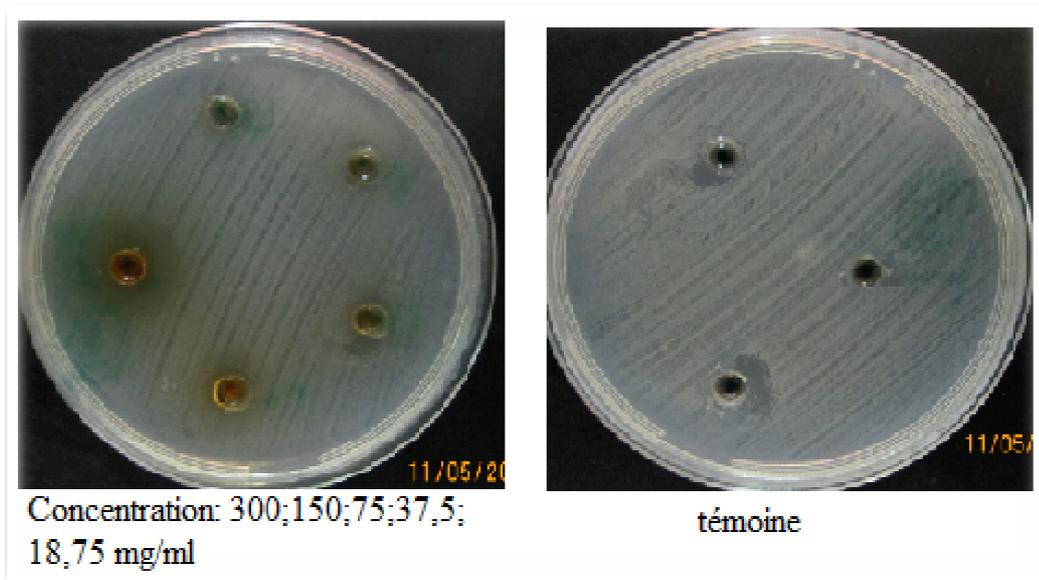
---



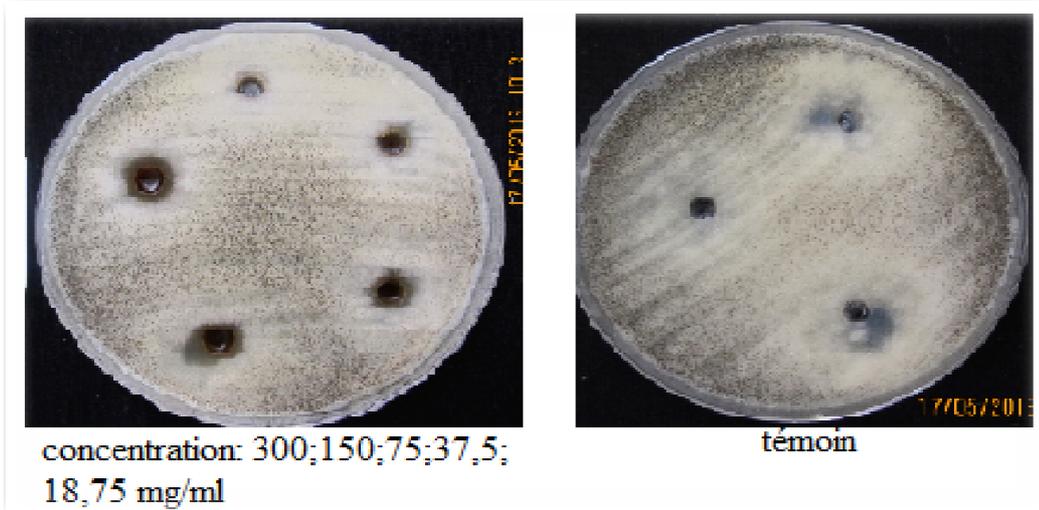
**Annexe IV. 9:** *Candida albicans*: extrait aqueux



**Annexe IV. 10:** *Staphylococcus aureus* : extrait aqueux



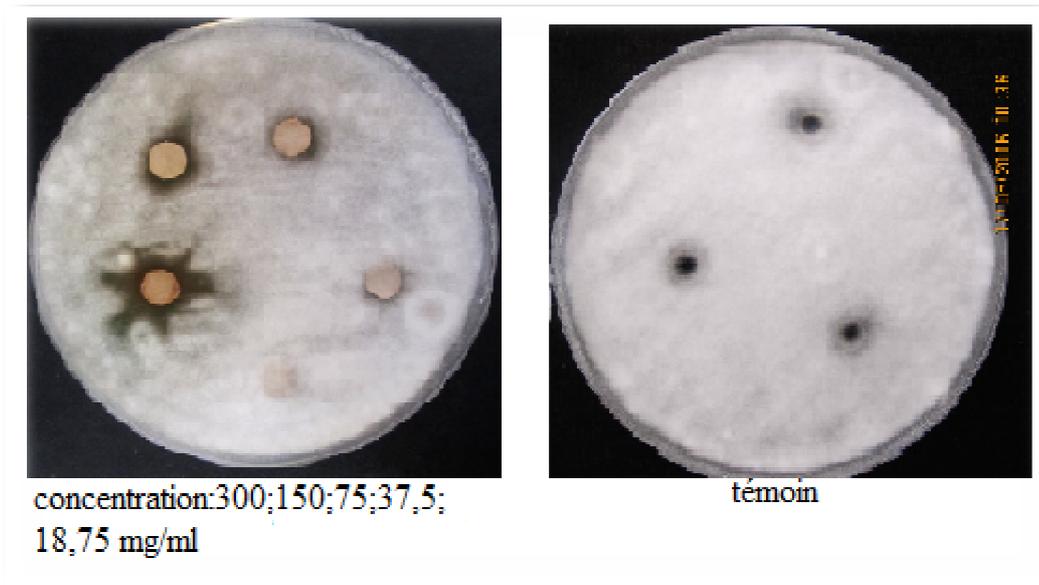
**Annexe IV.11:** *Salmonella typhimurium*: Extrait aqueux



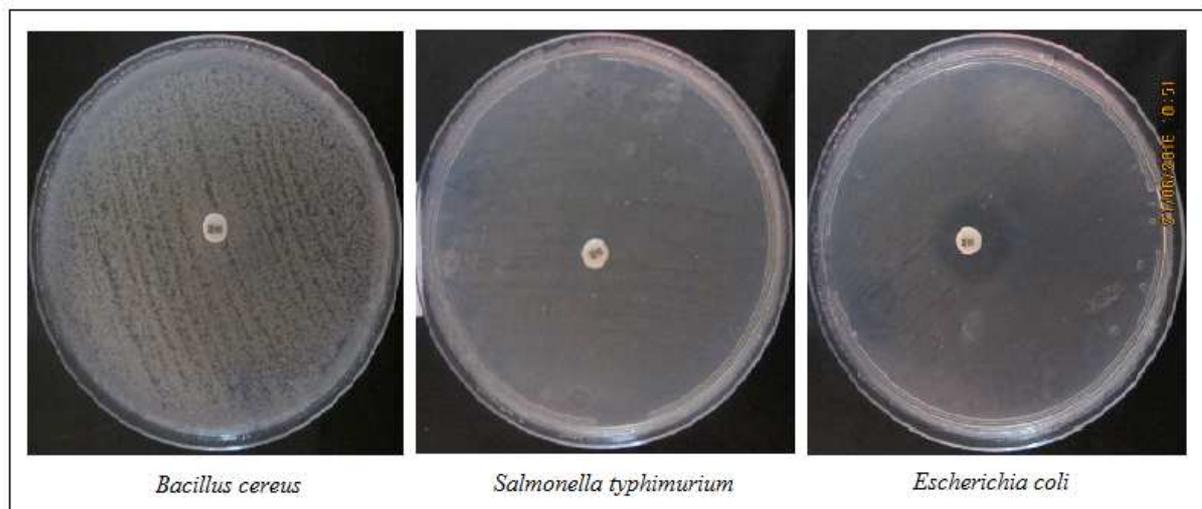
**Annexe IV.12:** *Aspergillus niger* : extrait méthanol

## Annexes

---



**Annexe IV.13 :** *Fusarium oxysporum schlechtendahl f.sp.albedinis* : extrait méthanol



**Annexe IV.14:** Sensibilités des souches bactériennes à l'amoxicilline.

## Références bibliographiques

---

Aarons. D.H, Rssi.G.V, Orzechowski. R. F. (1977). Cardiovascular actions of three harmala alkaloids : harmine , harmaline, and harmalol j pharm sci .55(9) .,Pp 1244-8.

Achour. S, Saadi. H, Turcant. A, Banani. A, Mokhtari. A, Soulaymani. A, & Bencheikh. R. S. (2012). Intoxication au *Peganum harmala L* et grossesse: deux observations marocaines. Médecine et Santé Tropicales. 22(1)., Pp84-86.

Amrani. A, Benaissa. O, Boubekri. N, Zama. D, Biod. K, Beroal. N, ... & Bettuzzi. S. (2014). Effet hépatoprotecteur et antiradicalaire d'un extrait butanolique de *Rhantheriu msuaveolens*. Phytothérapie. 12(6)., Pp386-392.

AS. (1997). Affaires Sociales, Sante Publique Et Environnement Publication image Dossier numéro : 1997-08-29/44., Pp30898.

Asgarpanah. J and Ramezanloo. F. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala L*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. Vol. 6(22)., Pp1573-1580.

Avisar. N, Whitin. J. C, Allen. P. Z. (1989). Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. J. Biol. Chem. 2., Pp 15850-15855.

Bahorun. T, Gressier. B, Trotin. F, Brunete. C, Dine. T, Vasseur. J, Gazin. J.C, Pinkas. M, Luycky. M, Gazin. M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46., Pp1086-1089.

Baillet. O. (2012). Quelle place pour le complément alimentaire dans l'arthrose à l'officine. Thèse de doctorat. Université Angers., Pp17-18.

Ben Ammar. R, Kilani. S, Bouhlel. I, Ezzi. L, Skandrani. I, Boubaker. J, Ben Sghaier. M, Naffeti. A, Mahmoud. A, Chekir-Ghedira. L, Ghedira. K. (2008). Antiproliferative, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus L*: Combination with the Phytochemical Composition. *Drug. Chem. Toxicol.*31., Pp 61-80.

Benayad. N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Research Project. University of Sciences, Rabat (Maroc)., Pp 63.

## Références bibliographiques

---

Bentabet. N, Boucherit-Otmani. Z, Boucherit. K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. Springer-Verlag.10., Pp 1-8.

Bernard. T. (1988). Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. 8 (3) ., Pp 211-222.

Billing. J. and Sherman. P. W. (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* 73., Pp3-49.

Boudjelal. A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Université Badji Mokhtar., Pp 95.

Boudjouref. M. (2011).Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* université Ferhat Abbes, Sétif., Pp 99.

Boudjouref. M, Mihoub, Zerroug .M, et SÉTIF, U. F. A. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* 99., Pp 42-43.

Bougandoura. N, Bendimerad. N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaminthas sp.Nepeta (L)*. Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques. n° 09., Pp14-19.

Boutamina. Nas. E. (2014). Les fondateurs de la Pharmacologie. BoD - Books on Demand. Oeuvres universelles de l'islam., Pp27.

Bouziane. M. (2002). Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : *Cotulacineria* de la région d'Ouargla. Mag. Université Ouargla., Pp53.

Bouziane. N. (2012). Toxicité comparée des extraits d' *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala L.* (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria*. 46., Pp 18-19.

Bouزيد .W, Yahia1 .M, Abdeddaim 1 .M, Aberkane2 M.C et Ayachi .A. (2011). Evaluation de l'activité Antioxydante et Antimicrobienne des extraits de *l'aubepine Monogyne* Lebanese Science Journal. Vol 12. No1., Pp 59.

## Références bibliographiques

---

Boyd. B, Ford. C, Koepke. M.C, Gary. K, Horn. E, Mc Analley. S, and Mc Analley.B(2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6)., Pp7.

Bruneton. J. (1994). Les plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Edit. Lavoisier., Paris.

Caro. L, Cayrol. C, Dalem. E, Esseghir. S. (2010). Les complements alimentaires dossier santé., Pp 6-7-55.

Chopral.I. C, Abrial. B. K, Handa. K. L. (1960). Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Ed. UNESCO.

Cowan. M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.*12., Pp 564-582.

Darabpour. E, poshtkouhian. B, motamedi. H, nejed. Sm. (2011). Antibacterial activity of peganum harmala growing in iran against multi-drug resistant bacteria EXCLI journal. 10., Pp 252-263.

Dehak. K. (2013). Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Université Kasdi Merbah Ouargla Mars., Pp 64.

Dhaouadi. K, Raboudi. F, Estevan. C, Barrajon. E, Vilanova. E, Hamdaoui. M, Fattouch. S. (2010). Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem.* 59., Pp 402-406.

Doukani. K, Tabak. S, Derriche. A, Hacini. Z. (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* 10., Pp 37-49.

Duke.J .A . (1929). Handbook of Medicinal Herbs. Edit. CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida.

Essawi. T. and Srour M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethno pharmacol.* 70., Pp 343-349.

## Références bibliographiques

---

Falleh. H, Ksouri. R, Chaieb. K, Karray-Bouraoui. N, Trabelsi. N, Boulaaba. M and Abdelly. C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*.331., pP 372-379.

Fasla. B. (2009). Evaluation du potentiel antimutogène et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimiques. en vue de l'obtention du diplôme de Magister. Université d'Oran Es-Sénia., Pp 120.

Favier. A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique., Pp 108-115.

Festy. D. (2014). le grand livre des compléments alimentaires (allergies, cholestérol, minceur... les alliés naturels 100% efficaces). Quotidien Malin Edition., Pp400.

Fravel. G, Olivain. C, Alabouvette. C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. Research revie. New phytologiste. 157., Pp 493-502.

Gardès-Albert. M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh. Z et DanielJore. D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. L'actualité chimique., Pp 91-96.

Ghada ben rhouma. M. (2013). Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés. Université de Lorraine., Pp 209.

Ghaouas. S. (2014). intoxication par *peganum harmala* (centre anti poison et pharmacovigilance du maroc). Université Sidi Mohamen Ben Abdellah. 31., Pp12.

Gharabi. Z. Sand. R. L. (2008). *Artemisia herba alba* asso. A guide to Medicinal Plants in North Africa., Pp 49-49.

Ghedira. K. (2006) La nigelle cultivée : *Nigellasativa* L. (Ranunculaceae). Phytothérapie. 4., Pp1-7.

Goumni. Z et Salhi. A. (2013). Etude De L'activite antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *LaurusNobilis* L. UniversitéKasdiMerbah Ouargla.48., Pp 14.

## Références bibliographiques

---

- Gülçin. I, Mshvildadze. V, Gepdiremen. A and Elias. R. (2006). The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hederacolchica*: 3-O-( $\beta$ -D glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytothera pyResearch*. 20., Pp 130-134.
- Gutteridge. J. M. (1993). Free radicals in disease processes: à complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*. 19., Pp 141-158.
- Habbachi. W, Benhissen. S, Ouakid. M. L. (2008). Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae) Algerian journal of arid environment. vol 3. n° 1., Pp 82-88.
- Harrar. A. N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L., Pp 95.
- Hazard. R. (1950). Précis de thérapeutique et de pharmacologie. Edition Masson., Pp 988-989.
- Hennebelle. T, Sahpaz. S, Bailleul. F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* 1., Pp 3-6.
- Jacques. B, André. R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses. Paris., Pp 217-219-220-223-225.
- Jeong. S.M, Kim. S.Y, Kim. D.R, Jo S.C, Nam. K.C, Ahn. D.U, et Lee. S.C. (2004). Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52., Pp 3389–3393.
- Kaufmann. S. H. E. (1997). Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer ; R.G. Landes, New York; Austin., Pp 345.
- Khelifi. D, Sghaier. M. R, Amouri. S, Laouini. D, Hamdi. M et Bouajila. J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Rutachalpensis* L. and *Peganum harmala* L *Food and Chemical Toxicology*. 55., Pp 202–208.
- Kintzios. S, Papageorgiou. K, Yiakoumettis. I, Baricevic. D and Kusar. A. (2010). Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 53., Pp 773-776.

## Références bibliographiques

---

- Krippeit-Drews. P, Lang. F, Haussinger. D, Drews. G. (1994). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B-cells .*Pflugers Arch.* 426., Pp 552-554.
- Kusmenoglu. S, Turkos. S. et koca. U. (1995). Constituents of the seed oil of *peganum harmala L.* 12., Pp141-144.
- Le. K, Chiu. F and Ng. K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructuslycii*. *Food Chemistry.*105., Pp353-363.
- Li. H.B, Cheng. K.W, Wong. C.C, Fan. K.W, Chen. F, Jiang. Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry.* 102., Pp 771-776.
- Maiza. K et Hammiche. V. (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentriona. Médicaments et Aliments : L'approche Ethno pharmacologique., Pp160-171.
- Manallah. A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Oleaeuropaea L.*, Pp 87.
- Marfak. A. (2003). Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools., Pp 6-7-10.
- Markham. K. R. (1982).Chapter 1 and 2. Techniques of flavonoid identification. *Academic press*, (London), Pp1-113.
- Martinez-Cayuela. M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77., Pp147-161.
- Morin. O. (1994). *Aspergillus et aspergilloses: biologie*, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses 8-600-A-10.
- Naili. M. B, Alghazeer. O. A, Saleh. N.A, Al-Najjar. A.Y.(2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3., Pp79–84.
- Navoun. S. (2005). Thermorésistance de trois serotypes de *salmonella* dans l'oeuf et les gesiers de poulets. Université Cocody d'Abidjan - DEA Biotechnologies.
- Nikolova. M, Gussev. C.H. and Nguyen. T. (2010). Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnol.*, Pp 21-23.

## Références bibliographiques

---

Pieri. F et Kirkiacharian. S. (1992). Pharmacologie et Thérapeutique, 2<sup>ème</sup> Edition Marketing. Paris., Pp 443.

Quezel. P et Santa. S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre national de la recherche scientifique. Tome II., Paris.

Ranilla. L. G, Kwon. Y. I, Apostolidis. E and Shetty. K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*.101., Pp4676-4689.

Rehman. A, Nourooz. J, Moller. W et al. (1999). Increased oxidative damage to all DNABases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett*. 448., Pp 120-122.

Rezzagui. A. (2012). Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala L*, Université de Sétif., Pp 90.

Ronse .D .L. P, de laet. J. et Smets. E. F. (1996). Morphological studies in *Zygophyllaceae*. II. The floral developement and vascular anatomy of *Peganum harmala*. *Am. J. Bot.* 83., Pp 201-215.

Sanago. R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali)., Pp 53.

Sanogo. R. (2006). Développement, Environnement et Santé 10<sup>ème</sup> École d'été de l'IEPF et du SIFEE .

Sarker. S. D, Latif. Z and Gray. A. I (2005). Natural products isolation. Humana Press (Totowa)., Pp 1-23.

Sarni-Manchado. P et Veronique. C. (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC. Paris., Pp398.

Sarr. S. O, Fall. A. D, Gueye. R, Diop. A, Diatta. K, Diop. N, ... &Diop. Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), Pp1263-1269.

## Références bibliographiques

---

Schuster. E, Dunn-Coleman. N, Frisvad. J. C, Van Dijck. P. W. M, (2002). On the safety of *Aspergillus niger* – a review. Appl Microbiol Biotechnol .59., Pp 426-435.

Scot C. N. (2008). Late Blight of Tomato (*Phytophthora infestans*). PD-45.

Siddhuraju. P et Becker. K. (2007) .The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) seed extracts. Food Chemistry. 101(1)., Pp 10-19.

Six. S. C, De Buyser. M. L, Vignaud. M. L, Dao. T. T, Messio. S, Pairaud. S,...&Brisabois. A. (2012). Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus*: bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation/Sécial Risques alimentaires microbiologiques. 50., Pp 57-61.

Tagg. J. R et Mc Given. A. R. (1971). Bacteriocin activity can be detected and assayed by a modification of the punchhole method. 21(5)., Pp 943.

Tang. S. Y, Halliwell. B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies. Biochemical and Biophysical Research Communications. 394., Pp 1-5.

Wichtl. M et Anton. R. (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisier. Paris., Pp 38-41.

Zeghada. F. Z. (2008). Activité allélopathique et analyse phytochimique. mémoire pour l'obtention de magister en biologie université d'Oran., Pp 120.