

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre:
N° de série:

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie
**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : BEN LEKHDIM Feirouz

DAOUADI Sabrina

Thème

Etude phytochimique et biologique de trois
différents extraits aériens bruts de la
plante *Peganum harmala* L., 1753,
récoltée dans la région de Ghardaïa.

Soutenu publiquement le :26/06 /2018

Devant le jury :

M. DJELLID Youssef

Maitre assistant A

Univ. Ghardaïa **Président**

Mme. HAMID OUDJANA Aicha

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa **Encadreur**

M.BELGHIT Said

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa **Examineur**



Dédicaces

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à
mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pondent toute
mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les
instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée, je
luis dit merci mille fois.*

*A mes très chères sœurs : MABROUKA, AICHA , MERIEM, NORA,
FADILA, ZAHIA et spécialement IBTISSEM. Amerci pour tout ce que
vous avez fait pour moi.*

*mes très chers frères : ALI , ABDE ELRAZZAK , AHMED et leurs
femmes.*

*Mes étoiles qui éclairent ma venir mes soeur: MERIEM, FATNA
, MBARKA , HOURIA , Halima, CHRIFA, ZAINEB
FATIMA, SASIA, TORKIA, ASMA, HADJAR, RAZIKA...*

Fairouze . B

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A la mémoire de mes grands-parents.
aux deux personnes qui j'aime le plus dans la vie*

*Mes très chers parents, ma mère
, source de compassion et de tendresse, l'exemple de patience et
sacrifice, la raison de mon existence et le support de ma vie.
A mon très cher père l'homme le plus parfait dans le monde, mon
grand exemple et secret de ma réussite.*

Mes chers sœurs

SOURIA, LAMIA

Et mes chers frères.

SOHUIB , SADDAM

Qui m'ont toujours encouragée

*A Toute ma famille **DAOUADI** et **MOULLAY ABDAALLH**.et
BENSAMOUNE.*

A Toutes mes collègues.

*A Toute la promotion
master biochimie*

Sabrina .D



Remerciements

Qu'il me soit permise de remercier ici profondément tout d'abord, Dieu tout Puissant pour m'avoir permis d'arriver à ce stade.

Nous remercions vivement notre encadreur M^{me} HAMID OUDJANA Aïcha, Pour avoir accepté la charge d'être rapporteuse de ce mémoire. Nous voudrions remercier également les membres du jury Mr BELGHITE SAÏDE ET DJELLIDE YOUSSÉF en particulier pour avoir accepté examiner ce travail, merci pour votre gentillesse, votre compétence, votre compréhension, votre aide et remarques constructives qui m'ont été utiles lors de mon formation professionnelle, mes sincères reconnaissances et remerciements et mes respectueuses gratitude.

Et sans oublier Mr chef département de Biologie Ben Sammounne youcef.

Un merci spécial pour mes collègues et amis de l'université de Ghardaïa qui ont contribué par leur soutien et amitié, chacun à sa façon, à la progression de mon travail.

Un grand merci s à Monsieur KREIMAT Mohammed pour le temps qu'elle a pu consacrer pour m'aider.

Nous remercions également les membres et les techniciens du laboratoire du l'Université du Ghardaïa. Pour leur aide durant mon travail. Surtout Nour Eddine et cheikh et Hicham

*Un grand merci aux membres des laborantins
de Hôpital de Metlilli surtou NASSIMA*

Nous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail, nous dédie le fruit de nos efforts.

Liste des figure

N°	Titre	Page
1	<i>Péganum harmala L</i>	03
2	région d'étude Metlili	04
03	<i>Peganum harmala L</i>	06
4	<i>E .coli</i> observé au microscope électronique	09
05	Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie électronique	10
06	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
07	<i>Salmonella enterica sérotype Typhi</i>	11
08	Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	12
09	Caractères du thalle de genre <i>Penicillium</i>	13
10	<i>C. albicans</i>	14
11	Montage d'extraction à reflux	15
12	Montage d'évaporation	16
13	Montage d'extraction par Soxhlet	17
14	Extraction par macération	18
15	Structures des tanins	19
16	Structure de base des flavonoïdes	20
17	Structure générale des anthocyane	21
18	Structure de base de coumarine	21
19	Exemples de structures quinoniques	22
20	Structure de quelques alcaloïdes.	23
22	Squelette de base des saponines	24
23	Exemple de stérols rencontrés chez le règne végétale et animal.	25

24	Structure de caoutchouc .	25
25	Structure de squelette de noyau stéroïde.	27
26	Etapes de préparation de milieu de culture	30
27	Version d'inoculum	31
28	a -Séchage des disques sur une lampe UV ; b-Dépôt des disques	31
29	Structure de β -carboline dans différents extraits de <i>Peganum harmala</i> .	36
30	Effet inhibiteur des trois extraits de <i>Peganum Harmala</i> L. sur les souches bactériennes	39
31	La différence entre les parois bactériennes à Gram+ et des bactéries à Gram ⁻	41
32	Activité antifongique des trois extraits de <i>P.harmala</i> .	42
33	Exemple d'effet des différents extraits sur <i>Penicillium glabrum</i>	43
34	Effet de la méthode d'extraction sur le diamètre d'inhibition en mm(l'activité antimicrobienne).	45
35	Effet de type de souche / concentration sur le diamètre d'inhibition en mm(l'activité antimicrobienne).	46

Liste des Tableaux

N°	Titre	page
01	Caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de la partie aérienne de <i>Peganum harmala</i> .	35
02	Les différentes concentrations des trois extraits	39

Liste des abréviations

% : pourcentage.

°C : Température en degrés Celsius.

AChE : Acétylcholinestérase .

ADN: Acide-Desoxyribo-Nucléique

ANOVA: analyse de variance

ATCC : American type culture collection = Collection américaine des cultures type.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

g : gramme

GABA :Acide Gamma Amino Butyrique.

H₂SO₄: Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

HgCl₂ :chlorure de mercure

Kg : Kilogramme

KI : iodure de potassium

LPS :lipopolysaccharide

MAO-A : Monoamine oxydase de type A .

mg: milligramme

ml : Millilitre

mm : millimètre

mn : Minutes

N : normalité

N° : Numéro

NaOH: Hydroxyde de sodium

NH₄OH : hydroxyde d'ammonium

PTT : le purpura thrombotique thrombocytopénique.

R : Rendement en gramme.

SHU : syndrome hémolytique et urémique.

SIDA : Syndrome immunodéficientaire acquis

SNC : Système nerveux central.

SNP : Système nerveux périphérique.

T° : Température.

UV : Ultraviolet

v/v : Volume/ Volume

Table des matières

Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	01
Chapitre 1 : Méthodologie de travail	
I.1.-Principe adopté.....	03
I.2.-Choix de la matière biologique	03
I.2.1.-Matière végétale	03
I.2.1.1.-Présentation de la région d'étude	04
I.2.1.2.-Position systématique.....	05
I.2.1.3.-Noms vernaculaires :.....	05
I.2.1.4.-Descriptions Botaniques	05
I.2.1.5.-Répartition géographique de <i>Péganum harmala</i>	06
I.2.1.6.-Intérêts thérapeutique	07
I.2.1.7.-Données toxicologique.....	07
I.2.1.8.-Constituants chimiques	08
I.2.2.-Souches microbiennes	09
I.2.2.1.- <i>Escherichia coli</i>	09
I.2.2.1.1.1.-Habitat préférentiel	09
I.2.2.1.2.-Pouvoir pathogène	09
I.2.2.2.- <i>Staphylococcus aureus</i>	10
I.2.2.2.1.-Habitat préférentiel	10
I.2.2.2.2.-Pouvoir pathogène	10
I.2.2.3.- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
I.2.2.3.1.-Habitat préférentiel.....	10
I.2.2.3.2.-Pouvoir pathogène	11

I.2.2.4 - <i>Salmonella</i> sp.....	11
I.2.2.4.1.-Habitat préférentiel	11
I.2.2.4.2.-Pouvoir pathogène	12
I.2.2.5.- <i>Aspergillus carbonarium</i>	12
I.2.2.5.1.-Habitat préférentiel	12
I.2.2.5.2.-Pouvoir pathogène	13
I.2.2.6.- <i>Penicillium glabrum</i>	13
I.2.2.6.1.-Habitat préférentiel	13
I.2.2.6.2.-Pouvoir pathogène	14
I.2.2.7.- <i>Candida albicans</i>	14
I.2.2.7.1.-Habitat préférentiel	14
I.2.2.7.2.-Pouvoir pathogène	15
I.3.-Méthode d'extraction.....	15
I.3.1.-Extraction à reflux	15
I.3.1.1.-Principe	15
I.3.1.2.-Mode opératoire	15
I.3.2.-Extraction par Soxhlet	17
I.3.2.1.-Principe.....	17
I.3.3.-Macération.....	18
I.3.3.1.-Principe.....	18
I.3.3.2.-Mode opératoire	18
I.4.-Etude phytochimique	19
I.4.1.-Principe	19
I.4.1.1.-Recherche des composés phénoliques	19
I.4.1.1.1.- Les tanins (C ₁₅).....	19
I.4.1.1.1.1.- Effet biologique	19
I.4.1.1.1.2.- Identification de tanin	20
I.4.1.1.2.Les flavonoïdesC ₆ -C ₃ -C ₆	20
I.4.1.1.2.1.-Effet biologique	21
I.4.1.1.2.2.-Identification des flavonoïdes	22

I.4.1.1.2.2.1.-Test d'anthocyanes	22
I.4.1.1.2.2.2. - Réaction à la cyanidine	22
I.4.1.1.3.-Coumarines C6-C3	22
I.4.1.1.3.1-Effet biologique.....	23
I.4.1.1.3.2.-Identification des coumarines	23
I.4.1.1.4. -Quinones libres	23
I.4.1.1.4.1.-Effet biologique	24
I.4.1.1.4.2.-Identification des quinones libres	24
I.4.1.2.- Composés azotés	24
I.4.1.2. 1.- Alcaloïdes	24
I.4.1.2. 2 - Effet biologique	25
I.4.1.2. 3 - Identification des alcaloïdes	25
I.4.1. 3.Terpénoides	26
I.4.1. 3. 1-Saponines	26
I.4.1. 3. 2 - Effet biologique	26
I.4.1. 3. 3 -Identification des saponosides	27
I.4.1. 4 - Stérols et polyterpènes	27
I.4.1. 4. 1-Effet biologiques	28
I.4.1. 4. 2- Identification des stérols et polyterpènes	28
I.4.1. 4. 3-Stéroïdes.....	29
I.4. 1. 4. 3.1-Effets biologiques	29
I.4. 1. 4. 3.2-Identification des stéroïdes	29
I.4.1. 3.4.- les glycosides Cardiaques	29
I.4.1. 3. 4. 1 Effets biologiques	29
I.4.1.3.4.2. -Test des glycosides cardiaques	30
I.4.1. 4--Test des huiles volatiles	30
I.4.1. 4.1- Effet biologiques	30
I.4.1. 4. 4.2-Identification des huiles volatiles	30
I.4.1.5.- Composés réducteurs	30
I.4.1.5. 1 - Identification des composés réducteurs	30

I.5.-Activité antimicrobienne	30
I.5.1.-Principe	31
I.5.1.1.- Mode opératoire	31
❖ Stérilisation du matériel	31
❖ Repiquage des espèces bactériennes	31
❖ Préparation du milieu	32
❖ Ensemencement	32
❖ Préparation des dilutions	33
❖ Préparation des disques	33
❖ Analyse de données(lecture)	33
❖ Diamètre d'inhibition et signification	34
❖ I.6.-Analyse statistique	34
CHAPITRE II: RESULTAT ET DISCUSSION :	
II.1.-Tests phytochimiques de <i>Peganum harmala</i> L	35
II.2.-Activités antimicrobiennes	38
II.2.1.-Activité des extraits sur les bactéries testées	39
II.2.2.-Activité des extraits sur les champignons	42
II.3 - Analyse statistique	46
II.3.1 -Effet de la méthode d'extraction	46
II.3.2.-Effet des différentes concentrations et souches	46
Conclusion	47
Références bibliographiques	48
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction :

Actuellement, la maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe à cause d'une utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques en santé humaine et végétale. L'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels pose un grave problème de santé publique. Ces agents infectieux multi résistants sont néfastes surtout chez les sujets vulnérables tels que les enfants, les vieillards et les personnes immunodéprimées. La problématique de la résistance aux antibiotiques interpelle les communautés scientifiques car il est important de trouver de nouveaux agents antimicrobiens naturels en se référant aux plantes utilisées dans le traitement de maladies infectieuses en médecine traditionnelle (SAFFIDINE, 2015).

Les plantes constituent une source immense de molécules chimiques complexes (métabolites secondaires), largement exploités dans les industries cosmétologiques, agroalimentaires et pharmaceutiques. Parmi ces métabolites, on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols (SAFFIDINE, 2015). Donc l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...) et de corriger ses troubles métaboliques (BERREGHIOUA, 2016) ou bien utilisées la plante sous forme complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures) (TOUAFEK, 2010).

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en raison de sa superficie et sa diversité bioclimatique. un nombre considérable de plantes médicinales qui s'y développent spontanément, telles que *Peganum harmala*. (BOUKHALFA et HAMDY, 2016). Cette dernière appartient à la famille des zygophyllacées. Elle est largement distribuée, surtout dans les sols sableux et un peu nitrés, dans tout les hauts-plateaux et le Sahara septentrional (SAFFIDINE, 2015).

Peganum harmala est très étudié pour ses activités pharmacologiques. Plusieurs travaux sont faits dans le monde entier pour connaître les effets de ses extraits végétaux sur différents organismes à savoir des insectes, des nématodes et des champignons (BEHIDJ-BENYOUNES *et al.*, 2013).

En Pakistan, KANWAL *et al.*, (2016) ont traités l'activité antioxydante, antimicrobienne et anti leishmania des différentes parties de *Peganum harmala* L. En Iran, SALARI *et al.*, (2011) signalent que les extraits de *Peganum harmala* possèdent un effet néfaste sur les insectes (*Aphisfabae*, *Aphisgossypii*, *Aphisnerii* et *Myzuspersicae*).

En Algérie, MAHDEB *et al.*, (2013) ont étudiés le rapport de la toxicité de *P.harmala* sur les animaux tels que les moutons, bétails et chèvres. Ainsi, dans la région de Tébessa ABIDI et

NAHAL(2016) ont réalisés une étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de *Peganum harmala* L.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est l'étude phytochimique afin de connaître les principales groupes phytochimiques présents dans les trois extraits de partie aériennes de *Peganum harmala* L. et la recherche de l'activité antimicrobienne des trois extraits qui récolter à Metlili .

Pour répondre à ces objectifs, deux parties sont présentées :

- La première partie est consacrée à des démarches méthodologiques en abordant les analyses qualitatives des extraits de noter plantes et l'évaluation de leurs activités microbiennes.
- Une seconde partie est la présentation des résultats obtenus et discussion.

Nous finirons cette recherche par une conclusion et des perspectives sur l'ensemble de ce travail .

Chapitre I-

Méthodologie de travail

Chapitre I.-Méthodologie de travail :

I.1.-Principe adopté :

Notre étude consiste à faire évaluer l'effet toxiques des extraits de *Peganum harmala* L.(Zygophyllacée) sur quelques souches (des bactéries, champignons et levure), et de réaliser une analyse qualitative (Screening photochimique) des composés de chaque extraits à fin d'essai d'attribuer chaque effet à une famille de métabolite secondaire.

I.2.-Choix de la matière biologique :

I.2.1.-Matière végétale :

L'étude porte sur les parties aériennes de *P. harmala*, cette espèce végétale est recueillie à partir de son biotope d'existence naturelle loin des endroits anthropisés dans le but d'éviter toute action de l'homme. La récolte est réalisée durant le mois de décembre 2017 dans la localité de Gamgouma, région de Metlili (figure 01).



Figure 01:*Peganum harmala* L. (Originale, 2018).

Après la récolte, les parties aériennes débarrassées des débris (mauvaises herbes et poussières), sont rincées à l'eau courante. Elles sont ensuite séchées à l'abri de la lumière, à l'air libre, à l'ombre et à une température ambiante (KEMASSI, 2013). Pendant un mois, dans des papiers en carton. Il faut éviter autant que possible l'humidité et la lumière : celles-ci en effet accélèrent l'oxydation qui altère les parties de plantes. Les bocaux (en verre ou en métal, mais pas en plastique) permettent de bien conserver les plantes, qui sont mises dans une pièce sèche, à l'écart de toute source de chaleur (ANNE et NOGARET, 2003). Les parties aériennes après séchage sont broyées pour servir à l'extraction des métabolites secondaires par reflux, Soxhlet, et macération.

I.2.1.1.-Présentation de la région d'étude :

Metlili située à 45 km du chef lieu de wilaya. La zone de Metlili s'étend entre 3° et 38' de longitude Est et 32° et 16' de latitude Nord et couvre une superficie de 7300km² sur une altitude d'environ 455m , La commune de Metlili est limitée:

- Au Nord par la wilaya d'El-Bayadh communes de daya, Bounoura, El-Atteuf et Zelfana.
- Au Sud par la commune de Sebseb .
- A l'Ouest par la wilaya d'El-Bayadh .
- A l'Est par la wilaya d'Ouargla (figure 02) (BEN SANIA, 2005) .

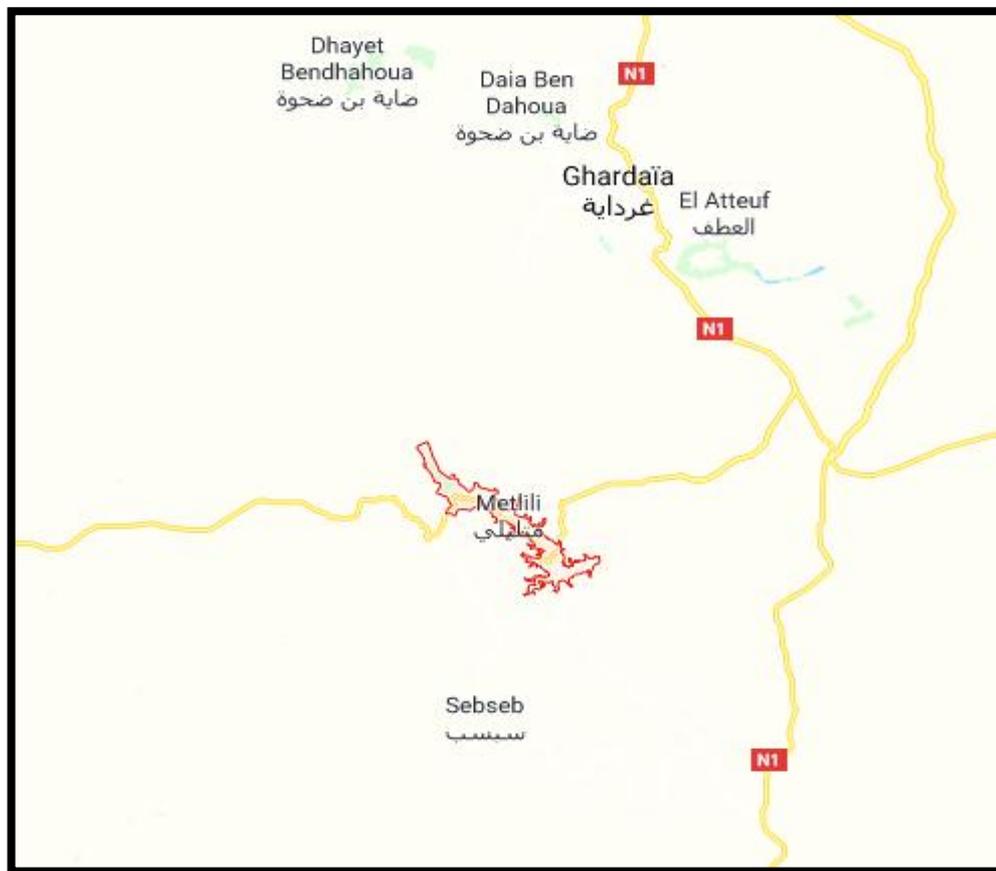


Figure 02 : région d'étude Metlili (RAWANI ,2010)

I.2.1.2.-Position systématique :

Règne : plante

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Peganum*

Espèce : *Peganum harmala* L. (KEMASSI,2008).

I.2.1.3.-Noms vernaculaires :

Cette espèce a plusieurs noms vernaculaires comme '*Harmel* ou *Harmal El sahari*' en Algérie et en Afrique du Nord, '*Rue sauvage*' en France, '*African rue* ou *Syrian rue*' en Etats Unis et '*Espanol*' en Iran (REZZAGUI, 2012).

I.2.1.4.-Descriptions Botaniques:

Peganum harmala L. est une plante herbacée, vivace et buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur, à odeur fortement désagréable .La tige est dressée, très rameuse, qui disparaît durant l'hiver . Elle possède des entrenœuds assez courts, densément feuillés .Chez les plantes adultes, la tige est rigide, droite, ramifiée et glabre. (SASSOUI, 2015), les feuilles supérieures ne dépassent pas 1,5 mm de largeur (KEMASSI, 2008). Elles sont formées de petites fleurs blanches actinomorphes, hermaphrodites et dialypétales (SASSOUI, 2015) . la corolle d'environ 03cm de diamètre à 05 pétales ovales, blancs à l'intérieur, verdâtres à l'extérieur. Etamines jusqu'à 15, à longues anthères jaune et à gynécée de 8-9 mm de longueur .Ovaire verdâtre, globuleux de trois à quatre loges et des stigmates à 3 carènes insensiblement atténué en style corolle(KEMASSI,2008) il est de couleur verte lorsqu'il est mur et brun orangé à maturité coriacé. Les graines sont nombreuses, petites, anguleuses et sub-triangulaires. Elles sont de couleur marron foncé, d'une saveur amère, et le tégument externe est réticulé (SASSOUI, 2015) (figure 03).Les graines et les racines contiennent

quatre alcaloïdes : l'harmaline, l'harmine, l'armalol et la péganine, qui semble identique à la vasicine (de l'*Adhatodavastica*).



Figure 03: a, *Peganum harmala* L ;b, Feuille ; c, Fleur ; d, Fruit; e, Grain ;f, Racine(JINOUS et FERESHTEH, 2012).

I.2.1.5.-Répartition géographique de *Peganum harmala* :

Peganum harmala L. est originaire d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie du Sud. C'est une plante endémique des zones semi- arides (Abbassi et *al.*, 2003).

dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations(KEMASSI,2008), *P.harmala* L.exige des lieux ouverts, ensoleillés, des endroits secs et sols pierreux, il résiste très bien aux sécheresses(SASSOUI, 2015).

Parfois, en années sèches, le harmel est la seule plante évidente dans la steppe, avec sa couleur vert foncé, due à sa toxicité ce qui la rend non-comestible pour des animaux (BENSAID,2010).

I.2.1.6.-Intérêts thérapeutiques :

Peganum harmala présente des propriétés enivrante, sudorifique, anthelminthique, antipaludique, antispasmodique. Elle présente également des propriétés antiparasitaires. C'est une plante non broutée par les animaux d'élevage dont le dromadaire (KEMASSI *et al.*,2013). En fumigation, elle sert à dissiper les troubles provoqués par des mauvais oiel (CHEHMA ,2006).Elle est utilisée contre la stérilité féminine et les maladies de l'utérus (BENKHNIGUE *et al.*,2011).La poudre des graines est utilisée par voie orale contre les douleurs intestinales(LAHSISSENE *et al.*,2009).

Une Application thérapeutique et traditionnelle locale par une préparation à base des quelques graines d'Harmal(*Peganum harmala*) et des feuilles d'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) en poudre ou en infusion est indiquée contre le diabète(BENKHNIGUE *et al.*,2014).La poudre macérée à chaud dans de l'huile d'olive, en association avec des clous de girofle est appliquée en cataplasme, pour les soins des cheveux. La décoction des graines dans de l'huile d'olive est utilisée en cas des affections cardiaques (LAHSISSEN *et al.*, 2009). Ainsi elle est utilisée en décoction et comme pommade pour le traitement des fièvres (KEMASSI, 2018).

I.2.1.7.-Données toxicologiques:

Les doses élevées peuvent provoquer la paralysie. Les graines de harmal renferment en moyenne de 3 à 4% d'alcaloïdes avec une brusque élévation de ce taux à la phase de ces alcaloïdes sont au nombre de quatre: Harmane, Harmine, Harmaline et Harmalol ou Harmol (IMAMI et TOUIRAT, 2016).Tous ces alcaloïdes ont en commun un noyau indole et évoquent une molécule qui joue un rôle important dans le fonctionnement du système nerveux central: la sérotonine. Ces alcaloïdes ont aussi une action cardiovasculaire (hypotension, arythmie, bradycardie anthelminthique et ocytocique) (BENKHNIGUE *et al.* , 2014).

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 : Les Harmane, Harmine et Harmaline exerceraient :

- soit un blocage direct des récepteurs cérébraux GABAergiques (Acide Gamma Amino Butyrique) et donc de leur médiation inhibitrice, produisant un effet stimulant qui serait responsable de l'élévation du tonus musculaire et au maximum de convulsions.

- soit une facilitation de l'accès aux récepteurs GABAergiques 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, Quoiqu'il en soit ces alcaloïdes prédisposeraient aux modifications des conductances membranaires sodiques et/ou calciques (IMAMI et TOUIRAT, 2016).

La Harmine et la Harmaline exerceraient une action anti-cholinergique centrale pouvant expliquer la crise d'agitation et les manifestations digestives observées. La Harmane et Harmaline exerceraient une action inhibitrice du système Dopaminergique central induisant une sédation et des perturbations du sommeil paradoxal (ASSOUI, 2015). Ils peuvent provoquer une hypothermie permanente, des troubles respiratoires, des vomissements, des maux de ventre), en inhibant la(MAO-A et l'AChE)(REZZAGUI, 2012). En effet, l'extrait des feuilles de *P. harmala* entraîne chez le Criquet pèlerin une diminution de la prise de nourriture, une baisse du poids, de l'activité motrice, un retard de la maturité sexuelle chez les femelles, une réduction de la fécondité et du taux d'éclosion et même une mortalité des adultes après 14 jours (KEMASSI, 2008).

I.2.1.8.-Constituants chimiques :

Selon (TAHROUCH *et al.*, 2002) trente et un composés volatils ont été identifiés à partir des organes frais et sec de *p.hamala*, les principales toxines sont des alcaloïdes dont la structure chimique associe un noyau indole à un noyau pyridine :harmane, harmine, harmaline, harmalole (BENSAID, 2010). Elle contient aussi des acides aminés (valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique, l'aniline, N-phénylformamide, et N-acétylaniline phénylalanine), des carbohydrates, des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des stérols, et des triterpènes (IMAMI etTOUIRAT, 2016).

I.2.2.-Souches microbiennes :

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur 07 souches pathogènes de référence. Il s'agit des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif, ont été fournies par le laboratoire d'Ibn Elhaittem de Metlili, wilaya de Ghardaïa. Cependant les champignons et la levure sont obtenus de laboratoire pédagogique de l'Université du Ghardaïa.

I.2.2.1.-*Escherichia coli*:

I.2.2.1.1.-Habitat préférentiel :

C'est un bacille à gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae (BERREGHIOUA, 2016)(figure 04).*E.coli* est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. C'est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante,. Cette population bactérienne ne. La présence de *E. coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation (MAMI, 2013).



Figure 04: *E. coli* observé au microscope électronique (GX10000)(MAMI, 2013)

I.2.2.1.2.-Pouvoir pathogène :

Ce microorganisme peut devenir pathogène et peut provoquer des infections urinaires, biliaires, intestinales et génitales(BERREGHIOUA,2016).Aussi que est devenus des pathogènes émergents responsables à la fois de cas sporadiques et de cas groupés de diarrhées souvent sanglantes pouvant évoluer vers des pathologies plus graves comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU) et le purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT)(COHEN et KARIB, 2006).

I.2.2.2.-*Staphylococcus aureus*:

I.2.2.2.1.-Habitat préférentiel :

S. aureus est une bactérie Gram-positive, aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase et une coagulase (ALIOUA,2015).C'est une espèce de la famille de Micrococcaceae (figure 05) (BERREGHIOUA,2016). Il se trouve habituellement dans la peau, cheveux, nasopharynx, périnée poussières et l'aire aliments contaminés(BENDIF, 2007).

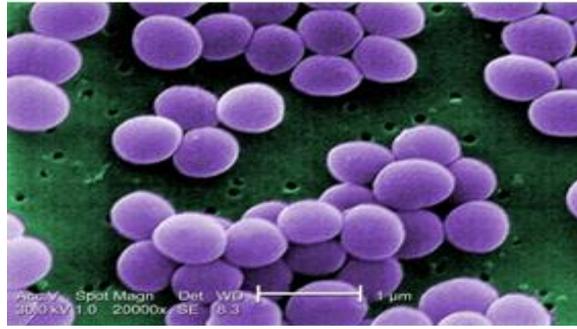


Figure 05: Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000)(ALIOUA, 2015).

I.2.2.2.2.-Pouvoir pathogène :

Ces germe impliqué dans l'apparition diverses affections, telle que les boutons, les furoncles, la pneumonie, l'intoxication alimentaire et les infections des plaies chirurgicales, aussi une infection nosocomiales (CERARD *et al.*, 2012).

I.2.2.3.-Pseudomonas aeruginosa:

I.2.2.3.1.-Habitat préférentiel:

C'est un germe appartenant au groupe des bacilles à Gram négatif, forme non sporulée, mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique (figure 06). Cette bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux (BERREGHIOUA, 2016).

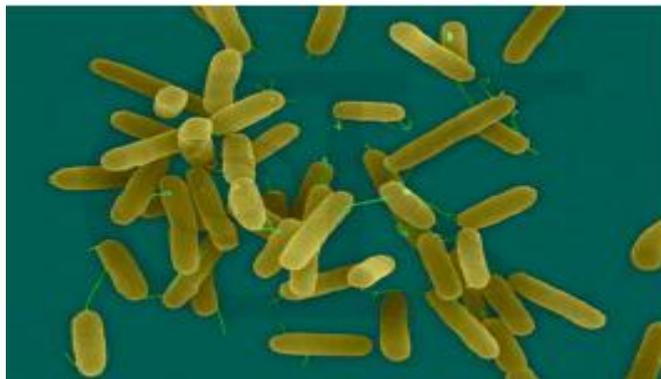


Figure 06: *Pseudomonas aeruginosa* (GX10000) (KHALILZADEH, 2009).

I.2.2.3.2.-Pouvoir pathogène :

Chez l'homme, elle n'adhère pas à l'épithélium normal intact et ne provoque de maladie que lorsqu'il existe une défaillance du système immunitaire ou une lésion préexistante. *P. aeruginosa* colonise particulièrement les personnes immunodéprimées (patients atteints de leucémie, SIDA, cancer), les grands brûlés, les patients en soins intensifs ou atteints de la mucoviscidose. Elle est

capable de coloniser une grande diversité de tissus. Elle provoque des bactériémies, des infections intestinales, urinaires, des dermatites, des otites externes, des kératites ulcéreuses chez les porteurs de verres de contact, des infections de la peau chez les grands brûlés, des endocardites chez les patients abusant de drogues intraveineuses. *P. aeruginosa* est également capable de causer des méningites et des ostéomyélites en infectant le système nerveux central et les structures osseuses. Cette bactérie est impliquée dans des infections nosocomiales (CHAKER, 2012).

I.2.2.4.- *Salmonella* sp:

I.2.2.4.1.-Habitat préférentiel :

Il s'agit d'une bactérie en forme de bâtonnet (ou bacille) droit à Gram négatif, mobile (flagelles péritriches sur toute la surface bactérienne), de respiration aérobique facultative et non sporulée appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (SABBAGH, 2013) (figure07).

Le réservoir principal de *Salmonella* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux mais certaines souches peuvent également être isolées des animaux à sang froid et des animaux aquatiques. Le réservoir animal constitue la principale source de propagation des salmonelles dans l'environnement. Les salmonelles présentes dans les matières fécales des animaux peuvent contaminer le sol des pâturages, le sol des cultures après épandage et l'eau. Les salmonelles peuvent être retrouvées dans les aliments d'origine animale (viande, lait, œuf) ainsi que les produits frais (fruits et légumes) (LOCATELLI, 2013).

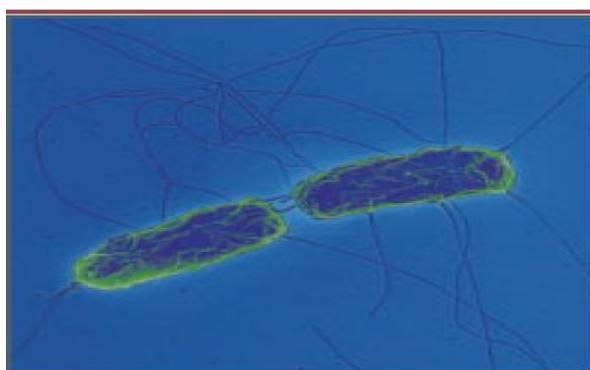


Figure 07: *Salmonella enterica* sérotype Typhi (GX10000)(ROUMAGNAC *et al.*, 2007).

I.2.2.4.2.-Pouvoir pathogène:

La spécificité d'adaptation vis à vis d'une espèce cible varie entre les différents sérovars de Salmonelles et conditionne la pathogénicité pour les hommes et les animaux. Les sérovars *S. Typhi* et *S. Paratyphi* sont particulièrement adaptés à l'homme et déclenchent de sévères fièvres entériques mais ne sont pas pathogènes pour les animaux. Certains samovars sont ubiquitaires, tels

que *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*, et peuvent affecter les hommes et les animaux et provoquer des troubles gastro-intestinaux moins sévères que les fièvres entériques (LOCATELLI, 2013).

I.2.2.5.-*Aspergillus carbonarius*:

I.2.2.5.1.-Habitat préférentiel:

C'est une espèce appartenant à la classe des *Ascomycètes*. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés (LABIOD et CHAIBRAS, 2015) (figure08). Se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air (TABUC, 2007).

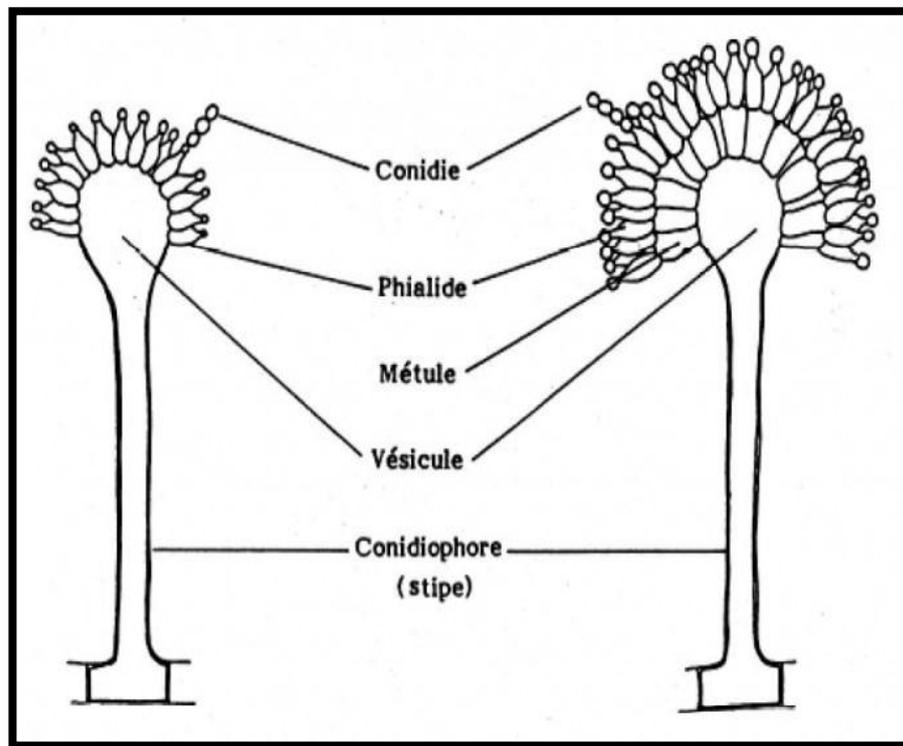


Figure 08:Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus*

(TABUC, 2007).

I.2.2.5.2.-Pouvoir pathogène :

Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses responsable de mycoses pulmonaires (TABUC, 2007). Une exposition à cet agent pathogène peut avoir des conséquences très graves voire même fatales pour les personnes sévèrement immunodéprimées (HALEWYN *et al.*, 2002).

I.2.2.6.-*Penicillium glabrum* :

I.2.2.6.1.-Habitat préférentiel :

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Cette espèce définie essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (figure09). Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales (TABUC, 2007).

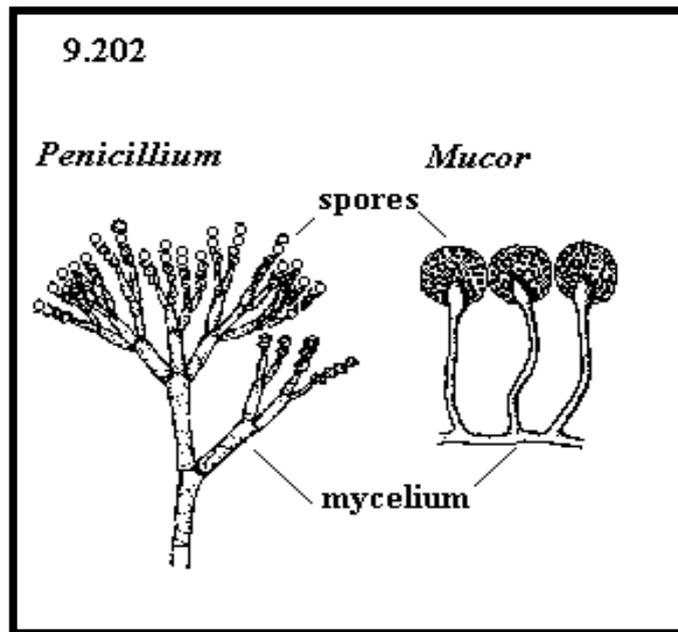


Figure 09:Caractères du thalle de genre *Penicillium*(LOCATELLI, 2013).

I.2.2.6.2.-Pouvoir pathogène :

Les infections sont habituellement provoquées par l'inhalation des spores. Les premiers signes sont souvent pulmonaires. Des espèces de *Penicillium* sont responsables de kératomycose (inflammation de la cornée), d'otomycose (infection de l'oreille externe), d'onychomycose (infection des ongles) et parfois d'infections profondes (TABUC, 2007).

I.2.2.7.-*Candida albicans* :

I.2.2.7.1.-Habitat préférentiel :

Candida est une levure polymorphique (figure10) commensale de la cavité buccale, du tractus digestif (BEUCHER,2007),de l'appareil respiratoire, du vagin (WILLEY,2013).

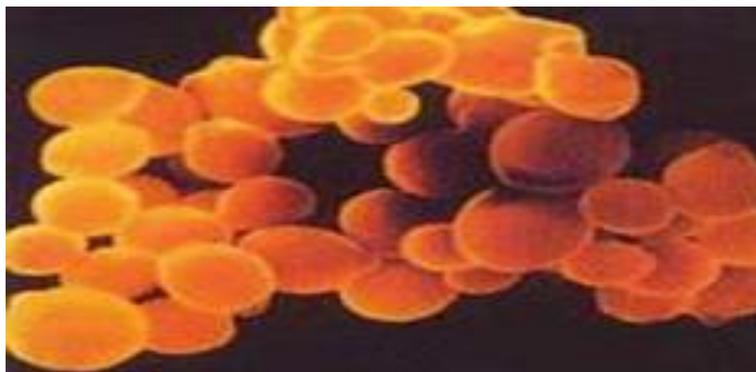


Figure10:*C. albicans* (GX10000) (ROBERT et CURRAN, 2009).

I.2.2.7.2.-Pouvoir pathogène :

Chez les individus sains, ils ne provoquent pas de maladie parce que leur développement est inhibé par les autres micro-organismes et d'autres mécanismes de résistance. Mais si l'équilibre de la flore normale et de l'immunocompétence est perturbé, *candida* peut se multiplier rapidement et provoquer une candidose, les *candida* sont devenus des agents pathogènes nosocomiaux importants(WILLEY,2013).

I.3.-Méthodes d'extraction :

Pour la préparation des différents extraits végétaux nous avons adopté trois méthodes d'extraction. Il s'agit de l'extraction par reflux dans une solution aqueuse de méthanol, la macération à l'eau-dichlorométhane et la méthode de Soxhlet par l'acétate d'éthyle.

I.3.1.-Extraction à reflux :

I.3.1.1.-Principe :

C'est une méthode d'extraction solide-liquide à chaud. Le reflux permet la réalisation d'une extraction à une température constante (température de reflux) égale à la température d'ébullition du solvant. Ainsi le solvant s'évapore et le réfrigérant recondense les vapeurs qui retombent dans le

ballon, permettant au solvant d'être ainsi recyclé. Le chauffage (augmentant solubilité et transfert de matière), l'ébullition (agitation) et le reflux (recyclage du solvant) permettent une extraction efficace avec un appareillage relativement simple. Le chauffage à reflux est utilisé pour extraire efficacement des composés phytochimiques (BONY, 2013).

I.3.1.2.-Mode opératoire :

100 grammes de la poudre végétale est misent dans un ballon de 500 ml capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol (2:1) (2/3 de méthanol et 1/3 d'eau distillée). Le ballon est surmonté par un réfrigérant et fixé à l'aide des pinces et d'un support. Le mélange est porté à ébullition à 50⁰ C pendant 06 heures (figure 11). L'homogénat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotor vapor pendant 2 à 3 heures (figure 12).

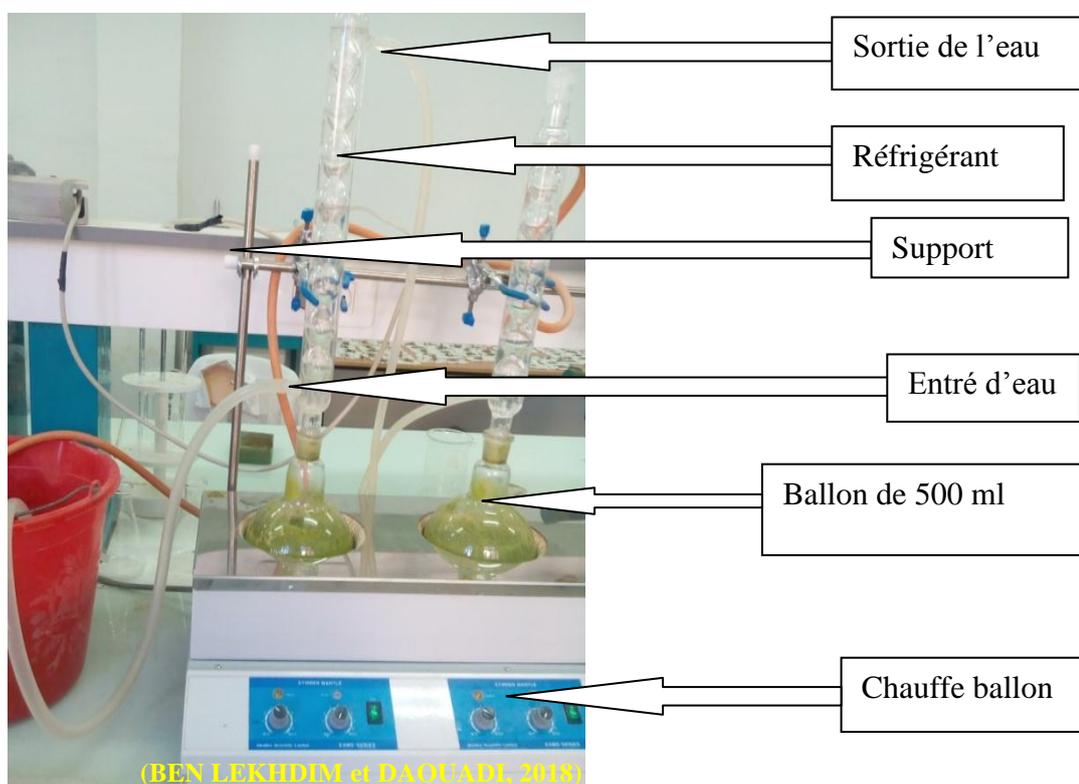


Figure 11 : Montage d'extraction à reflux (Originale, 11 février 2018).

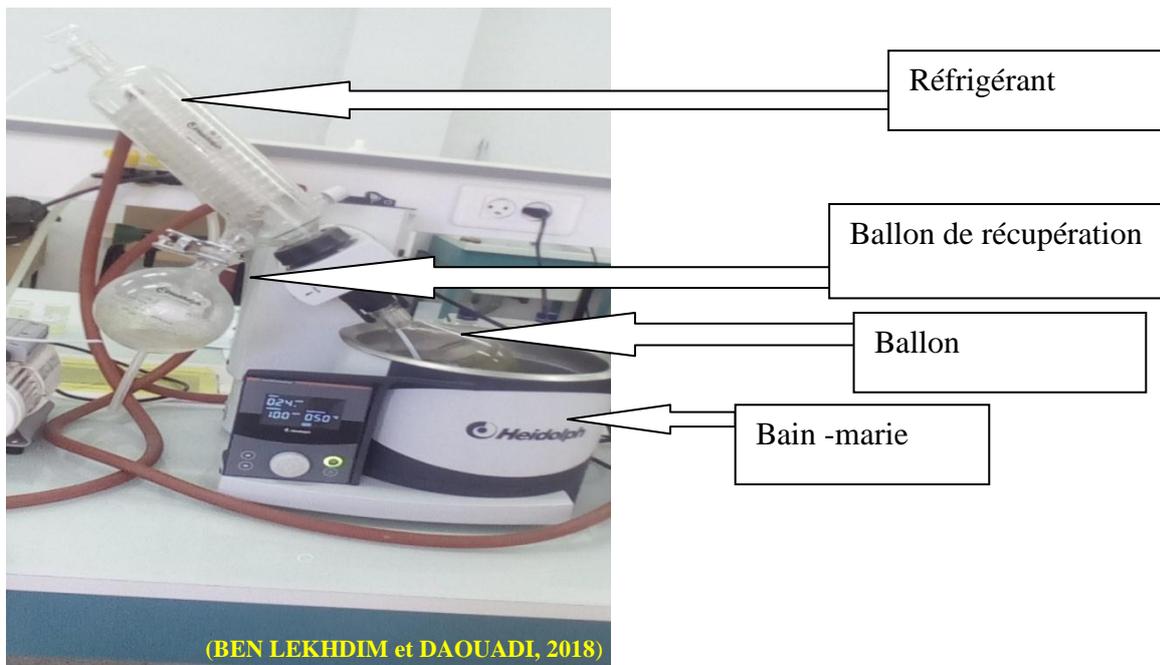


Figure12:Montage d'évaporation (Originale, 12 février,2018) .

I.3.2.-Extraction par Soxhlet :

I.3.2.1.-Principe :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (figure 13). Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant (PENCHEV, 2010).

I.3.2.2.-Mode opératoire :

Placer, dans l'appareil à extraction la cartouche contenant la prise d'essai broyée (25g). Cette dernière est ensuite introduite dans un extracteur de type Soxhlet fixé sur un ballon qui contient 500 ml du solvant et surmonté d'un réfrigérant. Verser dans le ballon la quantité nécessaire (200ml) d'acétate d'éthyl. La température de chauffage est légèrement réglée au-dessus de la température d'ébullition du solvant d'extraction 77°C pendant un temps nécessaire à l'épuisement du végétal.

L'indice d'épuisement de notre échantillon est donné par la clarification du solvant d'extraction dans le siphon du Soxhlet . Après épuisement, nous avons transvasé l'extrait dans un autre ballon puis nous avons concentré à sec l'extrait dans un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température 70°C pour éliminer le solvant.

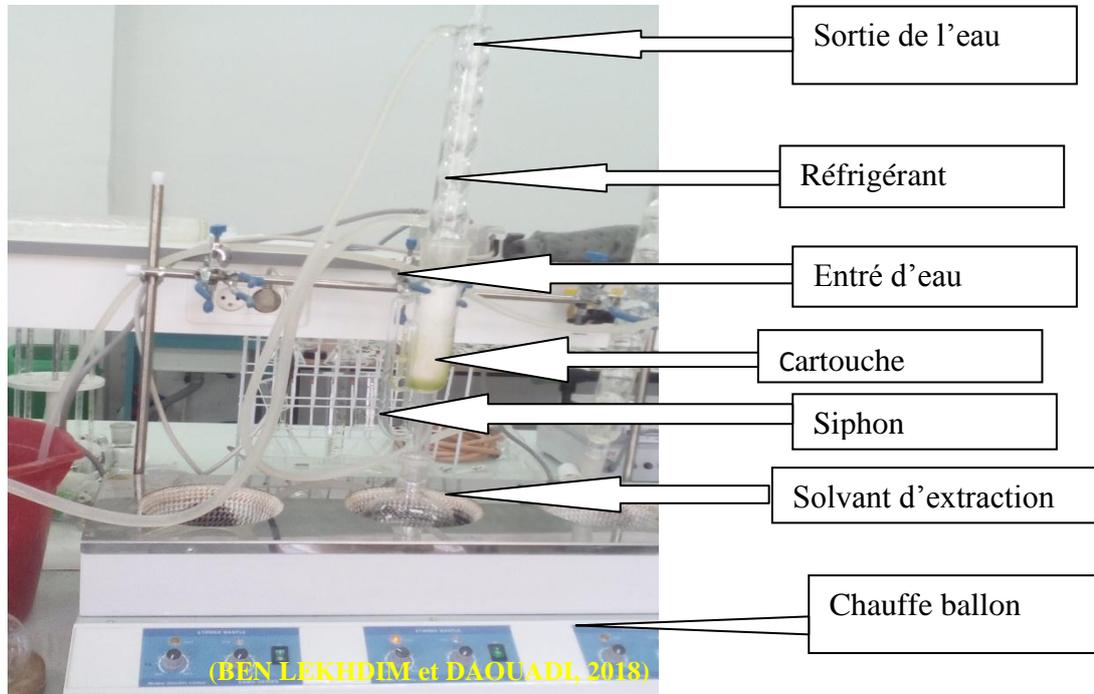


Figure13:Montage d'extraction par Soxhlet (Originale12 février,2018) .

I.3.3.-Macération :

I.3.3.1.-Principe :

La macération consiste souvent à faire tremper les plantes dans de l'eau froide ou autre solvant pendant plusieurs heures. Un solvant est un liquide qui retient les principes actifs de la plante. Il convient de bien sélectionner le solvant en fonction de la plante que l'on utilise(SOPHIE et EHRHART, 2003).

I.3.3.2.-Mode opératoire :

Le poids de la matière végétale séchée est de 50g. Les parties aériennes sont coupées en petits morceaux et macérées dans le dichlorométhane- eau pendant 24 heures. Ensuite la filtration est effectuée sous vide à l'aide d'une fiole à vide et d'un entonnoir. Le résidu sec est jeté alors que le filtrat recueilli est soumis à une évaporation sous vide dans un rotor vapor vide à une température

37°C pour éliminer le dichlorométhane (BOUZIANE,2012) (Figure14).Le produit obtenu est un extrait aqueux qui servira aux tests biologiques.



Figure14 :Extraction par macération(Originale 11 février, 2018) .

I.4.-Etude phytochimique :

I.4.1.-Principe :

En effet, le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux, les composés azotés et les terpénoïdes(YEMOA, 2008).

I.4.1.1.-Recherche des composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grandes polymères complexes .la structure de base est le phénol, un cycle aromatique hydroxylé (HOPKINS, 2003). Ils sont divisés en plusieurs catégories :

I.4.1.1.1.- Les tanins (C_{15})_n :

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuire (HOPKINS, 2003) (Figure15).

I.4.1.1.1.1.- Effet biologique :

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les affections, les insectes et les animaux herbivores en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes, ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques, les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produites au cours de la peroxydation, des radicaux tanniques

plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (LAHMER et MESSAI, 2017). Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie, aussi qu'ils permettent de stopper les hémorragies (HONG, 2001).

De nos jours, on distingue deux catégories de tanins : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (HOPKINS, 2003).

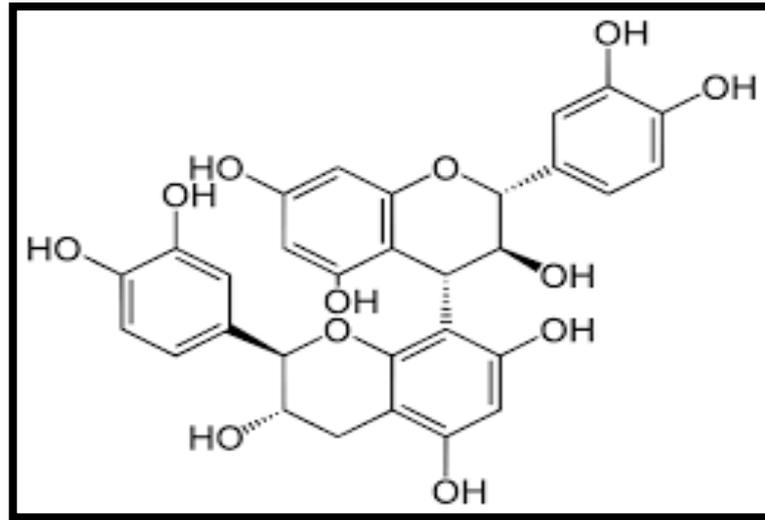


Figure15: Structures des tanins (LAHMER et MESSAI, 2017).

I.4.1.1.2.- Identification des tanins :

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a permis de caractériser les tanins. A 2ml de chaque extrait-nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de (FeCl_3) à (1%).le mélange est incubé pendant 15 min à 50°C . La présence des tanins est indiquée par coloration verdâtre ou bleu-noire (BENDIF, 2017).

I.4.1.1.2.-Les flavonoïdes C6-C3-C6 :

Les flavonoïdes constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle pyranique central C1. Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C (Figure16). Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes. Ces molécules se rencontrent à la fois sous forme libre, mais sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre (SAFFIDINE, 2012), ainsi que les groupes hydroxyles augmentent leur

solubilité dans l'eau, d'autres substitutions tels que les méthyles et les isopentyls, rendent les flavonoïdes lipophiles (LAHMER et MESSAI, 2017).

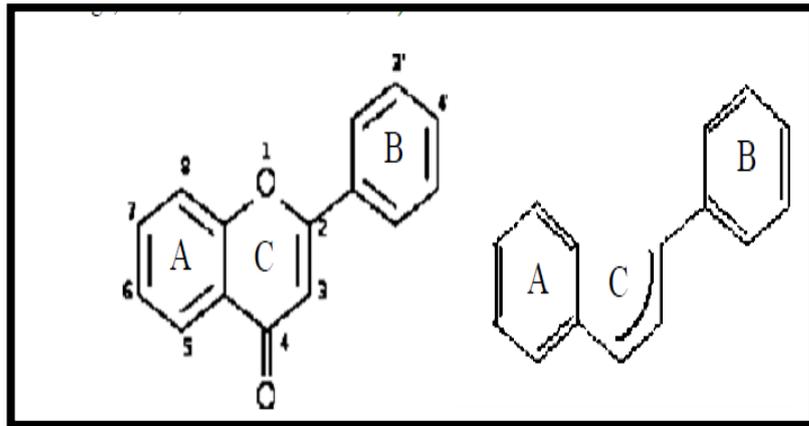


Figure16:Structure de base des flavonoïdes (LAHMER et MESSAI, 2017).

I.4.1.1.2.1.-Effet biologique:

Les flavonoïdes impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Ils agissent comme des pigments ou des co-pigments. Ils peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Ils sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores(HARRAR, 2012).De plus, les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation, le transfert d'énergie, les actions d'hormones de croissance (de plante) et des régulateurs de croissance, le contrôle de respiration et la photosynthèse, morphogénèses et la détermination sexuel(CUSHNIE et ANDREW,2005).On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées:veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, anti-allergique, antispasmodique, hépatoprotectrice, oestrogénique et/ou anti-oestrogéniqueetc.Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires (TOUAFEK, 2010).

I.4.1.1.2.2.-Identification des flavonoïdes :

I.4.1.1.2.2.1.-Test d'anthocyanes :

Le test d'anthocyanes consiste à mettre 2 ml de chaque extrait on ajouter 2 ml d'HCL (2 N) puis 2ml NH₄OH. Une coloration rouge en milieu acide et bleu violacé en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (figure17).

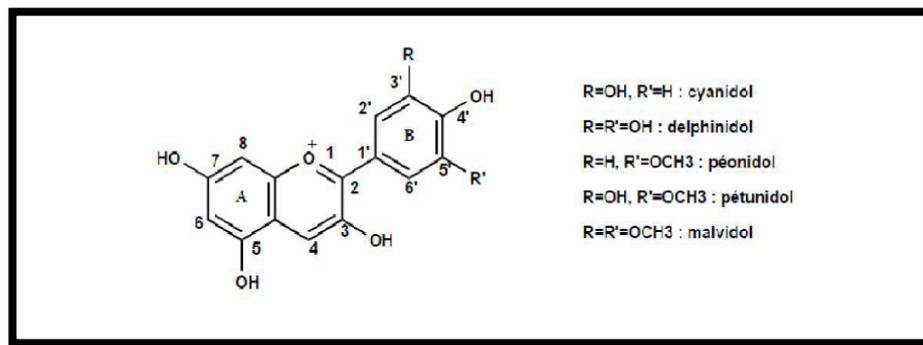


Figure17:Structure générale des anthocyanes (KHOLKHAL, 2013).

I.4.1.1.2.2.2.- Réaction à la cyanidine :

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. 5 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; on ajoute 1 ml d'alcool isoamylique puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageant d'alcool iso-amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). La réaction à la cyanidine sans ajouter de copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge (BELFEKIH *et al.*, 2017).

I.4.1.1.3.-Coumarines C6-C3 :

Les coumarines constituent un groupe de lactones largement répandues, issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique (HOPKINS, 2003) (Figure 18). Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau (KHOLKHAL, 2013).

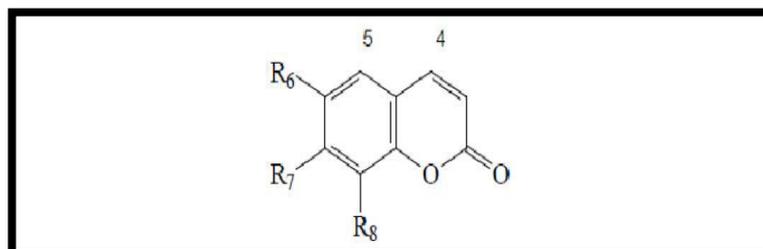


Figure18:Structure de base de coumarine (KHOLKHAL, 2013).

I.4.1.1.3.1.-Effet biologique :

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrane, telles que l'activité antifongique, anti-tumorale, inhibitrice de plusieurs enzymes, antivirale, anti-inflammatoire, anticoagulantes, diurétiques et analgésique. Certaines coumarines présentent également des propriétés anticancéreuses : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (BOUTAOUI, 2012).

D'autres sont utilisées comme antibactérienne (BANAHMED, 2009). Elles possèdent des propriétés antioxydants, qui diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires et elles renforcent leur résistance. D'autres coumarines (aspérule odorante, angélique) stimulent les sécrétions digestives (PIRARD, 2013).

I.4.1.1.3.2.-Identification des coumarines :

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml de chaque extrait placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (DAIRA *et al.*, 2016).

I.4.1.1.4.-Quinones libres :

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones. Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones (Figure 19). Les quinones libres sont solubles dans les solvants organique et insoluble dans l'eau (CHENNI, 2010).

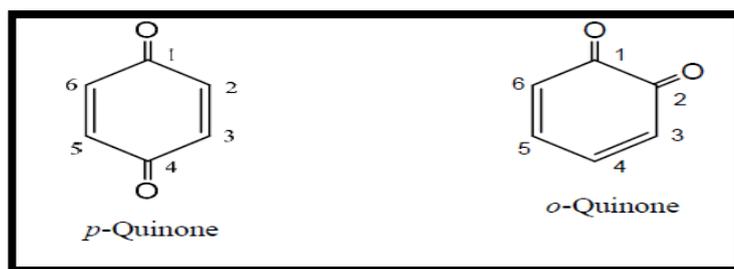


Figure 19: Exemples de structures quinoniques (CHENNI, 2010).

I.4.1.1.4.1.-Effet biologique :

Elles sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connues pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines. Par

conséquent, les quinones inactivent les protéines et altèrent leur fonction. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons et les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, les médicaments et dans les fongicides (KHOLKAL, 2013).

I.4.1.1.4.2.-Identification des quinones libres :

La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH à 1%, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (AISSOUS et BECHARA, 2016).

I.4.1.2.- les composés azotés :

I.4.1.2.1.- Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés, hétérocyclique à caractère basique (Figure20), présentant généralement une intense activité pharmacologique (TOUAFEK, 2010), et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose.

Ils sont détectés par des réactions de précipitation (capacité de se combiner avec des métaux) (BENDIF, 2017). Ce sont pour la plupart, des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (TOUAFEK, 2010).

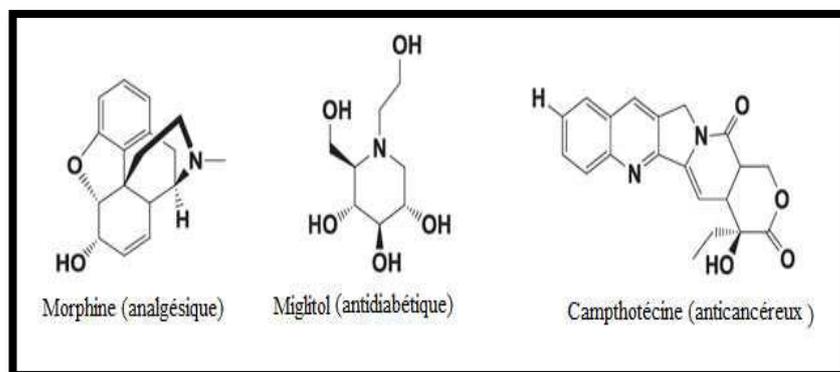


Figure 20: Structure de quelques alcaloïdes (BERREGHIOUA, 2016).

I.4.1.2.1.1.- Effet biologique :

Les alcaloïdes exercent une fonction bien spécifique chez les plantes est encore matière à débats comme pour d'autres produits secondaires, il existe un certain nombre d'arguments en faveur d'un rôle défensif (HOPKINS, 2003). Les alcaloïdes ont une activité biologique et à ce titre, ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Doués de propriétés physiologiques et toxicologiques remarquables (MERATATE, 2013): ils agissent au niveau du système nerveux central qu'ils soient déprimeurs (ex : morphine, scopolamine ;...) ou stimulants

(strychnine, caféine) ou au niveau du système nerveux autonome sympathomimétique (éphédrine) ou sympatholytique(yohimbine) (BENKIKI,2015), antipaludéens(quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substances paralysantes (curare), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mescaline),comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine)(TOUAFEK,2010).

I.4.1.2.1.2.- Identification des alcaloïdes :

Les alcaloïdes ont été caractérisé à partir des réactifs de de Mayer(1,36gHgCl₂ ;5g KI ;eau distillée q.s.p100ml) et de Wagner(2g KI ;1,27g d'iode ;eau distillé q.s.p100ml).l'addition de 5ml d'acide chlorhydrique à (1%) à 1ml de chaque extrait ,ce mélange est chauffé au bain marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux .un volume est traité par 5gouttes de réactif de Mayer, l'autre par 5gouttes de réactifs de Wagnerla formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes(BERREGHIOUA, 2016).

I.4.1.3.-Terpénoides :

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles (HOPKINS,2003), qui constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux (TOUAFEK, 2010).d'une structure basée sur le précurseur isoprène (2-méthyl-but-1-3-diène), selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent on distingue les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes enC₂₀, les triterpènes en C₃₀, les tetraterpènes (C₄₀) et les polyterpènes (C₄₀₀₀) (BOUTAOU,2012). Ce sont des molécules polyéniques qu'on trouve également dans le règne animal (TOUAFEK, 2010).

I.4.1.3.1.-Saponines :

Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau .Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, qui se composent d'une partie lipophile l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse (Figure21) (FAKRAOUI, 2016).

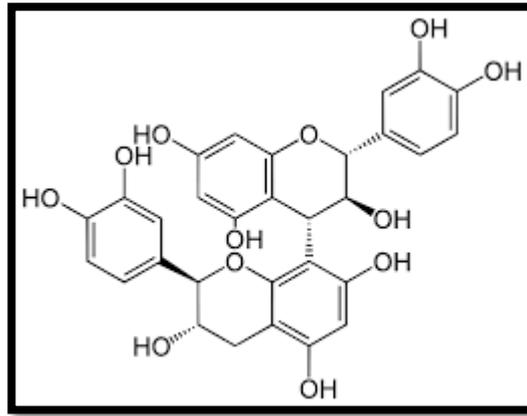


Figure21:Squelette de base des saponines (FAKRAOUI ,2016).

I.4.1.3.1.1.-Effet biologique :

Ces saponines possèdent nombreuses activités biologiques, antalgiques, anti-inflammatoires anticoagulantes(BANAHMED,2009). Les effets des saponosides sur les animaux sont très variables, bien qu'ils ne soient pas particulièrement toxiques pour les mammifères, les saponosides ont un goût amer et acre et provoquent une fois ingérés ,d'importances irritations gastriques .s'ils sont injectés dans le circuit sanguin ,ils provoquent l'hémolyse des globules rouges, c'est là sans doute une conséquence de leur propriétés de détergents et de leur capacité générale à rompre les membranes (HOPKINS, 2003). Les saponines causent un relâchement intestinal, augmentent les sécrétions muqueuses bronchiales et désinfectent les voies urinaires. Elles sont employées comme diurétique et elles possèdent des propriétés cytotoxiques et antitumorales. Les saponines sont aussi connues par leur activité antifongique (BERREGHIOUA, 2016).

I.4.1.3.1.2.-Identification des Saponines :

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant quelques gouttes d'eau à 2 ml de l'extrait, après l'agitation. Après 20 min, la teneur en saponosides est évaluée par l'apparition d'une mousse (BENDIF, 2017).

I.4.1.3.2.-Stérols et polyterpènes :

Les stérols: sont des constituants des membranes végétales et c'est peut être là leur fonction principale chez les plantes .Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal et ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle (TOUAFEK,2010) (Figure22).

Polyterpènes : En général, les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène (plus de C40). Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans. Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien. Charles Marie a créé le mot français caoutchouc à partir de l'expression indienne «cao-tchu », qui signifie « bois qui pleure » qui est un produit naturel qui s'écoule de l'écorce d'un arbre (*Hévéa Brasiliensis*). Il se présente sous la forme d'un liquide d'apparence laiteuse, appelé latex (BERKAL et BOUCHAMA, 2016) (Figure23).

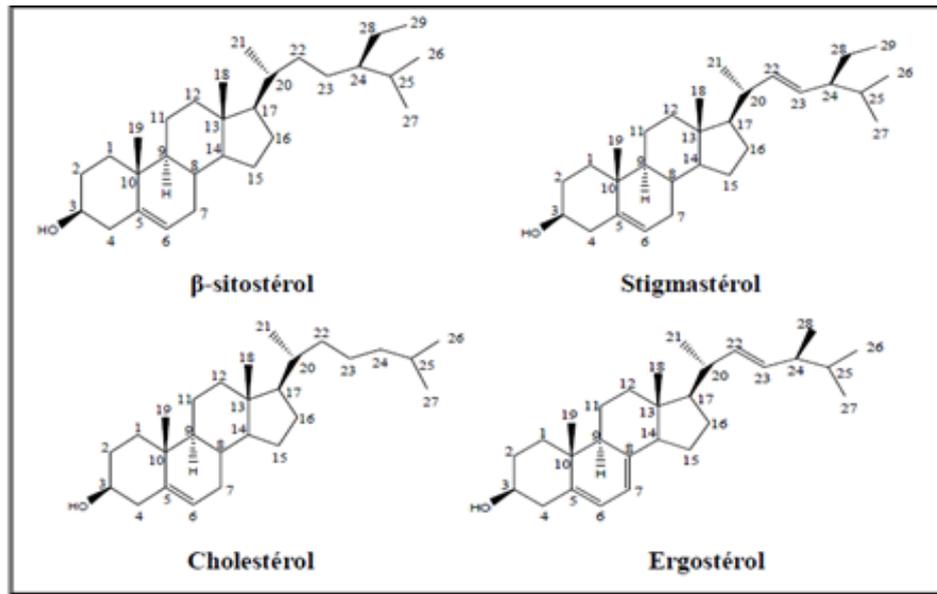


Figure22: Exemple de stérols rencontrés chez le règne végétal et animal

(BOUTAOUI, 2012).

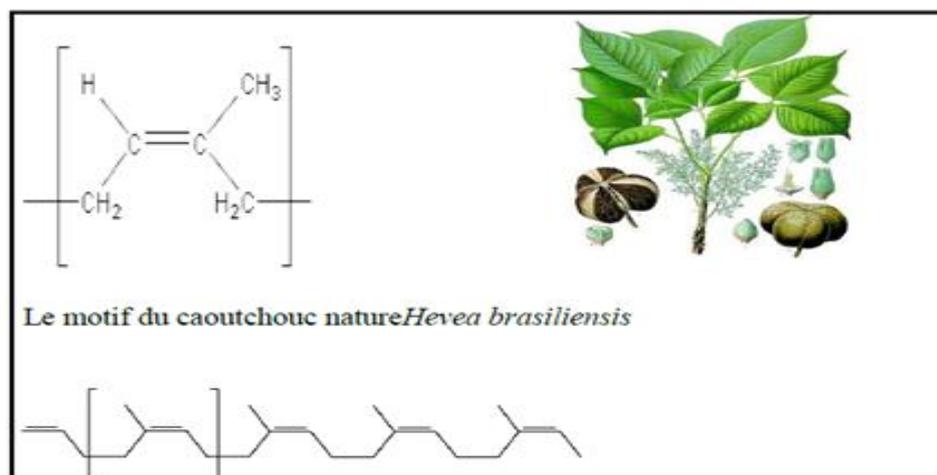


Figure23: Structure de caoutchouc (BERKAL et BOUCHAMA, 2016).

I.4.1.3.2.1.-Effet biologiques :

Le stérol possède une propriété de pouvoir s'assembler les distingués des phospholipides, ils ont donc à augmenter la viscosité et à stabiliser les membranes. Quelques stérols pourraient exercer une fonction de protection (HOPKINS,2003).

Le cispolyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien (HARKATI,2011), sur le plan thérapeutique, ces composés n'ont pas des activités biologiques discutées (AYAD,2008).

I.4.1.3.2.2.-Identification des stérols et polyterpènes :

Ont été recherchés à partir de 10 ml de filtrat. Ce dernier évaporé à sec sur bain de sable, le résidu sec est dissous dans un mélange de 1 ml d'anhydride acétique et 1 ml de chloroforme et ensuite partagé entre deux tubes. L'un servant de témoin et le second contenant préalablement 1 à 2 ml de H₂SO₄ concentré. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette à la couche surnageante révèlent la présence des stérols et des polyterpènes (HADJADJ, 2017).

I.4.1.3.3.-Stéroïdes :

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, ils sont synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. Les stéroïdes qui possèdent un groupement alcool, ce qui est le cas chez pratiquement toutes les plantes (HOPKINS,2003) (figure 24).

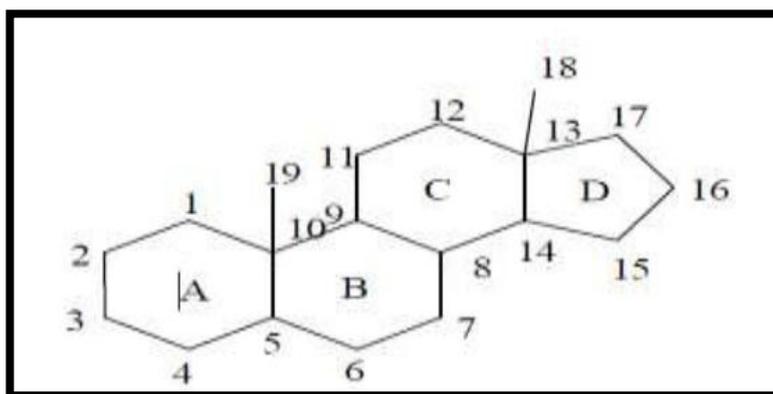


Figure 24: Structure de squelette de noyau stéroïde (GUEDDA et KOULL, 2017).

I.4.1.3.3.1.-Effets biologiques :

Les stéroïdes servent à la synthèse des hormones et des vitamines pro-A, B1, B2, C, D et K (HONG,2001). Les stéroïdes sont des substances allélochimiques ayant une action répulsive ou toxique spécifique aux plantes (DA CONCEICAO, 2010).

I.4.1.3.3.-Identification des stéroïdes :

La recherche des stéroïdes est réalisée par l'ajout de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de chaque extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (DAIRA *et al.*, 2016).

I.4.1.3.4.- les glycosides Cardiaques :

I.4.1.3.4.1.-Effets biologiques :

Les hétérosides cardiotoniques exercent leur activité sur le cœur à plusieurs niveaux: force et vitesse de contraction, fréquence, conductibilité. Ces effets se traduisent par des modifications électrocardiographiques couramment observées au cours du traitement: augmentation de la contractilité (BRUNETON, 1993).

I.4.1.3.4.2.-Test des glycosides cardiaques :

2 ml de chaque extrait a été dissous avec 2 ml de chloroforme et d'acide sulfurique concentré a été ajoutée avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde indique la présence de glycosides cardiaques (BOUKRI, 2014).

I.4.1.4.-Test des huiles volatiles :

Sont des composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur, les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) de ces composants (BERREGHIOU, 2016).

I.4.1.4.1.-Effet biologiques :

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs. Les huiles essentielles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales et antiparasitaires. Dû leurs vaste utilisation dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique. Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (BERREGHIOU, 2016).

I.4.1.4.2.-Identification des huiles volatiles :

Leur détection consiste à ajouter à 2 ml d'extrait 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (10%) et leur détection consiste à ajouter à 2 ml d'extrait 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (10%) et quelques gouttes de HCl dilué a 10%, la formation d'un précipité blanc indique la présence d'huiles volatiles (BOUKRI, 2014).

I.4.1.5.- Composés réducteurs :

I.4.1.5.1.- Identification des composés réducteurs :

Pour rechercher des composés réducteurs, nous avons versé 1 ml de chaque extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffé. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (BADEREDDINE et MOUSSAOUI, 2014).

I.5.-Activité antimicrobienne:

Les tests de l'activité antimicrobienne des extraits de *Péganum harmala* ont été réalisés à l'Hôpital Metlili et au laboratoire de l'université de Ghardaïa.

I.5.1.-Principe :

L'objectif de ce test est de déterminer parmi les extraits préparés celui qui a la plus grande activité inhibitrice des bactéries (Gram-positif et Gram-négatif) et champignons ainsi que la levure. L'activité antimicrobienne des extraits hydro-dichlorométhanique, hydro-méthanolique et extrait d'acétate d'éthyl était testée in vitro par la méthode de diffusion des disques en milieu solide. Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de disques imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. La présence de l'activité antimicrobienne, se manifeste par l'apparition d'une zone circulaire transparente autour du disque qui correspond à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible.

I.5.1.1.- Mode opératoire :

❖ Stérilisation du matériel :

L'eau physiologie, les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions microbiennes (inoculum) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

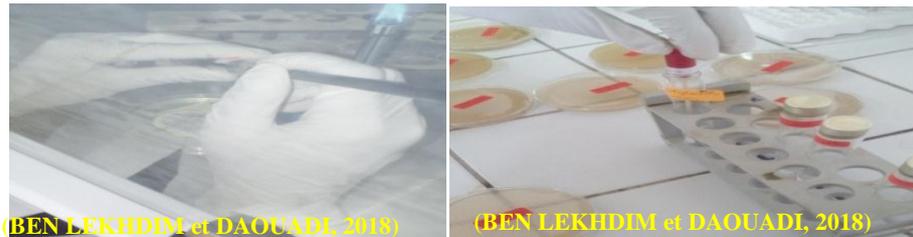
❖ Repiquage des espèces microbiennes:

Les tests de l'activité antimicrobienne doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches s'effectue par ensemencement de l'espèce bactérienne dans le gélose nutritive. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de pétri contenant le milieu sabouraud puis incubée à 25°C pendant 72 heures pour les champignons.

On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches microbiennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile(Figure25).



. a-Prélèvement des colonies.



b-Déchargement les colonies dans des tubes d- Tubes d'enrichissement

Figure25:Etapes de la préparation de l'inoculum (Originale, 2018) .

❖ Préparation du milieu :

Les milieux de cultures sont fondus au bain-marie à 80°C, ensuite sont coulés aseptiquement dans 90 boites de pétri pour former des couches de 5mm d'épaisseur, puis on laisse refroidir les boites de pétri progressivement(Figure26) .



a-Fondre les milieux au bain -marie

b-Remplissage des boites de pétri



c-Refroidissement de milieu de culture

Figure26:Etapes de préparation de milieu de culture (Originale, 2018).

❖ **Inoculation :**

L'inoculation est réalisée par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface Mueller Hinton, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois (Figure 27)



Figure 27: Version d'inoculum (Originale, 2018).

❖ **Préparation des dilutions :**

Les extraits sont préparés à différentes concentrations 0%, 25%, 50%, 75% et 100% on fait des dilutions qui sont dissoutes dans l'eau distillée stérile.

❖ **Préparation des disques :**

Des disques (patches) de 5 mm de diamètre ont été découpés sur du papier Watman n°1 puis séchés sur une lampe UV pendant 15 min. À l'aide d'une pince stérile et sous une hotte bien propre et stérilisée, les disques ont été déposés sur la surface du milieu ensemencé, et rapidement à l'aide d'une micropipette les disques sont chargés par 10 µl de chaque concentration préparée précédemment (Figure 28).

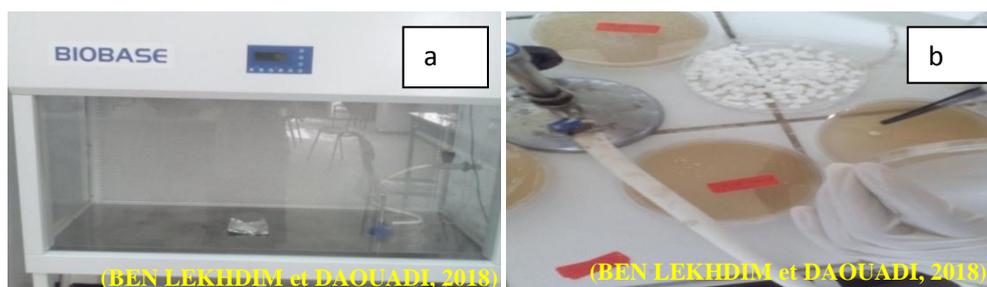


Figure 28: a -Séchage des disques sur une lampe UV ; b-Dépôt des disques (originale, 2018).

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques Ofloxacine (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Watman imprégnés de l'acétate d'éthyle pour l'extrait d'acétate d'éthyle et l'eau pour les autres extraits (témoin négatif). Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées.

❖ Analyse des données (lecture) :

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte.

❖ Diamètre d'inhibition et signification :

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse à l'extérieur de la boîte :

Diamètre <5mm: absence d'activité.

Diamètre entre 5 et 10mm: activité faible.

Diamètre entre 10 et 16 mm: activité moyenne.

Diamètre \geq 16mm: activité très forte.

I.6.-Analyse statistique :

Les traitements des données obtenues font appel à des approches statistiques. Les résultats obtenus pour chaque paramètre seront interprétés statistiquement à l'aide du logiciel Statistica version 2011. L'analyse de la variance ANOVA permet suivant le niveau de la signification et déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs. La probabilité inférieure à 0,05 donne un effet significatif et pour une probabilité supérieure à 0,05, il est considéré que l'effet n'est pas significatif.

Chapitre II-

Résultats et discussion

Les tests phytochimiques permet d'expliquer le pouvoir antimicrobiens observé chez les souches testées, il consiste à déterminer les différents groupes chimiques contenus dans *Peganum harmala* L. à partir des trois extraits (Hydro-méthanolique (Reflux), Hydro-dichlorométhanique (Macération) et d'acétate d'éthyl (Soxhlet).

II.1.-Tests phytochimiques sur *Peganum harmala* L. :

Le tableau 01 montre le résultat de screening phytochimiques effectué sur leurs parties aériennes et ceci par une caractérisation qualitative.

Tableau 01- Caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de la partie aérienne de *Peganum harmala*.

Les classes des métabolites	Groupes chimiques		Extraits		
			Hydro-méthanolique (Reflux)	Hydro-dichlorométhanique (Macération)	Par acétate d'éthyl (Soxhlet)
Composés phénoliques	Tanins	Galliques	-	-	-
		Catéchiques	-	-	-
	Flavonoïdes	Anthocyanes	-	-	-
		Cyanidine	-	-	-
	Coumarines		-	++	-
	Quinones libre		-	+	-
Composés Azotés	Alcaloïdes	Mayer	+++	+++	+++
		Wagner	+++	+++	+++
Terpenoïdes	Saponosides		-	-	-
	Stéroïdes		++	++	+
	Stérols et Polyterpènes		-	-	-
	Huiles volatiles		-	-	-
	Glucoside cardiaques		-	-	++
Oses	Composées réducteur		-	-	+++

Ces tests ont montrés que les principaux composés majeurs présents en grande quantité sur les trois extraits sont les alcaloïdes.

Les stéroïdes présentent beaucoup plus dans l'extrait Hydro-méthanolique (Reflux) et Hydro-dichlorométhanique (Macération) que dans acétate d'éthyl (Soxhlet). ce retenue est indiqué par l'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert.

Les composés réducteurs sont fortement présents dans l'extrait d'acétate d'éthyl (Soxhlet) par la formation d'un précipité rouge brique.

Les coumarines et quinones libre sont présents uniquement dans l'extrait hydro-dichlorométhanique (Macération).

Les métabolites secondaires de type glycosides cardiaques sont présent dans l'extrait d'acétate d'éthyl uniquement.

Une absence totale des tanins, flavonoïdes, saponosides, Stérols et Polyterpènes dans les trois solvants utilisés est enregistrée.

La constatation de la présence d'alcaloïdes est appuyée par (EL ALLAGUI *et al.*, 2006) qu'ils indiquent que parmi les espèces suivants (*A.gummifera*, *C.siliqua*, *O.natrix*, *T.patula*, *Peganum harmala*) l'espèce *Peganum harmala* est particulièrement riche en alcaloïdes. Ceci est retenue à la toxicité de cette plante (BEHIDJ-BENYOUNES *et al.*, 2013). Ces composants possèdent une activité Analgésique, antioxydante et Anti-inflamatoire. On leur attribue aussi certaines propriétés antiallergiques, antiparasitaire et effet pesticide (SEPIDEH, 2016).

Selon MAHDEB *et al.*, (2013) les alcaloïdes dans les grains de *Peganum harmala* présentent un effet hémolytique sur érythrocytes de chèvres, bétail et mouton par l'interaction d'alcaloïdes avec les composés des membranes d'érythrocytes de ces animaux. Ainsi les alcaloïdes inhibent la croissance et la prolifération des cellules tumorales avec puissances variables (SEPIDEH, 2016). L'alcaloïde est un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes, la nicotine empêche la croissance des larves du tabac (MUNIZ, 2006).

La plante entière est riche en alcaloïdes de type β -carboline tels que: l'harmine et l'harmaline. Ces derniers sont présent également dans une autre espèce du même genre telle que: *Peganum nigellastrum* L. (SASSOUI, 2015) (Figure 29).

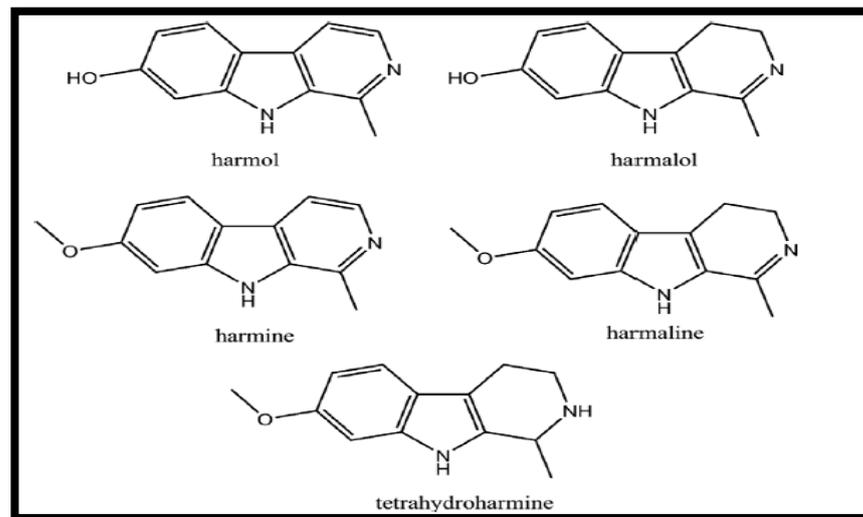


Figure29: Structure de β -carboline dans différent parts de *Péganum harmala*

(HERRAIZ *et al.*, 2010).

Les stéroïdes présentent une large propriétés pharmacologiques comme l'activité antimicrobiennes, antipaludique et insecticides (FAN *et al.*, 2015). Les stéroïdes des plantes ont une action sur les reins par amélioration du débit sanguin. Cette action augmente la filtration glomérulaire qui aboutit à accroître la sécrétion urinaire. Ce qu'il explique l'effet diurétique (MAKHLOUFI, 2010).

L'existence des composés réducteurs est accord avec ceux obtenus par BENBOTT et ces collaborateurs en 2013, où l'étude phytochimique faite sur l'extrait éthanolique de diverses parties de la plante, a donné des résultats positifs pour les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, et des résultats négatifs pour les coumarines et anthraquinones (BENTABET-LASGAA, 2014). Le contenu de *Peganum harmala* L. en composés réducteurs peut être le raison de l'effet antioxydant élevé de *Peganum harmala* L. (MAKHLOUFI, 2010).

Concernent Les coumarines et quinones libre, Une espèce de la même famille est connue par sa richesse en coumarines ; *Zygophyllum geslini* Coss (MEDJDOUB, 2006). Le coumarine est connue pour ses propriétés anti-oedémateuses a fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés, ils sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires, ils ont une activité antiperoxydante (DAIRA *et al.*, 2016). Les quinones libre stimulent le péristaltisme de l'intestin grêle et augmentent les mouvements péristaltiques du côlon (DAIRA *et al.*, 2016). Cet résultat est similaire avec ceux de BEHIDJ BENYOUNES et ces collaborateurs en 2013, en plus la présence des tannins catéchétiques, flavonoïdes, leuco anthocyanes, saponosides et bien sur les

alcaloïdes et les stéroïdes en commun, où l'étude phytochimique faite sur l'extrait aqueux éthanolique et hexanique des feuilles de *P. harmala*.

Les glucosides cardiaques comme la digitoxine, la digoxme et la convallotoxine ont une action directe et puissante sur le cœur, ils aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ces glucosides sont également diurétiques Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires (HONG, 2001).

Pour l'absence totale des tanins, flavonoïdes, saponosides, stérols et polyterpènes. Ces résultats diffère à ABIDI et NAHAL(2016) où tous les tests sont positifs sauf les stérols et Polyterpènes sont négatives. La variation qualitative de la composition chimique des extraits de *p. harmala* peut être expliqué par l'influence des facteurs externes : la nature de sol, état de croissance (BENDIF, 2017). Les agents pathogènes, la température, la lumière et le taux d'humidité (AFIF CHAOUICHE, 2015), cette variation dépend aussi du fond génétique (BENDIF, 2017).

L'extrait hydro-dichlorométhanique constitué des coumarines, quinone libre, alcaloïdes et stéroïdes . ces résultats présentent une légère similitude avec BOUABEDELLI *et al.*,(2016). La différence concerne la présence d'autres composés tels que antraquinones, saponines, tannins et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique et aqueux des grains de *Peganum harmala* L. récoltée à Tiaret(BOUABEDEL *et al.*,2016).

II.2.-Activités antimicrobiennes :

Dans cette partie, les extraits obtenus par des solvants de polarités différentes, de la partie aérienne de *Peganum harmala* ont été testés contre une gamme de microorganismes (*Escherichia coli* (ATTC25922),*Staphylococcus aureus* (ATTC25923), *Pseudomona aeruginosa*(27853), *Salmonella* sp, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium glabrum* et *Candida albicans* (ATCC 26790).Le diamètre d'inhibition est mesuré au bout de 24 h pour les bactéries et 72 h pour les champignons .

Afin de testé l'activité antimicrobienne on a préparé différentes dilutions pour chaque extrait.

Tableau02 : Les différentes concentrations des trois extrait (Originale, 2018)

Extraits	Reflux	Macération	Soxhlet
100%	280mg/ ml	100mg/ ml	20mg/ml
75%	210mg/ml	75mg/ml	15mg/ml
50%	140mg/ml	50mg/ml	10mg/ml
25%	70mg/ml	25mg/ml	5mg/ml

II.2.1.-Activité des extraits sur les bactéries testées :

Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries en présence des différentes concentrations des extraits et en présence d'un témoin positif (Antibiotique Ofloxacin) sont consignés dans la figure30.

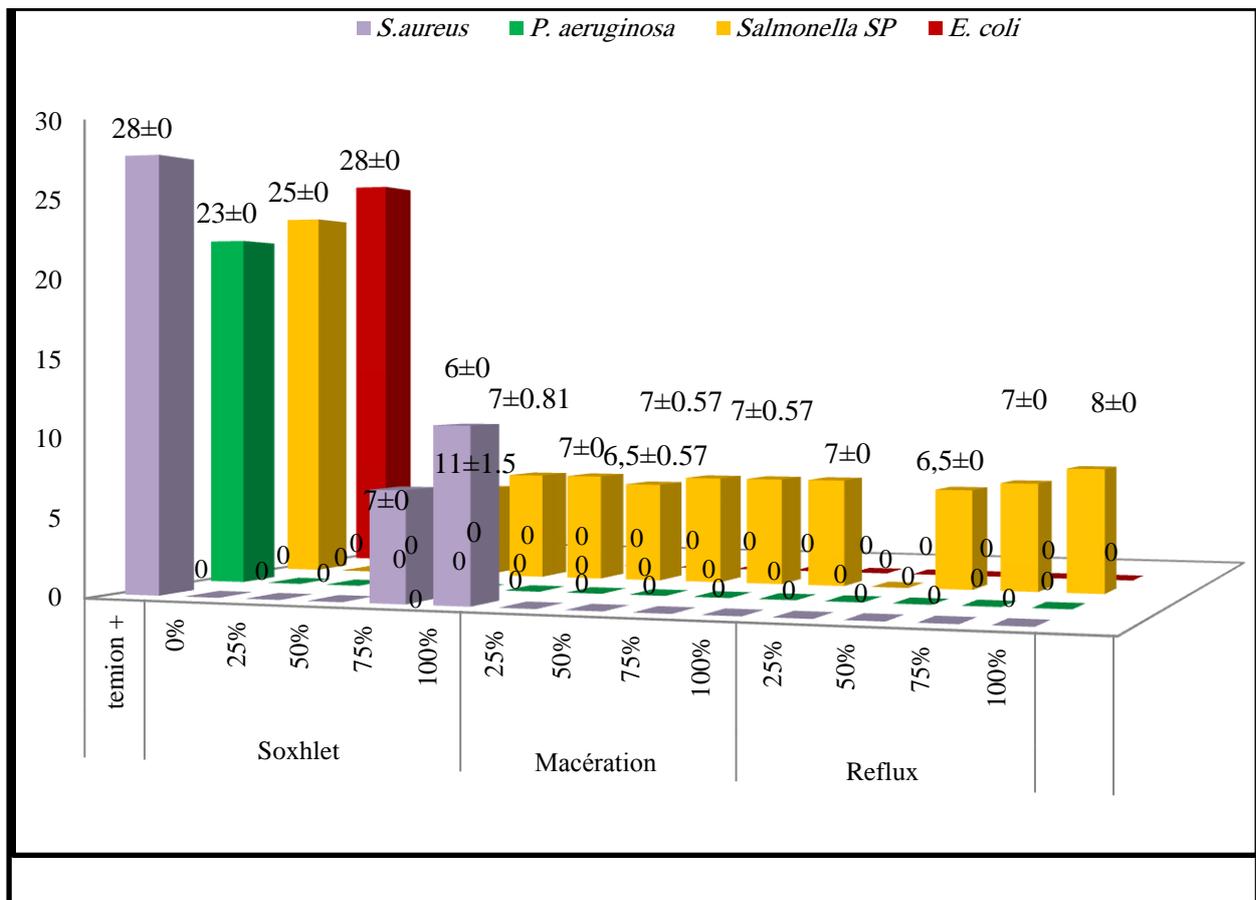


Figure30 : Effet inhibiteur des trois extraits de *Peganum Harmala L.* sur les souches bactériennes.

Les souches *E. coli* et *P. aeruginosa* manifestent comme des souches résistantes à tous les extraits. Concernant *Staphylococcus aureus* l'extrait d'acétate d'éthyl (Soxhlet) présente une inhibition uniquement aux fortes concentrations 100% et 75% avec des zones d'inhibition de 11 ± 0 mm et 07 ± 0 mm respectivement. Pour l'extrait hydro-méthanolique (reflux) il y a une faible inhibition à des trois concentrations premiers contre *Salmonella sp* (100%, 75% et 50%) les zones d'inhibition mesurées entre $6,5 \pm 0$ mm et 8 ± 0 mm aussi que dans l'extrait dichlorométhanique (Macération) et d'acétate d'éthyl (Soxhlet) dans lequel les zones d'inhibition varient entre 6 ± 0 et 7 ± 0 mm.

La résistance de *E. coli* et *P. aeruginosa* peut être due à modification de la cible de ces souches par des facteurs génétiques (DARABPOUR, 2011). Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par BEHIDJBENYOUNES *et al.*, (2013). Ils affirment que *E. coli* et *P. aeruginosa* sont très résistantes à l'extrait des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala*. La résistance de *P. aeruginosa* peut impliquer à des infections nosocomiales (OUIBRAHIM, 2014).

(ATTOU, 2010 ; BEDDOU, 2015) montrent que ces résultats peuvent être expliqués par l'absence des molécules fortement antibactériennes soit la faible capacité des composés antibactériens présents dans différents extraits.

Pour *S. typhimurium*, KHADEMALHOSSEINI *et al.*, (2015) affirment que l'extrait méthanolique des grains de *Peganum harmala* a été enregistré une zone d'inhibition maximale de 24.0 mm à 500 mg/ml.

La sensibilité de *Staphylococcus aureus* peut être attribuée à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et ceux à Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positives est constituée d'une seule couche, alors que la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Figure 31) (LAHMER et MESSAI, 2017).

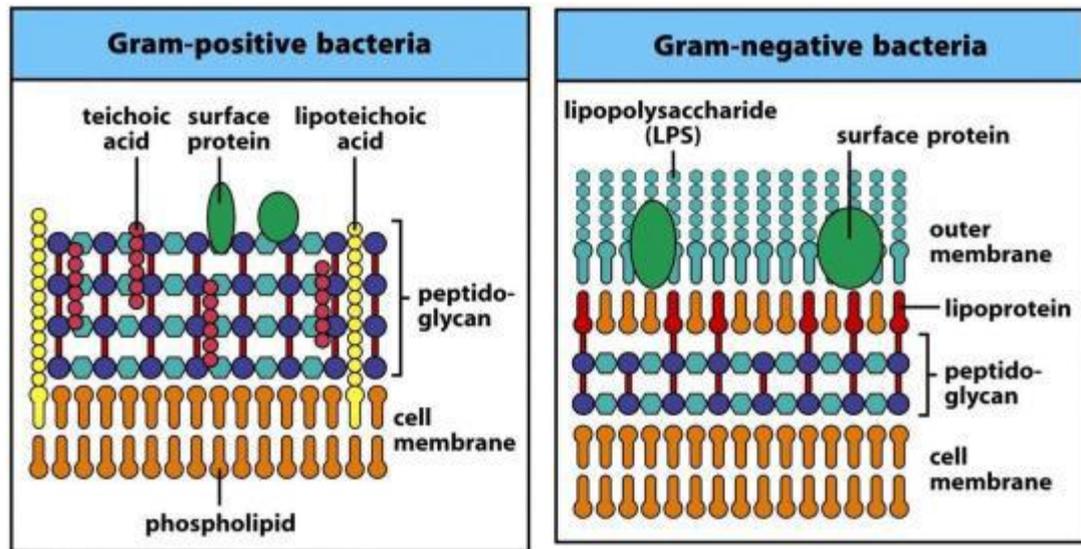


Figure 31 : La différence entre les parois bactéries à Gram+ et des bactéries à Gram-

(LAHMER et MESSAI, 2017).

L'activité des agents antimicrobiens sur les bactéries gram positif peut s'expliquer par l'accessibilité directe de ces molécules aux peptidoglycanes constituant la paroi, provoquant ainsi la dissolution complète de cette dernière. Les bactéries perdent alors leur rigidité et se lysent sous l'effet de leur pression osmotique interne qui rompt leur membrane cytoplasmique (BERREGHIOUA, 2016). Parmi les hypothèses avancées sur la sensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* due à la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe. Elle est la cause d'un certain nombre de maladies qui affectent les êtres humains et les animaux (BERREGHIOUA, 2016).

LIKEWISE *et al.*, (2012) ont rapporté que un effet inhibiteur d'extrait d'alcaloïdes des grains de *P.harmala* contre certain gramme positive comme *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et autre bactérie gramme négative avec diamètre de zone d'inhibition varié entre 11 et 22mm.

L'activité antibactérienne peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes, qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, soit par la chélation des ions métalliques (tels que le fer) et l'emprisonnement des substances nécessaires à la croissance des bactéries (LAHMER et MESSAI, 2017).

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 (HARRAR,2012).

L'augmentation de l'activité antibactérienne des différentes parties de *P. harmala* a été observée aux concentrations plus hautes. Cela peut être dû à une forte concentration d'alcaloïdes. Ces métabolites ont la capacité de réagissent avec l'ADN des microorganismes (BENBOTT *et al.*,2012).

D'après tous les résultats exposés au paravent et les effets inhibiteurs remarquables des produits actifs étudiés sur les bactéries, ces valeurs restent moins importantes à ceux définis avec l'antibiotique Ofloxacin.

II.2.2.-Activité des extraits sur les champignons :

Les résultats de l'effet biologiques des extraits à différentes doses sur les champignons , sont présentés dans la figure32.

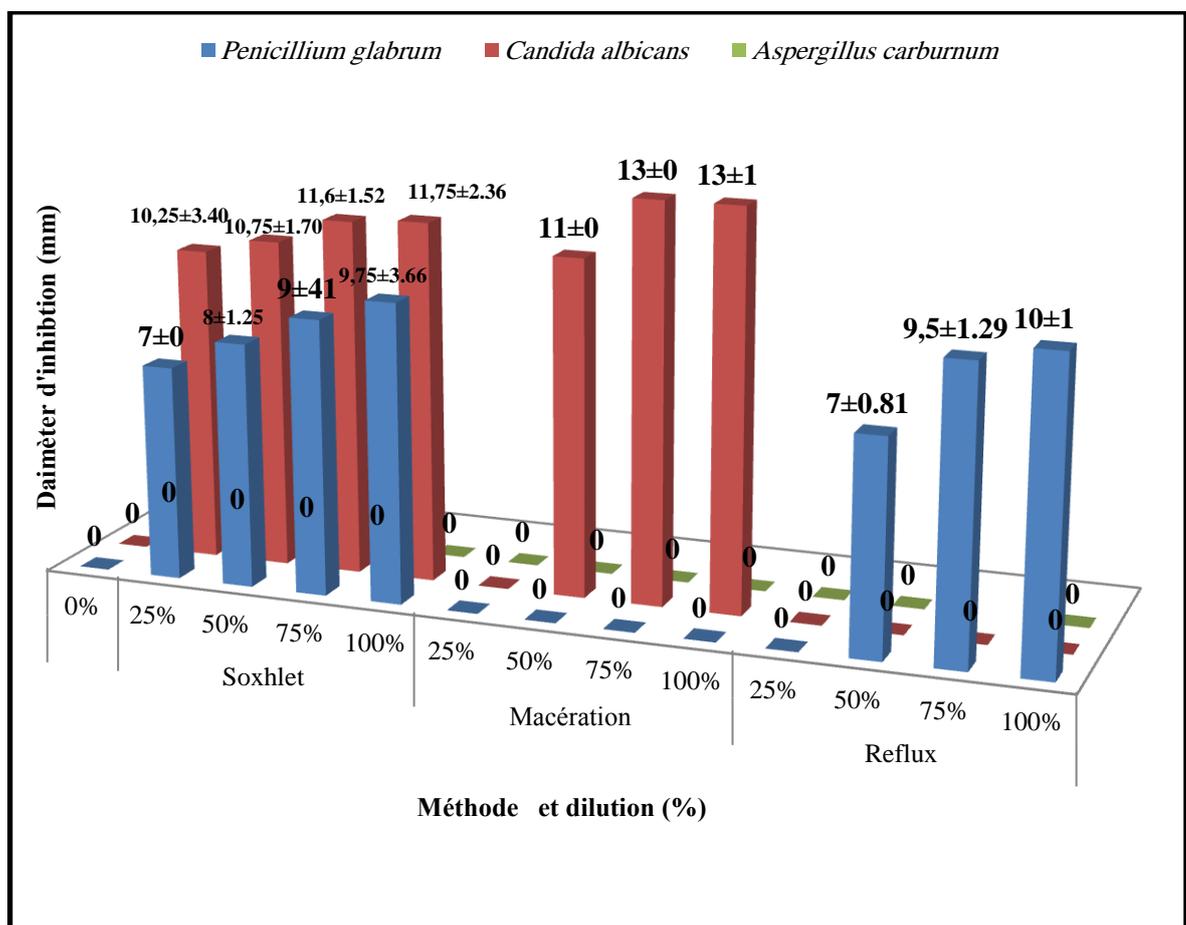


Figure32 :Activité antifongique des trois extraits de *P.harmala*.

L'effet inhibiteur le plus puissant est obtenu par l'extrait hydro-dichlorométhanique (Macération) sur *Candida albicans*, où la grande zone d'inhibition est de 13 ± 1 mm et 11 ± 0 mm avec les dilutions 100% et 75% respectivement. Ainsi une action inhibitrice considérable sur cette levure (*Candida albicans*) dans l'extrait d'acétate d'éthyle (Soxhlet) dans lesquelles les zones d'inhibition varient entre $10,75 \pm 3,40$ mm et $11 \pm 2,36$ mm. Les extraits de harmal sont inactifs face à *Aspergillus carbonarius*. Les extraits d'acétate d'éthyle (Soxhlet) et d'eau /méthanol (reflux) ont un potentiel antifongique contre *Penicillium glabrum* entre 7 ± 0 mm et 10 ± 1 mm (Figure 33).



Figure 33: Exemple d'effet des différents extraits sur *Penicillium glabrum* (Originale, 2018)

L'activité de l'extrait hydro-dichlorométhanique contre *Candida albicans* serait due à la présence des alcaloïdes et des composés quinoniques (LASGAA, 2014). En effet, les composés terpéniques et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes lient avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures. Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique (GOUDJIL, 2016).

Le résultat de la résistance d'*Aspergillus carbonarius* peut expliquer que ce type de champignon peut dégrader les composés phénoliques qui leur servent alors de substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance (BOUMAZA, 2009).

Ces résultats sont confirmés par BEHIDJ-BENYOUNES *et al.*, (2013) mentionnent que l'extrait d'alcaloïdes des feuilles donne une zone d'inhibition de $10,33 \pm 0,33$ mm pour l'extrait aqueux, $11,00 \pm 0,57$ mm pour l'extrait éthanolique et l'extrait hexanique.

L'efficacité de l'extrait d'acétate d'éthyle(Soxhlet) et d'eau /méthanol (Reflux) contre *Penicillium glabrum*, montre Cette plante pourrait être exploitée comme une source d'agents antifongiques naturels et offre une alternative de lutte biologique contre cette infections fongiques des plantes.Plusieurs chercheurs attribuent que les stéroïdes (BOUGANDOURA et BENDIMERAD, 2002) et le β -carboline tel que harmine et harmaline provoquent l'inhibition totale de croissance mycélienne de *Penicillium*(DIBA *et al.*,2011).

Cependant, les coumarines sont observés comme des phytoalexines et sont des moyens de défense utilisés par les plantes contre les champignons pathogènes.Les mécanismes de l'action antifongique des coumarines sont très complexes. Il a été démontré que les coumarines induisent des changements morphologiques au niveau de la matrice mitochondriale pour la rendre plus dense. Ces changements dans la structure mitochondriale peuvent provoquer un manque d'énergie intracellulaire,inhibant ainsi la mitose (MOHAMMEDI, 2013).

Le pouvoir antifongique était essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire. D'autres auteurs ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde induit un changement de l'état ionique de la membrane traduisant par un déséquilibre d'échange avec le milieu extérieur. Ce déséquilibre entraîne la mort cellulaire (OUIBRAHIM, 2014).

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus par BEHIDJ-BENYOUNES *et al.*,(2013) n'ont pas dépassé25 mm, ils se rapprochent de nos résultats et reflètent le potentiel antimicrobienne modéré à faible des extraits de *Peganum harmala*.

Les résultats obtenus ont indiqué l'existence de composés antimicrobiens dans les trois extraits testés, et la différence d'activité antimicrobienne entre ces différents extraits issues de *Peganum harmala L.* pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chaque fraction. En effet, il existe des différences de solubilisation des composés phénoliques dans les solvants polaires ou apolaires, au cours de l'extraction liquide-liquide, les phytomolécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. On pourrait en déduire que les substances antibactériennes contenues dans la partie aérienne de *Peganum harmala L.* sont plus solubles dans l'acétate d'éthyle que dans les autres solvants utilisés (SAFFIDINE,2015).

II.3.- Analyse statistique :

II.3.1.-Effet de la méthode d'extraction :

L'analyse statistique montre concernant l'effet de méthode d'extraction, une différence significative dans les valeurs des diamètre d'inhibition, cette résultat est montrée par la valeur de p inférieur à 0.05 est égal 0.00849(figure 34).

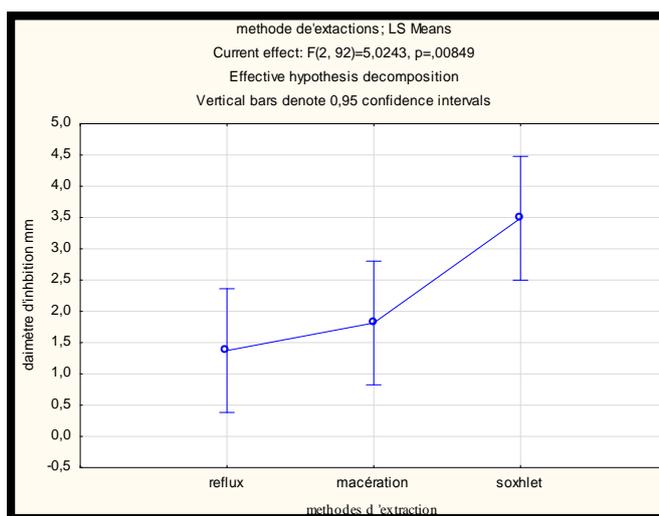


Figure 34: Effet de la méthode d'extraction sur le diamètre d'inhibition en mm

(l'activité antimicrobienne).

L'extrait d'acétate d'éthyl de *Peganum harmala* L. présente l'activité antimicrobienne la plus élevée, suivie par l'extrait hydro-dichlotométhanologique et en dernier hydro-méthanologique qui présente une faible activité. Donc la technique d'extraction est une étape très importante dans la récupération des composés phytochimique existants dans le matériel végétal ainsi que et dans l'effet biologique(LEHOUT et LAIB,2015).

II.3.2.-Effet des différentes concentrations et souches:

l'analyse réalisée en fonction des différentes concentrations et différent souches monter que il y a des différences significatives, donc notre extraits est plus efficace contre *Salmonella sp* et *C. albicans*(figure35) .

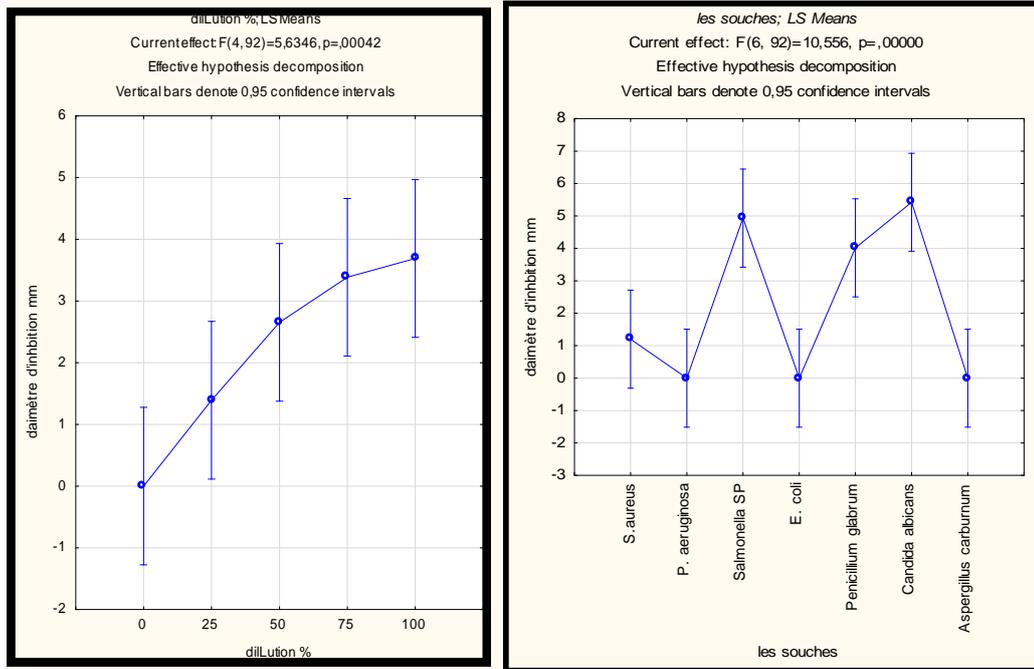


Figure 35 : Effet de type de souche / concentration sur diamètre d'inhibition en mm (l'activité antimicrobienne).

La différence de comportement des souche testées vis –à-vis des extrait peut être due à la différence de structure de la paroi des souches microbiennes testées dans la présente étude (BELKACEMI et KASMI,2010).Ainsi l'analyse montre une relation proportionnelle entre la zone d'inhibition et la concentration de l'extrait.

Conclusion

Conclusion :

Les plantes ont la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées qui accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires représentant une source importante de molécules utilisables dans la thérapie. La recherche actuelle tente de vérifier l'impact de ces métabolites sur la lutte contre les microorganismes multi-résistants, et ce en raison de l'innocuité et du faible coût de ces plantes, ainsi que leur impact sur un grand nombre des microbes. La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes steppiques Algériennes. Elle a pour objectif de connaître la composition chimique et d'évaluer l'effet antimicrobien des trois extraits foliaires de *Peganum harmala* L. récoltée dans la région de Metlili. Trois techniques d'extraction de la plante ont été réalisées. Il s'agit, en l'occurrence de l'extraction par reflux dans le méthanol aqueux, l'extraction par Soxhlet par l'acétate d'éthyl et l'extraction par macération dans le dichlorométhane aqueux. Le produit obtenu qui servira aux tests biologiques.

Pour l'activité antimicrobienne a été déterminée sur sept souches microbiennes, selon la méthode sur diffusion de disque.

Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la richesse de ces extraits en alcaloïdes et des stéroïdes avec des variations pour les autres métabolites : coumarines et quinones libre dans l'extrait hydro-dichlorométhanique, glucoside cardiaques et des composés réducteur dans l'extrait d'acétate d'éthyl.

Ce travail est complété par l'étude de l'action antimicrobienne des extraits végétaux d'El Harmal sur des souches microbiennes pathogène. Les résultats obtenus révèlent que ces extraits présentent une action inhibitrice moyenne à faible sur les souches testées. On trouve que *Salmonella sp* et *C. albicans* sont les plus sensibles, ils présentent des zones d'inhibition maximales de 08 ± 0 mm et 13 ± 1 mm respectivement. Une action moyenne est notée pour *S.aureus* et *Penicillium glabrum*, ils donnent des zones d'inhibition entre 07 ± 0 mm et 11 ± 1.5 mm respectivement. Ainsi pas d'effet est enregistré pour les bactéries *E. coli*, *P. aeruginosa* et *Aspergillus carbonarius*.

Enfin, il serait souhaitable et intéressant de :

- ✓ Utiliser d'autres solvants organiques (acétone, *n*-Butanol , ...) pour extraire le maximum de composants chimiques.
- ✓ Identifier et d'isoler les métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne et antifongique, à partir des extraits les plus actifs.
- ✓ Elargir le panel des activités antimicrobiennes in vitro et vivo et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antidiabétique, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- **Abidi ,K et Nahal ,G.2015.** Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des plantes médicinales : cas de *peganum harmala*. Mémoire de Master. Université de Larbi Tébessi. Tébessi. 58 P.
- **Afif Chaouche, T. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de doctorat. Université Abou BEKR Belkaid. Tlemcen. 141P.
- **Aissous ,A et Bechara ,R.(2016).** Caractérisation chimique et activités biologiques d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *lepidium sativum*. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri. Constantine .60 P.
- **ALIOUA,M.A . (2015) .** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba . Annaba. 143P .
- **Anne ,S et Nogaret ,E.(2003).** La phytothérapie Se soigner par les plantes. © Groupe Eyrolles.p20.
- **Attou, A.(2010).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. Tlemcen. 93P.
- **Badereddine, M et Moussaoui, H.(2014).** Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de *Phoenix dactylifera* .L obtenue par différents méthodes. Mémoire de master.
- **Banahmed, M. (2009).** Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des apiaceae : *Carum montanum* Coss. et Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. Université Mentouri – Constantine. Constantine. 199P
- **Beddou,F .(2015).** Etude phytochimique et activité biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L .et *Anvillea radiata* coss.&Dur. Thèse doctorat .Université Abou Bakr Belkaid .Tlemcen .143P.
- **Behidj-Benyounes, N., Dahmane ,T.,Aknouche , F et Demmouche, K .(2013).** Screening phytochimique et evaluation de l'activité de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'Sila. Sciences et Technologie C– N°38 :27-37.
- **Belfekih ,F., El Yahyaoui ,O., Chleh, M., Abdellahi, L .O., Sammama A., Lrhorfi A and Bengueddour, R .(2017).** Screening phytochimique d'*Arbutus unedo* L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. ISSN 2429-5396.
- **Belkacemi,H et Kasmi ,R.(2010).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brute de *capparis spinosa* L.(capparidaceae). Mémoire de Magister. Université de A.Mira – Bejaia. Bejaia .140P.
- **Ben sania, M.(2005) .** Caractérisation des plantes spontanées de l'oued-Metlili(GHARDAIA).Mémoire d'Ingénieur. Université Kasdi merbah Ouargla. Ouargla. 71P.
- **Benbotta, A .,Yahyia, A and Belaïdi,A.(2012).** Assessment of the antibacterial activity of crude alkaloids extracted from seeds and roots of the plant *Peganum harmala* L. *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 2 (5):568-573.
- **Bendif, H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques lamiaceae: *ajuga iva* (L.) schreb., *teucrium polium* L., *thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (boiss. et reut.) greuter et burdet et *rosmarinus eriocalyx* jord et fourr. Thèse de Doctorat. l'école normale supérieure de Kouba-Alger. Alger. 154P.

- **Benkhiguel, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A et Zidane L. (2014).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal et Plant Sciences*. 23 (1): 3539-3568.
- **Benkhiguel, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A et Douira, A. (2011).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.* 53: 191-216.
- **Benkikiki, N. (2005).** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens*. Thèse de doctorat. Université El-Hadj Lakhdar Batna. Batna. 198P.
- **Bentabet-Lasgaa, N. (2014).** Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredolia aretioides* et *Echium vulgare* de l'ouest Algérien. thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaid -Tlemcen. Tlemcen. 133P..
- **Berkal, G et Bouchama, S. (2016).** Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbia characias L.* Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine.
- **Berreguioua, A. (2016).** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. thèse de doctorat. Université Abou bakr Belkaid –Tlemcen. Tlemcen. 229P.
- **Beucher, B. (2007).** Spécificité antigénique de l'Als3p de *Candida albicans* et implication de cette protéine dans l'interaction avec les constituants de l'hôte. Thèse de Doctorat. Université d'Angers. Français. 140P.
- **Bony, N. F. (2013).** Stratégie analytique des tradimédicaments : établissement de profils chromatographiques des métabolites phytochimiques apolaires. Thèse de doctorat. Université de Paris Sud . 120P.
- **Boroujeni, M. S., Soureshjani, S. H and Keivani Hafshejani, Z. (2017).** Impact of oral capsule of *Peganum harmala* on alleviating urinary symptoms in men with benign prostatic hyperplasia; a randomized clinical trial. *Journal of Renal Injury Prevention.* 6(2): 127-131.
- **Bouabedelli, F., Missoun, F., Benhamimed, A and Djebli, N. (2016).** Phytochemical and antimicrobial study of the seeds and leaves of *Peganum harmala L.* against urinary tract infection pathogens. *Journal of Tropical Disease.* 6(10): 822-826.
- **Bougandoura, N et Bendimerad, N. (2002).** Effet antifongique des extraits aqueux et m. ethanolique de *Satureja calamintha ssp. (nepeta) briq.* *revue des bioressources* 2(1)1-7.
- **Boukhalf, S et Hamdi, S. (2016).** Évaluation phytochimique et étude des activités biologiques des extraits bruts des plantes médicinales locales : *Opuntia ficus indica* et *Thymus lanceolatus*. Mémoire master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine 63P.
- **Boukri, N. H. (2014).** Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire de Master académique. Université Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla 87P.
- **Boumaza, A. (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* Coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire de Magister. Université Mentouri-Constantine. Constantine.
- **Boutaoui, N. (2012).** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase acétate d'éthyl. Mémoire de Magister. Université Constantine I. Constantine.
- **Bouziane, N. (2012).** Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. Et Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala L.* (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de magister. Université Kasdi merbah Ouargla. Ouargla. 72P.

- **Chaker, H.(2012).** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane.Thèse doctorat .Université de Grenoble. Grenoble. 272P.
- **Chehma, A. (2006).**Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zone arides et semiarides,Université Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla.
- **Cohen, N et Karib ,H (2006).** Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés: Un réel problème de santé publique. *Les Technologies de laboratoire. 1* : 4-9. Constantine.
- **Cushnie ,T et Andrew, J.(2005).**Antimicrobial activity of flavonoids . International Journal of Antimicrobial Agents 26 :343–356.
- **Daira, N .H .,Maazi ,M .C et Chefrour, A.(2016).** Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale(*ammoides verticillata* desf. briq.) de l'est algérien.bulletin de la société royale des sciences de liège.vol. 85. :276 – 290.
- **Darabpour, E .,Bavi ,A. P .,Motamedi ,H ., Mansour ,S and Nejad ,S.(2011).** Antibacterial activity of different parts of *peganum harmala* l. growing in iran againstmulti-drug resistant bacteria.excli Journal. 10:252-263 .
- des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herbaalba* Asso.Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine.
- **Dehane, K .(2009).** Evaluation de la production de viande cameline et estimation des poids dans la commune de Metlili. Mémoire en vu de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'État en Sciences .Université Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla.
- **Diba1K; Gerami Shoar. M; Shabatkhori .M et Khorshiv and .Z,2011.** Anti fungal activity of alcoholic extract of *Peganum harmala* seeds. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(23) : 5550-5554.
- **El Allagui ,N .,Tahrouch ,S .,Bourijate ,M et Hatimi, A. E. (2007) .**Action de différents extraits végétaux sur la mortalité des *nématodes à galles du genre Meloidogyne ssp.*, *Acta Botanica Gallica, 154 (4).*;503-509.
- **Fakraouil, F. (2016).** Investigation phytochimique d'une plante médicinale Algérienne de la famille des Zygophylaceae.Mémoire Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine.
- **Fan' N.J .,Gao J .M andTang , J.J .(2015).**Potential Insecticidal Activity of Steroidal C-17 Pyrazolinyl Derivatives, *Short Report* . journal of theBrazilian chemical society 26 (2)389-392 .
- **Gerard ,J. T .,Berdell ,R. F., Christine, L. C. (2018).**Introduction à la microbiologie .2^eédition .international édition, 11/e.
- **Goudjil,M .B .(2016) .**Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse Doctorat. Universite Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla.
- **Guedda ,I et Koull, R.(2017).**Contenu en composés phénoliques et activités biologiques des extraits de quelques plantes sahariennes. Mémoire de Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla.
- **Hadjadj, S.(2017).** Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien.thèse de doctorat. Universite Kasdi Merbah Ouargla. Ouargla.99P.
- **Harrar, A.(2012).** Activités antioxydante etantimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L.Mémoire de Magister.Université Ferhat Abbas.Sétif.66P.

- **Herraiz ,T., González ,D., Ancín-Azpilicueta, C.,Arán ,V.J et Guillén, H.(2010).** βCarboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicology* 48 . 839–845.
- **Hong, K. (2001)** .Larousse encyclopédie des plantes médicinales. 1nd edition © 1997 Larousse-Bordas.335p.
- **Hopkins ,W.J.(2003).** physiologie végétale .1^{ère}édition .Editions De Boeck université ruedes minimes 39,B-1000Bruxelles. paris .P514 .
- **Hopkins,W.G .(2003).** Physiologie végétale. 1^{ère}édition .Editions De Boeck université ruedes minimes 39,B-1000Bruxelles.paris. P514.
- **Imami ,I et Tourirat, A.(2016).**Contribution à l'étude phytochimique (les polyphénols) de deux espèces *pimpinella anisum* L. et *peganum harmala* L.Université des frères Mentouri Costantine 1. Costantine.73P.
- **Kanwal ,Z.G ., Hafeez, A ., Haq ,I ., Rehman ,T .,Muhammad ,S .A., Shazadi ,I ., Fatima ,N et Rehman ,N.(2016).**Antioxydant, Antimicrobial and Antileishmanial Study of Different Parts of *Peganum harmala* International Journal of antileishmanial. International Journal of Biosciences. 9(1) 45-58.
- **Kemassi , A .(2008).** Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magister. Université Kasdi merbah Ouargla. Ouargla.160P.
- **Kemassi ,A ., Ellali , N ., Boual ,Z ., Bouziane, N ., Ould el hadj-khelil ,A.,Hadj-Mahammed ,M et Ould elhadj Mohamed ,D .(2013).** toxicité comparée des huiles essentielles brutes foliaires de trois plantes spontanées récoltées au Sahara algérien sur les larves et les imagos de *schistocerca gregaria* (forskål, 1775) (orthoptera-cyrtacanthacridinae) . *Algerian journal of arid environment* . 3(2): 34-42.
- **Kemassi, A ., Bouziane ,N .,Boual, Z ;et Ould El Hadj ,M.D. (2014)** . Activité biologique des huiles essentielles de *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae) et de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) sur *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). *Pharmacognosie*. 12:348-353.
- **Kemassi, A. (2013).** Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* (Stapf.) (Euphorbiaceae), *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria*.thèse de doctorat. Université Kasdi merbah Ouargla. Ouargla.242.
- **Khalilzadeh, P.(2009).** Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*:évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse de doctorat .Université paul Sabatier (Toulouse Iii). Toulouse.
- **Kholkhal, F.(2013).**Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp coloratus et ssp euciliatus. Thèse de Doctorat.200P.
- **Labiod, F et Chaibras ,S . (2015).** Isolement, identification et activité antibactérienne des moisissures d'un sol forestier à Constantine. Mémoire Master. Université des Frères Mentouri Constantine . Constantine.P 74.
- **Lahmer ,N et Messai ,S.(2017).** Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du *Zizyphus lotus* (L). Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine.
- **Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M et Hseini,S. (2009).**Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër(Maroc occidental).Edition de lejeunia.26p.
- **Lehout, R et Laib ,M.(2015).** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Assou.Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine.52P.

- **Lioua, M.A. (2015)** . Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline.thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Annaba.
- **Locatelli, A. (2013)**. Prévalence de pathogènes humains dans les sols français, effet des facteurs pédoclimatiques, biologiques et du mode d'utilisation des sols. thèse doctorat . Université de Bourgogne . Dijon.P144.
- **Mahdeb ,N., Mayouf ,S., Boukhari,F., Souilah ,S and Bouzidi ,A.(2013)**.Hemolytic effect of total alkaloids from the seeds of *Peganum harmala in vitro* on erythrocytes of ruminants: Sheep, cattle and goats. Asian Journal of Plant Science and Research. 3(6):53-59.
- **Makhloufi ,A .(2010)** . Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat.Universite Aboubaker Belkaid -Tlemcen. Tlemcen.136P.
- **Mami ,A .(2013)**.rechercher des bactéries lactiques productrice de bactériocines à large spectre d'action vis-à- vis des germes impliqués dans les toxi –infections alimentaires en Algérie.Thèse doctorat.Université d'Oran . Oran .164P.
- **Mazid, M ;khan T.A and Mohammad F .(2011)** . Rôle of secondary metabolites in defence mechanisms of plants. Biology and Medcine.3(2) :232-249.
- **Meratate ,F.(2013)**. Etude phytochimique et pouvoir biologique des métabolites secondaires de la plante *zizyphora hispanica* L.de la région de m'sila . Memiore de Master .Universite de M'sila. M'sila.p96.
- **Mohammedi ,Z (2013)**.Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat .Université Abou Beker Belkaid. Telemcen169P.
- **Muniz, M .N .(2006)**. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs :la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine.these de doctorat. Université Joseph fourier – Grenoble I.New york.
- **Organisation des Nations Unies pour l'éducation,la science et la culture.,(1960)**.Les plantes médicinales des régions arides .© Unesco.7° Paris.
- **Ouibrahim, A.(2014)**. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimumbasilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'EstAlgérien.thèse de doctorat.Universite Badji Mokhtar - Annaba. Annaba.95P.
- **Penchev, P. I. (2010)**. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.Thèse de doctorat.Université de Toulouse. 229P.
- **Pirard, M. (2013)**.Initiation à la phytothérapie . Guide pratique d'une herboriste.
- **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. Mémoire de Magister.Université Ferhat Abbas.Sétif.90P.
- **Rhayour, K .(2002)** . Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. thèse douctorat ; Université Sidi Mohamed Ben Abdellah .158P.
- **Sabbagh, S. (2013)**. Identification et caractérisation de gènes chez salmonella enterica sérovar thyphi impliqués dans l'interaction avec les macrophages humains .thèse doctorat. Université de Montréal. P264 .
- **Saffidine ,K .(2015)**. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L.thèse de doctorat .Université de Ferhat Abbas.Sétif.101P.

- **Salari, E.,Ahmadi ,K.,Dehyaghobi .,R. Z.,Purhematy ,A and Takaloozadeh ,H -M .(2011).** Toxic and repellent effect of harmal (*peganum harmala* l.)acetonc extract on several aphids and *Tribolium castaneum* (HERBST). Chilean journal of agricultural research .72(1) 147-151.
- **Sassoui, D. (2015).** Etude ethnobotanique, phytochimique, histologique et activité antidépressive de *Portulaca oleracea* L. et *Peganum harmala* L.thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Annaba.P153.
- **Sepideh, M.(2016).** A review study of therapeutic effects of *Peganum harmala*. Der Pharmacia Lettre., 8 (13):161-166.
- **Tabuc ,C.(2007).** flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse . Toulouse.190P.
- **Touafek O. (2010).** Etude phytochimique de plantes medicinales du Nord et du Sud Algeriens. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. Constantine.259P.
- **OZANDA ,P.(1991).** Flore et végétation du Sahara. 3éme édition, augmentée.Ed. CNRS, Paris: 662 p.
- **Ozenda ,P.(1983).** Flore et végétation du Sahara 2^e édition. Edition CNRC.Paris .106p.
- **Willey J ;Sherwood M et Woolverton.2013.**Microbiologie de Boek supérieur 4^e édition.1070p.

- **Yemoa ,A.L.,Gbenou,J.D.,Johnson,R.C.,Djogo,J.G.,Zinsou ,c.,Moudachirou, M.,Quetin-Leclercq, J., Bigot ,A et Portaels ,F.(2008).** Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. . Ethnopharmacologia, n°42, :48-55.

Annexes

Annexe01-

Matériel et les produits utilisés au laboratoire.

Matériels	Appareils	Produits
<p>s ordinaires- cristallisoir de 500 ml- Ballons de 500 ml-papier aluminium- Des béchers en verre de 100 ml--Un entonnoir en verre— Micropipette-boîtes de pétrerie-Ance de platine - éprouvette –Spatule- Tube à essai</p>	<p>-broyeur(marque IKA modèleM20) pour la préparation des poudres végétales sèches. -Une balance de précision (marque :Ohaus ;modèle : PA 214) pour la pesée du matériel biologique. -Un rotor vapor (marque Heidolph ; modèle : Hei- Vab Advantage MLG1B) pour l'évaporation des solvants ou pour concentrer les solutions durant les différentes étapes de préparation des extraits. -Une étuve(marqueRaypa ; modèle DO -90) , à 105 °C. - Hotte à reflux laminaire horizontal(deux manipulateurs)(marque Biobase ; modèleBBS- 1300HGS). -Bec benzène. -pH mètre . -Agitateur magnétique . -Bain-marie à température constante. -coupant disques des papiers filtre . -autoclave . - Montage d'extraction à reflux. - Montage d'extraction par soxhlet.</p>	<p>- Réactifs chimiques : Le screening phytochimique a nécessité divers réactifs : - Solution de (FeCl₃)(1%)- acide chlorhydrique HCL (2 N) -hydroxyde d'ammonium(NH₄OH) - éthanol chlorhydrique-copeaux de magnésium-Alcool isoamylique-hydroxyl de sodiumNaOH(10%) -hydroxyl de sodiumNaOH(1%)-acide chlorhydrique à (1%)--réactif de Mayer--réactif deWagner--l'eau distillé-anhydride acétique – chloroforme- Acide sulfurique concentré -liqueur de fehling- HCl dilué à10%. -Les solvants : trois solvants de polarité croissante:méthanol ,dichlorométhane, et acétate d'éthyl -les milieux de culture : *Gélose N : Extrait de viande sec 2,5g Bacto-peptone 05g Chlorure de sodium 2,5g Eau distillée 500ml Solution de NaOH :0,1N Agar agar 10g PH 7,2-7,4 *Milieu Sabouraud : Glucose 10g Peptone 05g Agar agar 10g Eau distillée 500ml PH 6-6,5 Solution de NaOH :0,1N *Mueller Hinton : Extrait de levure : 4g Extrait de malate :1,6g Glucose :1,6g Agar agar :7g Solution NaOH :0,1N</p>

Annexe 2- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction. Déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction .

Les rendements des extraits hydro-dichlorométhanique ,hydro-méthanolique et extrait d'acétate d'éthyl préparés à partir des parties aériennes de *Péganum harmala* sont respectivement de 0,694% et 0,972% et 0,78%.

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche,

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en g,

M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Tableau- Rendements de trois extraits :

	extrait hydro-dichlorométhanique	extrait hydro-méthanolique	extrait d'acétate d'éthyl
rendement d'extraction%	0,694	0,972	0,78

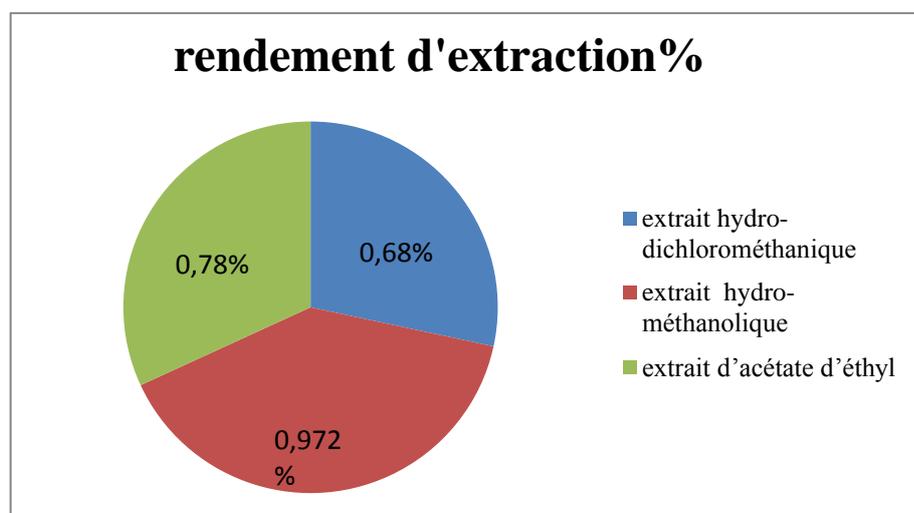


Figure : Rendement d'extraction des parties aériennes de *Péganum harmala*.

Résumé :

Afin de contribuer à la valorisation des plantes spontanées réputées pour leurs vertusthérapeutiques ; le but de notre étude est de rechercher l'effet antimicrobien de *Peganumharmala*L.,une plante médicinale de la flore saharienne algérienne, après la réalisation de trois types d'extraction, à reflux dans un mélange de méthanol /eau, au Soxhlet avec l'acétate d'éthyl et par macération dans un mélange dedichlorométhane/eau. Afin d'identifier les classes phytochimiques majoritaires présentes dans la partie aérienne de chaque extrait, nous avons eu recours à des tests phytochimiques par plusieurs méthodes qualitatives basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques.Les résultats obtenus par les tests phytochimiques montrent la richesse de ces extraits en alcaloïdes et stéroïdes avec des variétés pourles autres métabolites. Nous avons démontré que l'extrait obtenu par macération permet d'extraire des coumarines et Quinones libres, tandis que l'extrait obtenu par Soxhlet contient des glucosides cardiaques et des composées réducteurs. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et trois champignons selon la méthode de diffusion de disque, en général l'extrait d'acétate d'éthy lobtenu par Soxhlet est actif par rapport aux autres.Spécialement sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Penicillium glabrum* et *Candida albicans* qui enregistrent des zones maximales de $11\pm 1.5\text{mm}$, $11.75\pm 2.36\text{mm}$ et $13\pm 1\text{mm}$ respectivement, alors que la plus forte activité a été obtenue avec l'extrait dichlorométhane aqueux, contre *C. albicans*($13\pm 0\text{mm}$).Les propriétés antimicrobiennes observées seraient liées à la complexité de la composition chimique et la synergie entre eux. La richesse des extraits de *Peganum harmala* en alcaloïdes et stéroïdes....etc et leurs pouvoirs antimicrobien pourrait justifier le bien-fondé de certaines vertus thérapeutiques accordées à ces plantes en médecine traditionnelle.

Mots clés :*Peganum harmala* ,métabolites secondaires, effet antimicrobien.

Abstract:

In order to contribute to the valorization of the spontaneous plants known for their therapeutic virtues; the purpose of our studies is the valorisation of saharan medicinal plant *Peganum harmala* L. by characterizing it's with phytochemical screening and evaluating it's antimicrobial activity of three leaves extracts. Leaves of the plant were subjected to extraction with reflux in méthanol /water , the extract of éthyl acetate were extracted with Soxhlet , whereas extract dichlorométhane /water was obtained by maceration .

To identify the most important phytochemical classes in aerial parts of these extracts of the plant, we have been using phytochemical by several qualitative methods based on precipitation phenomena or staining with specific reagents.

The results obtained by the phytochemical show the richness of this extracts with alkaloids and steroids.....etc.

We have shown that aqueous dichlorométhane is the extractor of coumarins and quinines libre, while éthyl acetate has the ability to extract of cardiac glycosides and reducing compounds .

The antimicrobial activity of the extracts towards four bacterial strains (Gram+ and Gram-) and three fungi strains was assessed using to the disc diffusion agar; generally the extract of éthyl acetate has developed high inhibitory effect to the others . Especially *Staphylococcus aureus*, *Penicillium glabrum* and *Candida albicans* which are registered maximum areas (11 ± 1.5 mm, 11.75 ± 2.36 mm and 13 ± 1 mm), while the strongest activities obtained with the extract dichlorométhane /water , on *C. albicans* (13 ± 1 mm). Antimicrobial properties observed are related to the complexity of the chemical composition and the synergy between them. The richness of the extracts of *P. harmala* in alkaloids and steroids her antimicrobial powers could justify the validity of certain therapeutic virtues granted to these plant in traditional medicine.

Key words : *Peganum harmala* L, secondary metabolites, antimicrobial effect.

ملخص:

من أجل المساهمة في تقييم النباتات الطبية المعروفة بفعاليتها العلاجية, قمنا بهذه الدراسة التي تهدف الى الإسهام في إعطاء الأهمية لنبتة طبية صحراوية الحرمل, وهذا من خلال الفحص الكيميائي وتقييم الأنشطة المضادة للمكروبات لثلاث مستخلصات. بحيث انه تم استخلاص الجزء الهوائي للنبتة باستعمال جهاز الاستخلاص Reflux وذلك بواسطة الميثانول والماء, مستخلص الاسيتاتدثيل تم الحصول عليه باستعمال جهاز Soxhlet بينما مستخلص الكلوروميثان /الماء فتم الحصول عليه بالنقع.

من أجل تحديد مختلف الاصناف الكيميائية النباتية المتواجدة في الجزء الهوائي للنبتة, قمنا باجراء تحاليل كيميونباتية لكل مستخلص, هذا الاخير يقوم على اساس مجموعة من التفاعلات التي ينتج عنها تغيير في اللون او حدوث ترسبات.

نتائج التحليل الكيمونباتي النوعي أظهرت أن هذه المستخلصات غنية بـ alcaloide و stéroïdes مع وجود اختلافات فيما بينها.

مستخلص الديكلوروميثان/ماء غني بالكومغاو الكوينون ليبر بينما الاسيتاتدثيل له القدر على استخلاص glycoside cardiaque و compose reducteur. تم اختبار النشاط المضاد للجراثيم على 04 سلالة بكتيرية غرام + و غرام - و 3 سلالات فطرية باستعمال طريقة انتشار الأقراص; عموما مستخلص الاستات دثيل يظهر فعالية بالمقارنة مع المستخلصات الأخرى. خاصة *Staphylococcus aureus*, *Penicillium glabrum* et *Candida albican* بحيث انه تملك قدرة على النشاط المثبط ($11 \pm 1.5 \text{mm}$, $11.75 \pm 2.36 \text{mm}$ et $13 \pm 1 \text{mm}$) على التوالي.

أما فيما يخص المستخلص الديكلوروميثان /الماء فأظهر فعالية قوية ضد بكتيريا ($13 \text{mm} \pm 1$) *C. albicans*

التأثير المضاد للمكروبات الملاحظ خلال هذا العمل يرجع الى مدى تعقيد التركيب الكيميائي. غنى مستخلصات *Peganum harmala* بـ *stéroïde* و *alcaloïdes* ... الخ وقدرتها ضد مختلف المكروبات تؤكد نسبينا صحة بعض الفوائد العلاجية المشار لها في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: *Peganum harmala* L., المواد الايضية الثانوية, التأثير المضاد للمكروبات.