



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement et de la recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi-Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

Estimation du potentiel antioxydant et antibactérien de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*

Présenté Par :

MEBARKI Gharib & KHOULED Rachida

Devant le jury :

ZEGHIB A.
DJABRI B.
BENHADJ M.

MCB-Université de Tébessa
Pr- Université de Tébessa
MAA- Université de Tébessa

Présidente
Rapporteur
Examinatrice

Date de Soutenance : 28 Mai 2018

Note :

Mention :

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des plantes aromatiques et médicinales de la flore algérienne. Pour cela, nous sommes intéressées à l'étude d'une espèce endémique des steppes algériennes qui est, en l'occurrence, *Peganum harmala*. Il s'agit d'une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une multitude de troubles de santé. La présente étude avait pour objectif d'investir les activités antibactérienne et antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* récoltée dans la région de Tébessa.

Pour atteindre ces objectifs, différentes étapes ont été suivies : l'extraction des composés phénoliques par l'utilisation des solvants organiques de polarité croissant. L'étude de l'activité antioxydante a été faite, *in vitro*, selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH, de façon quantitative par spectrophotométrie UV-Visible, en comparaison à un antioxydant standard, la Vitamine C. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique *in vitro* a été réalisée par la méthode de la diffusion en milieu gélosé, vis-à-vis de six souches bactérienne (03 *E. coli*, 01 *S. aureus* et 01 *P. aeruginosa* et 01 *Bacillus sp.*).

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique présente un rendement remarquable (11,82 %). Un effet piègeur notable du radical DPPH a été également signalé par l'extrait méthanolique ($IC_{50} = 923,33 \mu\text{g/mL}$). L'étude antibactérienne de cet extrait a révélé une action inhibitrice évidente sur la croissance des germes testés. *Staphylococcus aureus* est le plus sensible à l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*.

Ces résultats mettent en lumière l'importance et l'utilisation particulière de *Peganum harmala* en médecine traditionnelle.

Mots clés : *Peganum harmala*, DPPH, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This work is part of the study of the antibacterial and antioxidant activity of aromatic and medicinal plants of Algerian flora. For that, we are interested in the study of an endemic species of the Algerian steppes which is in this case *Peganum harmala*. It is a plant widely used in traditional Algerian medicine to treat a multitude of health disorders. The purpose of this study was to invest the antimicrobial and antioxidant activities of the methanolic extract of *Peganum harmala* harvested in the Tébessa region.

To achieve these objectives, various steps were followed: the extraction of phenolic compounds by the use of organic solvents of increasing polarity. The study of the antioxidant activity was done in vitro by the DPPH free radical scavenging method quantitatively by UV-Visible spectrophotometry in comparison with a standard antioxidant, vitamin C. The evaluation of the antibacterial action of the methanolic extract in vitro was carried out by the diffusion method in agar medium with respect to six bacterial strains.

The results show that the methanolic extract represents a remarkable yield (11, 82%), a notable scavenging effect of the DPPH radical was also reported by the methanolic extract (IC₅₀ = 923, 33 µg/ml). The antibacterial study of this extract was raised an obvious inhibitory action on the growth of the tested germs. *Staphylococcus aureus* is the most sensitive to the methanolic extract of the *Peganum harmala*.

These results highlight the importance and the special use of *Peganum harmala* in traditional medicine.

Keys words: *Peganum harmala*, DPPH, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص

أنجز هذا العمل في إطار دراسة النشاط المضاد للبكتيريا والأكسدة للنباتات العطرية والطبية الخاصة بالغطاء النباتي الجزائري، لذلك اهتمنا بدراسة احد الأنواع المستوطنة بالسهول الجزائرية والتي تتمثل في نبات *Peganum harmala*.

وهو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لعلاج العديد من الاضطرابات الصحية حيث كان الغرض من هذه الدراسة هو استثمار الأنشطة المضادة للمكروبات والمضادة للأكسدة في المستخلص الميثانولي من *Peganum harmala* الذي تم أخذه من منطقة في ولاية تبسة.

لتحقيق هذه الأهداف اتبعت خطوات مختلفة والتي تتمثل كالتالي : استخراج المركبات الفينولية عن طريق استخدام المذيبات العضوية ذات القطبية المتزايدة، حيث تم اجراء دراسة نشاط مضادات الأكسدة بواسطة النشاطية الازاحية للجذر الحر DPPH من الناحية الكمية بواسطة الأشعة الطيفية المرئية للأشعة فوق البنفسجية بالمقارنة مع مضادات الأكسدة كفيتامين C. تم تنفيذ العمل المضاد للبكتيريا من مستخلص الميثانول في المختبر من خلال طريقة الانتشار في وسط أغار فيما يتعلق بست سلالات بكتيرية. تظهر النتائج أن للمستخلص الميثانولي مردود جيد يقدر بـ 11.82% ، وقد تم أيضا تقدير النشاط الازاحي لجذر DPPH في مستخلص الميثانول بـ $IC_{50}=923.33 \mu g/ml$. كما اظهرت أيضا دراسة النشاط المضاد للجراثيم لهذا المستخلص وجود عمل مثبط واضح على نمو الجراثيم التي تم اختبارها. هذه النتائج تسلط الضوء على الأهمية والاستخدام الخاص لـ *Peganum harmala* في الطب التقليدي.



Dédicace

Je dédie ce travail :

*A mes parents qui voient aujourd'hui leurs efforts et leurs sacrifices couronnés
par ce diplôme. Ils ont veillé à mon éducation avec infiniment d'amour et
d'affection.*

*Que Dieu me permette de leur rendre au moins une partie, aussi infime soit-elle
de tout ce que je leur dois.*

Gharib



Dédicace

En ce moment particulier de ma vie, je dédie ce travail :

*A mes chers parents, Symbole de reconnaissance et de remerciements pour tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie, leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études. Que Dieu protège ma mère et mon père
Incha allah.*

A mes chères sœurs et à mes frères.

A toute ma famille grande et petite.

A Mon binôme Mebarki Gharib et sa famille

A tous mes amis (es) un par un avec qui j'ai passé de merveilleux moments et avec qui j'ai partagé malheur et bonheur.

A mes camarades de la promotion de biologie plus précisément de la biochimie appliquée.

Rachida



Remerciement

Louange à Dieu, le tout puissant qui nous a donné la force et la patience afin d'accomplir ce travail.

*Nous tenons à témoigner notre profonde gratitude et remerciements à notre encadreur **Pr. DJABRI Belgacem**, pour nous avoir fait confiance et nous avoir confié ce travail. Nous le remercions pour nous avoir encouragé, orienté et conseillé. Merci pour votre disponibilité et votre patience. Nous le remercions vivement pour son soutien et sa grande générosité, tout le long de notre travail.*

*Nous adressons un très grand remerciement à **Dr. ZEGHIB Assia**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Nous la remercions pour sa pédagogie, son écoute, son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **Mme. BENHADJ Mabrouka** pour son aide et ses remarques et pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

N'oublions pas de présenter nos remerciements aux personnels du laboratoire de la biologie appliquée et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.

Gharib & Rachida

Liste des tableaux

| | | |
|---------------------|---|-----------|
| Tableau 01 : | Test phytochimiques de <i>Peganum harmala</i> | 07 |
| Tableau 02 : | Différents antioxydants et leurs modes d'action..... | 11 |
| Tableau 03 : | Principales classes des composés phénoliques..... | 16 |
| Tableau 04 : | Liste d'appareils, de verreries et de réactifs utilisés pour l'extraction..... | 22 |
| Tableau 05 : | Liste de matériels utilisés pour l'activité antioxydante..... | 25 |
| Tableau 06 : | Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour la détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé)..... | 26 |
| Tableau 07 : | Aspect et rendements des extraits de <i>Peganum harmala</i> | 29 |
| Tableau 08 : | Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique.... | 35 |

Liste des figures

| | | |
|--------------------|---|-----------|
| Figure 01 : | Arbuste de <i>Peganum harmala</i> (photo personnelle)..... | 03 |
| Figure 02 : | Différents partis de <i>Peganum harmala</i> | 04 |
| Figure 03 : | Balance radicaux libres / antioxydants..... | 08 |
| Figure 04 : | Mécanisme d'action du système antioxydant..... | 10 |
| Figure 05 : | Structure chimique du radical libre DPPH..... | 12 |
| Figure 06 : | Importance des composés phénoliques dans la vie de la plante..... | 19 |
| Figure 07 : | Arbuste de <i>Peganum harmala</i> (Djbel Belkif)..... | 21 |
| Figure 08 : | Carte géographique de la station de prélèvement de <i>Peganum harmala</i> | 22 |
| Figure 09 : | Protocole de préparation des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> | 23 |
| Figure 10 : | Rotavapeur BUCHI R-210..... | 24 |
| Figure 11 : | Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH..... | 25 |
| Figure 12 : | Réduction de DPPH par la vitamine C (a) et par l'extrait méthanolique (b)..... | 31 |
| Figure 13 : | Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Peganum harmala</i> et de l'acide ascorbique..... | 32 |
| Figure 14: | Détermination de la valeur IC50 de la vitamine C (a) et de l'extrait méthanolique (b)..... | 34 |
| Figure 15: | Photos des tests antibactériens de <i>Peganum harmala</i> vis-à-vis des bactéries testées..... | 36 |

Liste des abréviations

OMS : Organisation Mondiale de la sante

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

APG : Angiosperm Phylogeny Group

MAO-A : mono-amine-oxydase A

ERO : espèces radicalaires de l'oxygène

O₂^{·-} : Super oxydes

H₂O₂ : peroxydes d'hydrogène

¹O₂ : Oxygène singulet

OH[·] : Ions hydroxyles

ONOO[·] : Oxyde nitrique et la Peroxynitrite

SOD : superoxyde dismutase

CAT : Catalase.

GPX : Glutathion peroxydase

TEAC : Capacité antioxydante en équivalent Trolox

ATB : Anti biotiques.

PAF : Platelet Activating Factor.

ROO[·] : Radicaux Peroxydes

RO[·] : Alkoxydes

O₂^{·-} : Superoxyde

OH : Hydroxyles.

Rdt : Rendement

E_{extrait} : le poids de l'extrait sec en gramme

V_{végétal} : le poids du végétal sec en gramme

Abs _{contrôle} : Absorbance du contrôle

Abs _{extrait} : Absorbance de l'extrait.

EP : Ether de Pétrole.

DM : Dichlorométhane.

AE : Acétate d'éthyle.

ME: Méthanol.

ED : Eau distillé

IC 50 : Inhibition concentration 50.

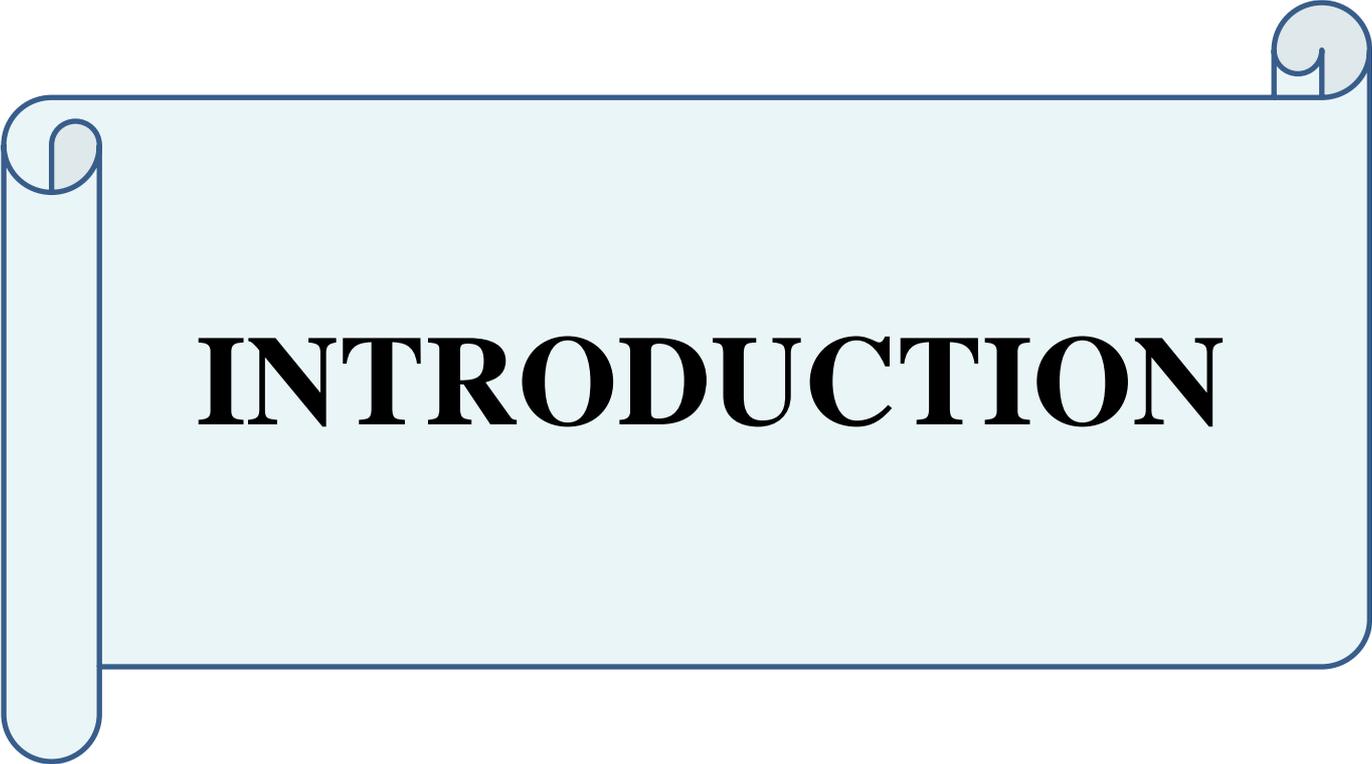
| | | |
|--|------------------------|-----------|
| | Résumé | |
| | Abstract | |
| | ملخص | |
| | Dédicace | |
| | Remerciements | |
| | Liste des tableaux | |
| | Liste des figures | |
| | Liste des abréviations | |
| | Table des matières | |
| INTRODUCTION | | 01 |
| I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE | | |
| I.1. <i>Peganum Harmala</i> | | 03 |
| I.1.1. Définition | | 03 |
| I.1.2. Classification | | 04 |
| I.1.3. Noms vernaculaires | | 05 |
| I.1.4. Répartition géographique | | 05 |
| I.1.5. Culture et récolte de <i>Peganum harmala</i> L. | | 05 |
| I.1.6. Utilisations traditionnelles et médicinales | | 05 |
| I.1.7. Toxicité | | 06 |
| I.1.8. Etude phytochimiques de <i>Peganum harmala</i> | | 07 |
| I.2. Activités biologiques | | 08 |
| I.2.1. Activité antioxydante | | 08 |
| I.2.1.1. Stress oxydant | | 08 |
| I.2.1.2. Radicaux libres | | 08 |
| I.2.1.3. Espèces réactives de l'oxygène | | 09 |
| I.2.1.4. Système de défense antioxydant | | 09 |
| I.2.1.5. Tests d'activité antioxydante | | 12 |
| I.2.2. Activité antibactérienne | | 13 |
| I.2.2.1. Agents antimicrobiens et antibiotiques | | 13 |
| I.2.2.2. Classification des antibiotiques | | 13 |
| I.2.2.3. Mode d'action des antibiotiques | | 14 |
| I.2.2.4. Effet bactériostatique | | 14 |
| I.2.2.5. Effet bactéricide | | 14 |
| I.3. Composés phénoliques | | 15 |
| I.3.1. Définition | | 15 |
| I.3.2. Structure et classification des composés phénoliques | | 15 |
| I.3.2.1. Non flavonoïdes | | 16 |
| I.3.2.2. Flavonoïdes | | 18 |
| I.3.3. Localisation des composés phénoliques dans la plante | | 18 |
| I.3.4. Intérêt des polyphénols | | 19 |
| I.3.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques | | 20 |
| I.3.5.1. Propriété antioxydante des polyphénols | | 19 |
| I.3.5.2. Propriété anti-cancéreux | | 20 |
| I.3.5.3. Propriété anti-ulcère | | 20 |

II. MATERIELS ET METHODES

| | |
|--|-----------|
| II.1. Macération et extraction | 21 |
| II.1.1. Matériel végétal | 21 |
| II.1.2. Matériel de l'extraction..... | 22 |
| II.1.3. Méthodologie de l'extraction..... | 23 |
| II.1.4. Calcul du rendement des extraits..... | 24 |
| II.2. Evaluation de l'activité antioxydante..... | 24 |
| II.2.1. Principe..... | 24 |
| II.2.2. Matériel destiné à la réalisation de l'activité antioxydant..... | 25 |
| II.2.3. Mode opératoire..... | 26 |
| II.2.4. Détermination de pourcentage d'inhibition..... | 26 |
| II.3. Détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé)..... | 26 |
| II.3.1. Matériel..... | 26 |
| II.3.2. Teste d'activité antibactérienne..... | 27 |
| II.3.3. Souches bactériennes testées..... | 27 |
| II.3.4. Milieu de culture..... | 27 |
| II.3.5. Ensemencement et dépôt des disques..... | 27 |
| II.3.6. Lecture..... | 28 |

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|-----------|
| III.1. Aspect et rendement des extraits des parties aériennes de <i>Peganum harmala</i> | 29 |
| III.2. Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de <i>Peganum harmala</i>..... | 30 |
| III.2.1. L'étude cinétique de la réaction..... | 30 |
| III.2.2. Effet scavenger de radical DPPH..... | 32 |
| III.2.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)..... | 33 |
| III.3. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Peganum harmala</i>..... | 35 |
| CONCLUSION..... | 39 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 40 |



INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et, plus particulièrement, pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées comme médicaments. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé (**Salhi et al., 2010**). L'Algérie à l'image de nombreux pays, possède une réserve de remèdes à base de plantes, de savoir et savoir-faire qui s'inscrivent dans le cadre de la médecine traditionnelle à usage humain mais, aussi, vétérinaire (**Belkhiri et al., 2011**).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante, notamment, grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales (**Talbi et al., 2015**).

En Algérie, comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité. La situation est plus préoccupante à cause de l'apparition des souches des micro-organismes antibiorésistants et l'émergence des infections non communes qui compromettent les traitements à l'aide des médicaments existants. Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibactériens disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Ces espèces végétales ayant une grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation (**Basli et al., 2012**).

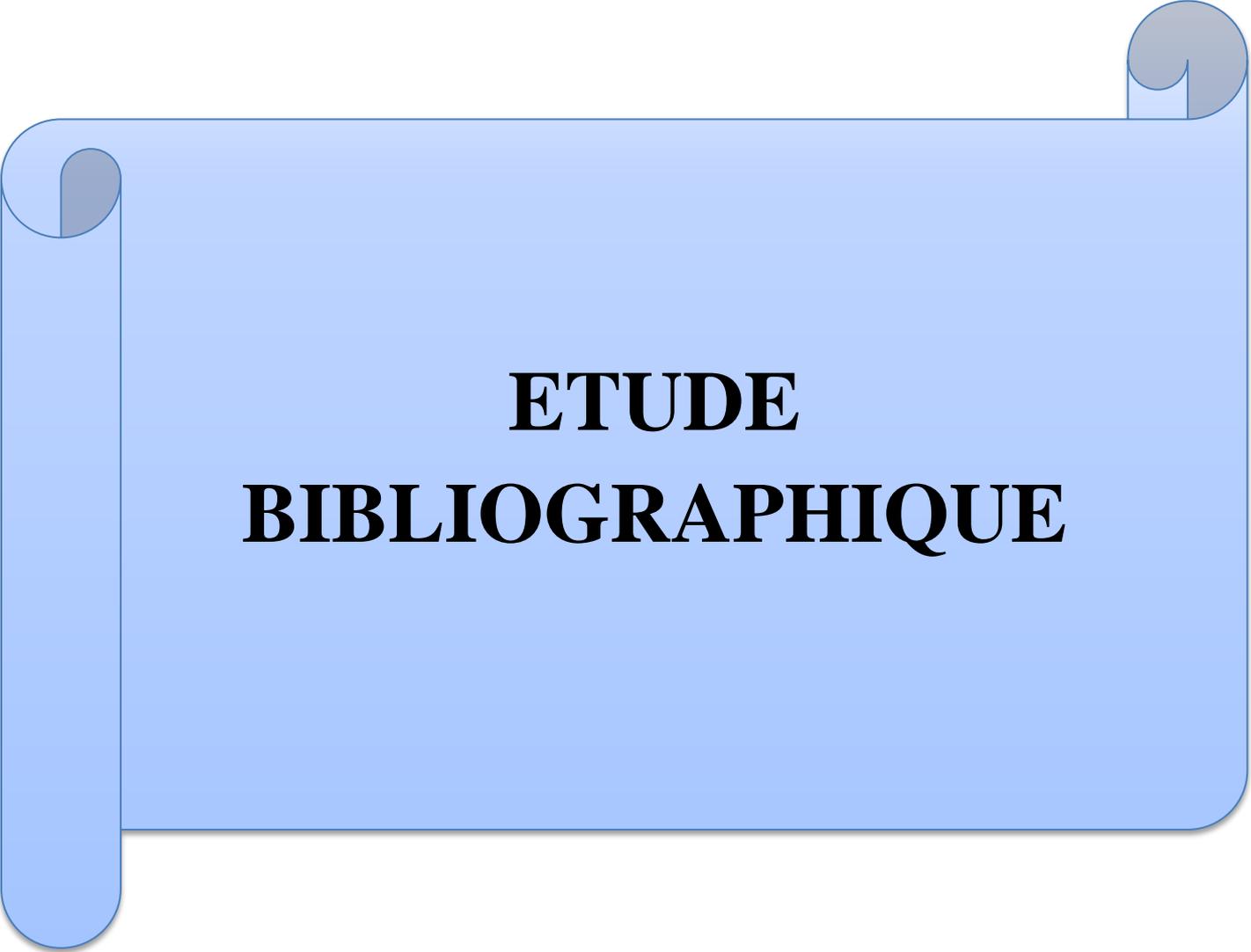
Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal Algérien, se trouve La famille des *Zygophyllacées*. Cette famille est largement représentée dans les régions arides et semi-arides du globe. *P. harmala* est très réputée pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes ce qui la classe parmi les plantes hallucinogènes à effets psychotropes. Ces alcaloïdes possèdent diverses activités biologiques : analgésiques, diurétiques, anthelminthiques antiprolifératives, abortives, antimicrobiennes (**Tahrouch et al., 2002**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude dont l'objectif essentiel consiste à évaluer l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Peganum harmala* L. Pour cela, nous avons fixé les buts suivants :

- L'étude de l'effet piègeur de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. harmala* L., envers le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH).
- L'étude antibactérienne de l'extrait méthanolique par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le présent travail se divise en deux parties :

- Une recherche bibliographique réalisée sur la plante étudiée, les composés phénoliques des végétaux et la détermination de leurs activités biologiques.
- Une partie expérimentale dont laquelle nous décrivons le matériel et les méthodes utilisés, les résultats et leur discussion et, enfin, une conclusion.



**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

I.1. *Peganum Harmala*

I.1.1. Définition

Peganum harmala L. connu sous le nom de Harmel ou Rue sauvage, est l'une des plantes plus utilisées en médecine traditionnelle pour ses différentes vertues (**Sanae et al., 2012**).

C'est une plante appartenant à la famille des *zygophyllacées*. Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes arbustes, ou arbres, elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes. Les fleurs de 4 à 5 mm, la corolle est également de 4 à 5 mm et parfois nulle. Généralement, les plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, a un ou plusieurs ovules par loge. Ses fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés (**Quezel et al., 1963**). Les *zygophyllacées*, dans la classification de **Sheahan et Chase**, constituent une famille avec environ 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous familles et 27 genres (**Sheahan et Chase, 1996 ; Sheahan et Chase, 2000**). Elles sont largement distribuées dans les zones arides, semi arides, les terrains salés et les Pâturages désertiques (**Quezel et al., 1963 ; Sheahan et al., 2000**).

Peganum harmala L. est une plante vivace, à fleurs blanc jaunâtre (**Figure 01 et 02**). C'est une plante herbacée du pourtour méditerranéen (**Habbachi et al., 2013**). Plante glabre rameuse, segment des feuilles, linéaire, aigus pétoblongs, elliptiques, dépassant un peu le pétiole, quelquefois un peu plus courts, capsule érigée, sphérique déprimée au sommet (**Salehian et al., 1973**).



Figure 01 : Arbuste de *Peganum harmala* (photo personnelle).

Herbacée buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur, les fleurs sont blanches avec des sépales persistants qui dépassent la corolle ; les graines et les racines contiennent 4 alcaloïdes : l'harmaline, l'harmine, l'harmalol et les péganine (Henry, 1949). Elle se développe dans les zones sahariennes du Nord du continent Africain et se prolonge jusqu'au Nord de l'Inde et au Nord de la Chine (Abbassi et al., 2003).

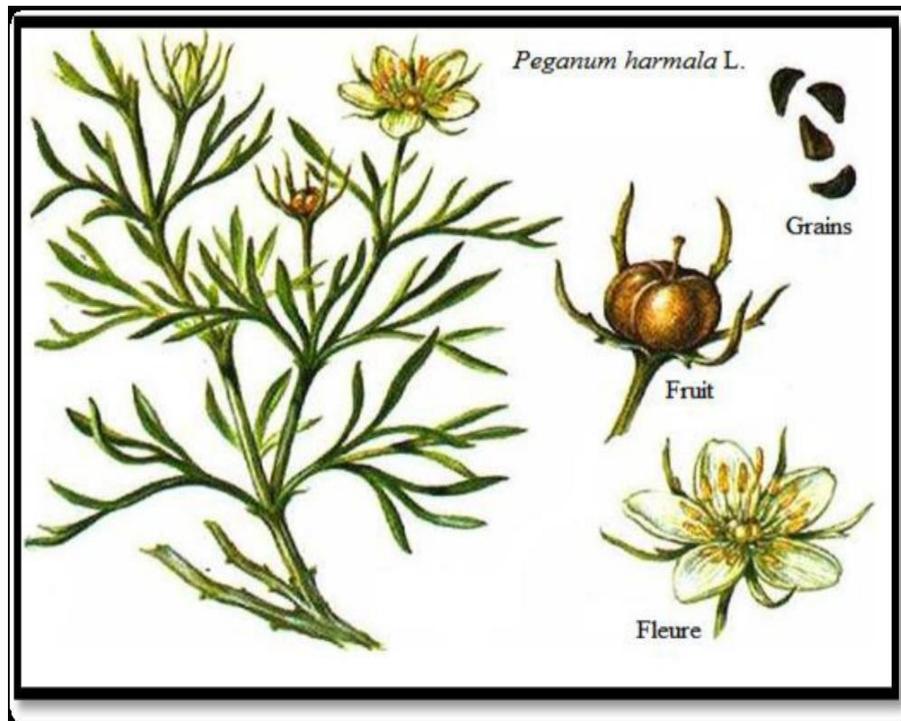


Figure 02 : Différents partis de *Peganum harmala* (schultes atlas).

I.1.2. Classification

Selon Angiosperm Phylogeny Group (2009) la classification de *Peganum harmala* est comme suit : (Moghadam et al., 2010).

- Règne : Plantes
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Malvides
- Ordre : Sapindales
- Famille : Nitrariacées
- Genre : *Peganum*
- Espèce : *Peganum harmala* L.

I.1.3. Noms vernaculaires

Peganum harmala est connu sous différents noms vernaculaires : Harmel, Bender tiffin, rue sauvage, rue Verte, ou encore rue de Syrie (**Sanae et al., 2012**).

I.1.4. Répartition géographique

Il s'agit d'une plante qui pousse à l'état spontané dans les régions steppique et semi Arides (**Baikiri et al., 2016**). *Peganum harmala* (*zygophyllacées*) est une plante abondante dans les zones arides méditerranéenne Maroc oriental, Sahara Septentrional, hauts plateaux Algériens, Tunisie, Lybie et Egypte (**Habbachi et al., 2013**). elle se trouve de façon abondante dans les zones subdésertiques de l'Afrique du Nord et dans certains régions de l'Europe méditerranéenne (**Sanae et al., 2012**).

I.1.5. Culture et récolte de *Peganum harmala* L.

En raison de l'importance économique et médicinale de *Peganum harmala* L., la culture de cette espèce devient de plus en plus nécessaire. Elle exige des endroits ensoleillés une terre légère et riche. Les graines doivent être bien mélangées avec un sol moitié sable moitié terreau, légèrement humide et bien drainé durant les mois avril et mai. Les graines sont mises à une profondeur de 5 à 10mm sous le sol, et germant ensuite en quelques jours parfois quelque semaines. La première année, la culture est réalisée dans des pots, en évitant l'exposition directe au soleil et les gelés de l'hiver. La croissance de ces plantes est rapide dans les climats chauds. Une grande partie d'efficacité de l'harmel, dépend du stade de développement et la Période de la récolte. Les graines sont récoltées lorsque les capsules des fruits mûrissent. Les racines peuvent être récoltées à l'automne, puis sont coupées en morceaux et séchées au soleil. Après le séchage, l'herbe doit être stockée dans un endroit sec et frais pour une meilleure exploitation (**Psychonaut, 2006**).

I.1.6. Utilisations traditionnelles et médicinales

Dans les pays arabes, les graines de *Peganum harmala* sont utilisées depuis longtemps Comme : nacrotyque, antihelminthique, antispasmodiques contre le rhumatisme et l'asthme. Cette utilisation des graines est due à la richesse de celle-ci en alcaloïdes dont les plus Importants sont l'harmine, l'harmaline, l'harmol et l'harmalol, elle présente une activité Antivirale (**Habbachi et al., 2013**). L'usage de harmel est rencontré dans les diarrhées, les douleurs intestinales, L'impuissance sexuelle ; les femmes ont recours à cette plante pour

traiter la stérilité (**Bousliman et al., 2012**). Elle est aussi utilisée en pharmacologie et elle est antimicrobienne (**Abbassi et al., 2003**).

Peganum harmala est utilisé comme analgésique, anti inflammatoire et pour traiter la dépression. Il a été établi au laboratoire que l'harmaline est un ingrédient actif du *Peganum harmala*. C'est un stimulant du système nerveux central et un inhibiteur réversible de la MAO-A (mono-amine-oxydase A), une catégorie d'antidépresseurs. La fumée des graines tue les algues, les bactéries, les parasites intestinaux et les moisissures.

Peganum harmala a une activité antibactérienne contre les bactéries résistantes aux médicaments. La racine de cette plante est appliquée pour tuer les poux et les graines tuent les insectes. Il inhibe également la reproduction du coléoptère *Tribolium castaneum*. Il est également utilisé comme anthelminthique (pour expulser les vers parasitiques).

Apparemment, les Grec anciens utilisent les graines de *Peganum harmala* en poudre pour débarrasser des ténias et pour traiter la fièvre récurrente (paludisme). Il est aussi un abortif et en grand quantité il peut réduire la spermatogenèse et la fertilité chez le rat (**Al-Shamma et al., 1981**).

I.1.7. Toxicité

P. harmala est une espèce toxique pour les animaux et pour les humains. Elle est hallucinogène et psychoactive, responsable de la paralysie du système nerveux et de l'arrêt respiratoire et susceptible de provoquer l'interruption de la grossesse chez les femmes (**Abbassi et al., 2003**). Les doses toxiques entraînent un abaissement de la pression artérielle dû en grande partie à la faiblesse du muscle cardiaque et d'une chute de la température corporelle (**Goulthard, 1934**). Une dose de 2,5 g de graines de *Peganum harmala* L. entraîne des troubles visuels et des troubles circulatoires (**Bousliman et al., 2012**).

I.1.8. Etude phytochimiques de *Peganum harmala*

Le tableau 01 montre les résultats des tests phytochimiques effectuée sur les feuilles de *Peganum harmala* (**Behidj-Benyounes et al., 2015**).

Tableau 01 : Teste phytochimiques de *Peganum harmala*

| Métabolites | Feuilles |
|-----------------------|----------|
| Alcaloïdes | +++ |
| Anthocyanes | + |
| Coumarines | +++ |
| Flavonoïdes | + |
| Glucosides | - |
| Leuco anthocyanes | + |
| Quinones : | |
| Quinones libres | + |
| Quinones combinés | - |
| Saponosides | +++ |
| Tannins catéchétiques | + |
| Tannins galliques | - |

(-) : Nulle. (+)/Faible. (++) : Moyennement riche. (+++) : Riche.

Les résultats obtenus à partir de l'étude phytochimiques des feuilles de *P. harmala* montrent que les principaux composés majeurs présents en grande quantité sont les alcaloïdes. Ils sont suivis par les coumarines et les Saponosides.

Les flavonoïdes, les anthocyanes, les leuco anthocyanes, les quinones libres et les tannins catéchétiques viennent avec des faibles quantités. Les autres composants à savoir les glucosides, les quinones combinées et les tannins galliques sont totalement absents (**Behidj-Benyounes et al., 2015**).

I.2. Activités biologiques

I.2.1. Activité antioxydant

I.2.1.1. Stress oxydant

Le stress oxydants se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (**ERO**) et les capacités cellulaires antioxydants (**Figure 03**). Il est la principale cause initiale de plusieurs maladies. C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les Rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Alain et al., 2011**).

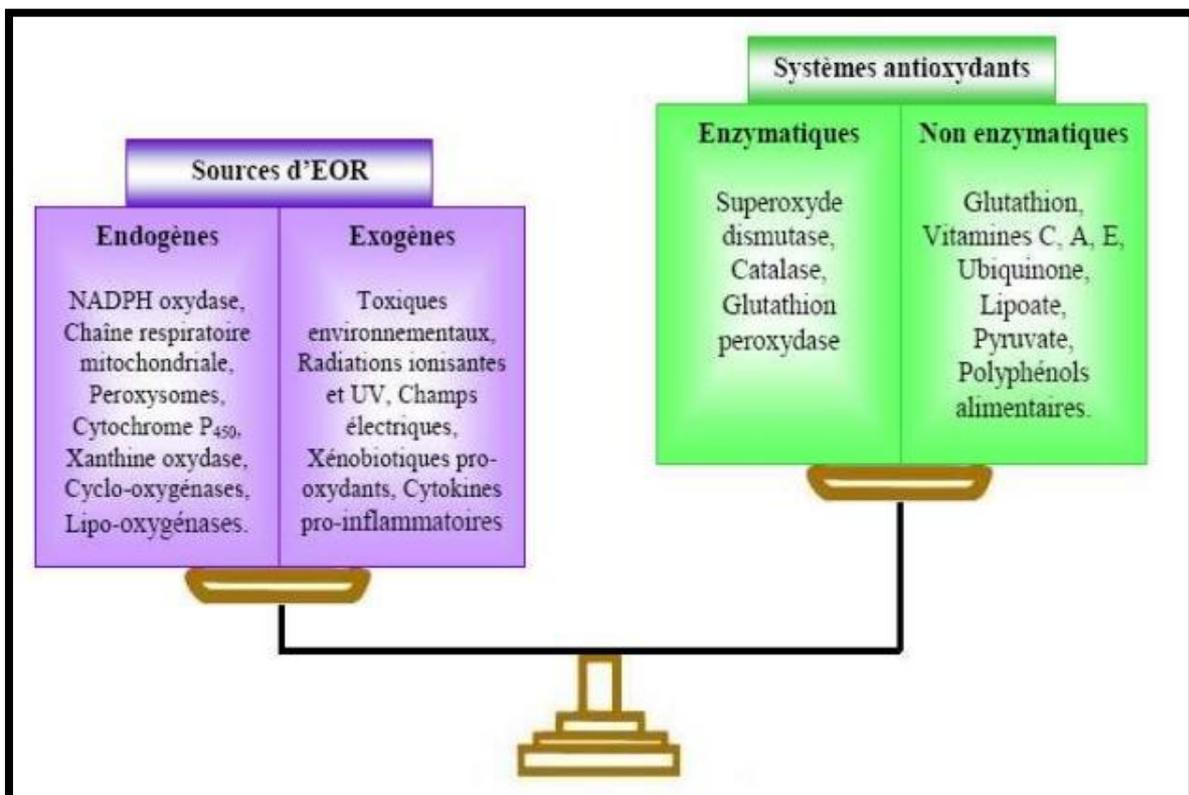


Figure 03 : Balance radicaux libres / antioxydants (Nkhili, 2009).

I.2.1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres jouent un rôle important dans la vie et la mort de la cellule. Ce sont des électrons instables non appariés dans leur enveloppe extérieure et peuvent devenir très réactifs (**Noori, 2012**). Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cependant, leur production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (**Favier,**

2003). Les espèces réactives de l'oxygène sont les dérivés de l'oxygène cellulaire, produit constamment dans notre corps. Les **ROS** comprennent les super oxydes $O_2^{\cdot-}$, les peroxydes d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet 1O_2 et les ions hydroxyles OH^{\cdot} . Le stress oxydatif est également produit par les espèces réactives de l'azote, qui comprennent le nitrate, le nitrite, le dioxyde nitrique, l'oxyde nitrique et le peroxyde nitrite $ONOO^{\cdot}$ (**Noori, 2012**).

I.2.1.3. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (**ERO**) tels que l'oxygène singulet, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène sont des molécules partiellement réduites et fortement toxiques, elles sont responsables des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique. Ces espèces oxygénées sont produites par l'organisme au cours des réactions métaboliques normales des cellules. D'un autre côté l'exposition environnementale à divers facteurs (tabac, polluants, alcool, pesticides synthétisés) augmente leur production. (**Amarti et al., 2011**). Les **ERO** seraient également impliquées dans les maladies neurodégénératives et début tardif, notamment la maladie d'Alzheimer, ou la mort neuronale pourrait être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres. Elle semble également jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, puisque ces espèces peuvent être responsables de mutations dans l'ADN (**Monique et al., 2003**).

I.2.1.4. Système de défense antioxydant

❖ Antioxydants

Le terme antioxydant fait référence à toute molécule capable de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules. (**Rahman, 2007**). D'une manière générale, les antioxydants sont des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène (**Figure 04**). Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable (**Favier, 2003**).

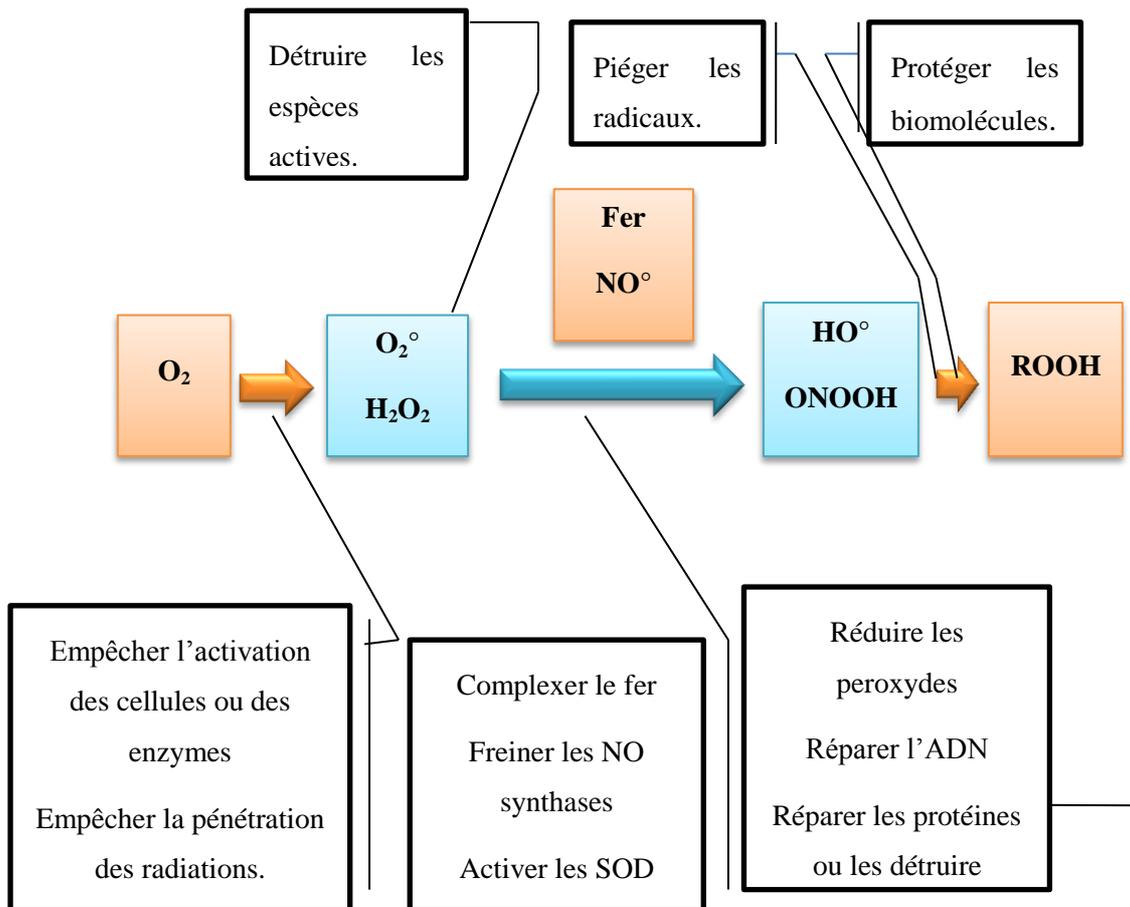


Figure 04 : Mécanisme d'action du système antioxydant (Favier, 2003).

a. Antioxydants endogènes

➤ Antioxydants enzymatiques

• *Superoxyde dismutase (SOD)*

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Haleng, 2007).

• *La catalase*

La catalase se trouve dans les peroxysomes essentiellement. Elle assure la transformation en eau et dioxygène du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , pour le quelle elle a une moins fort affinité que le GPX. Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol.



- **La glutathion peroxydase**

La **GPX** est une sélénoprotéine qui réduit les peroxydes en dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit. Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes Lipidiques résultait de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturé (**Haleng, 2007**).

➤ **Antioxydants non enzymatique**

De nombreux antioxydants non enzymatique sont facilement dosables, tant les composés hydrophiles, comme la glutathion et l'acide ascorbique (Vitamine C), que les lipophiles, comme l' α -tocophérol (Vitamines E), le β -carotène (Vitamine A) et l'ubiquinol (**Bruno, 2006**).

b. Les antioxydants exogènes

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importances source d'antioxydants. L'organisme peut tirer profit de nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans son alimentation (**pham-Huy et al., 2008 ; kalam et al., 2012**). Le tableau ci-dessous présent que La vitamine E, C, antioxydants de thiol, caroténoïdes, flavonoïdes jouent un rôle important dans la lutte contre le stress oxydant (**Rahman, 2007**).

Tableau 02 : Différents antioxydants et leurs modes d'action.

| Antioxydants | Mode d'action |
|-----------------------------|--|
| Vitamine C | C'est un antioxydant hydrosoluble et puissant, joue un rôle important dans la protection des groupes thiol contre l'oxydation. |
| Vitamine E | C'est une vitamine liposoluble à un rôle majeur dans la protection contre la peroxydation lipidique. |
| Antioxydant de thiol | Le principal antioxydant thiol est le tripeptide glutathion GSH, qui est un antioxydant protecteur contre le stress oxydatif. il est un cofacteur pour plusieurs enzyme détoxifiantes, récupérer le radical hydroxyle et l'oxygène singulet. |
| Flavonoïdes | Il s'agit d'une vaste classe de groupes de métabolites végétaux à faible poids moléculaire, ont un rôle antioxydants ; ils peuvent piéger les radicaux peroxy et inhibent de façon efficace la peroxydation lipidique. |
| Caroténoïdes | Ce sont des pigments colorés présent dans la plantes et les microorganismes ils peuvent piéger les radicaux peroxy. |

I.2.1.5. Tests d'activité antioxydant

a. Test DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényle- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libre utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (fig. 1). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleu bien caractéristique de la solution de DPPH. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm. Dans le cas des composés phénolique, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres des par le transfert de l'atome H sur le DPPH alors transformé en une molécule stable DPPHH (Cristina et al., 2009).

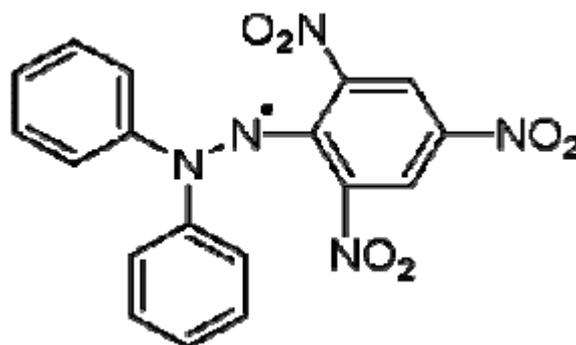


Figure 05 : Structure chimique du radical libre DPPH (Cristina et al., 2009).

b. Test FRAP

Le test de la réduction du fer est considéré comme un test direct et rapide. Il est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et déterminer l'activité antioxydante des extraits étudiés dans un milieu neutre (Oyaizu, 1986). Ce test est basé sur la réduction des ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (Ferricyanure) à des ions de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (ferrocyanure) qui donne en présence des ions Fe^{2+} une coloration bleu clair, mesurable à la longueur d'onde 700 nm.

c. TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity)

Cette méthode, développée par Winston, utilise la réaction d'oxydation de l'acide 2-céto-4-méthiobutyrique (KMBA) en éthylène par un radical peroxy. Ce radical est formé à partir de l'AAPH, et la formation d'éthylène est mesurée par chromatographie gazeuse. Le

pouvoir antioxydant d'un composé est évalué par sa capacité à inhiber la formation d'éthylène (winston *et al.*, 1998).

I.2.2. Activité antibactérienne

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antimicrobiens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment.

Cependant, en raison du souci majeur des consommateurs de denrées sans additifs chimiques, la recherche d'additifs naturels, notamment d'origine végétale, s'est développée particulièrement ces dernières années. Par conséquent, l'utilisation de produits naturels possédant une activité antimicrobienne s'avère nécessaire (Rozman et Jersek, 2009).

I.2.2.1. Agents antimicrobiens et antibiotiques

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes (Asada *et al.*, 1998). Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme (Perry *et al.*, 2002).

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

I.2.2.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon :

- le site d'action sur les agents infectieux (paroi, membrane, acide nucléique et Protéines).
- les microorganismes qu'ils inhibent (des antibiotiques antimycosiques, anti tumoraux, antiviraux et anti protozoaires).
- la structure chimique (Smaoui, 2010).

I.2.2.3. Mode d'action des antibiotiques

En thérapie, les antibiotiques doivent tuer ou inhiber les micro-organismes sans détruire nos cellules. En effet, pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules de l'hôte (**Smaoui, 2010**).

I.2.2.4. L'effet bactériostatique

C'est un effet au cours de laquelle il ne se manifeste aucune destruction bactérienne on remarque une inhibition de la croissance bactérienne, croissance qui reprend dès que la substance disparaît. En limitant la croissance bactérienne, la molécule permet aux défenses naturelles de l'organisme d'entrer en jeu sans être dépassées. L'effet bactériostatique d'une molécule est évalué par la concentration minimale inhibitrice. Pour une souche donnée, la CMI est la plus faible concentration inhibitrice d'antibiotique pour laquelle il n'a plus des germes microbiens visibles (**Muanda, 2010**).

I.2.2.5. L'effet bactéricide

C'est un effet qui se manifeste par une accélération de la mort des bactéries aux concentrations d'ATB utilisées in vivo ou in vitro; s'il persiste moins de 0,01% de survivants après 18 h de culture (**Muanda, 2010**).

I.3. Composés phénoliques

I.3.1. Définition

Les composées phénoliques ou *les polyphénols* sont des molécules naturelles issues du métabolisme secondaire des végétaux ils sont largement réponsus dans l'alimentation (**Bart et al., 2006**). Ces substances naturelles présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes ou ils sont contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles telles que l'amertume et l'astringence. Les types et les concentrations de ces composés dépendent d'un certain nombre de facteurs : le stade de maturation, le sol, les conditions climatiques, la culture de la vigne et le traitement auquel elle est soumise (**Ojeil et al., 2010**).

Les polyphénols présentent des intérêts considérables en agronomie. Ils jouent un rôle important dans les mécanismes de défense de la plante vis-à-vis des champignons et des prédateurs, comme les insectes et les oiseaux. Il est maintenant reconnu que les composés phénoliques interviennent aussi dans la santé humaine : lutte contre l'athérosclérose, action anticancérigène, source majeur d'antioxydants naturels permettant de lutter contre le vieillissement cellulaire (**Khady et al., 2010**).

I.3.2. Structure et classification des composés phénoliques

Sous la désignation des composés phénoliques on désigne un vaste ensemble de substances qui possèdent un cycle aromatiques portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Plusieurs milliers d'entre eux ont été décrits et caractérisés chez les végétaux grâce aux progrès des techniques d'analyse (chromatographie, électrophorèses capillaires...). Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbones constitutifs et la structure de base du squelette carboné (**Tableau 03**). Dans la vacuole, sont présentes des formes simples et solubles ainsi que des formes polymérisées plus ou moins solubles (Tannins). Par contre, les formes insolubles (lignines...) sont directement associées à la paroi. Les acides hydroxybenzoïques jouent un rôle important en raison de leur abondance et de leur diversité dans la plupart des organes végétaux. Les flavonoïdes ont généralement une très large répartition chez les végétaux (**Jean-Jacques, 1996**).

Tableau 03 : Principales classes des composés phénoliques

| Nombre d'atomes de carbone | Squelette de bases | Classe | Exemple | Plante alimentaire (exemple) |
|----------------------------|--|----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 6 | C ₆ | Phénols simples | Catéchol | |
| 7 | C ₆ -C ₁ | A.Hydroxybenzoïques | <i>p</i> -Hydroxybenzoïques | Epices, fraise |
| 9 | C ₆ -C ₃ | A.Hydroxycinnamiques | Acide caféique | Pomme, P.de terre |
| | | Coumarines | Scopoline | Citrus |
| 10 | C ₆ -C ₄ | Naphthoquinones | Juglone | Noix |
| 13 | C ₆ -C ₁ -C ₆ | Xanthones | Mangiferine | Mangue |
| 15 | C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes | Quercétol, cyanidol | Fruites, légumes |
| | | Isoflavonoïdes | Daidzeine | Soja, pois |
| N | (C ₆ -C ₃) _n | Lignines | | Fruits à noyaux |
| N | (C ₁₅) _n | Tannins | | Raisin rouge, kaki |

I.3.2.1. Non flavonoïdes

a. Acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent l'une des principales classes des métabolites secondaires présents dans les plantes. Ils sont largement répandus dans les plantes. Ils dérivent de l'acide hydroxybenzoïque ou de l'acide hydroxycinnamique. Ils contiennent un cycle benzène hydroxylé (Heim et al., 2002).

- **Acides hydroxybenzoïques**

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C₆--C₁). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Sarni et Cheynier, 2006).

- **Acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6 – C3) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (**Richeter, 1993; Guignard, 1974; Psotova et al., 2003**).

b. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (**Perret, 2001**).

c. Lignanes

Les lignanes sont les dimères des unités de phenylpropane (C6 C4) (**Benarous, 2009**). La distribution botanique des lignanes est large: plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus (**Midoun, 2011**).

d. Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Sarni et Cheynier, 2006**).

e. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques présents dans la nature sous forme polymérisée, ayant des poids moléculaire compris entre 500 et 3.000 qui ont une aptitude à transformer les peaux fraîches en cuir imputrescible (**Jacqueline, 1978**).

f. Coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines du méhiot et du marronnier d'Inde contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu

dans le celen, soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella est un puissant vasodilatateur Coronarien (**Larousse, 2001**).

I.3.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes occupent une place privilégiée en ce sens qu'ils constituent une des familles des composés phénoliques largement répandus. Le nombre des flavonoïdes actuellement identifiés et publiés doit se situer entre 600 et 800 et de nombreux laboratoires s'intéressent à ces substances tant en Allemagne, Etats-Unis, Japon, Australie, France. La famille des flavonoïdes est depuis bien des années définie par la nature de son squelette qui carboné qui comprend 15 atomes de carbone répartis selon la séquence C₆-C₃-C₆ commune à tous les flavonoïdes (**Courbat, 1972**).

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**). Parmi les flavonoïdes, on distingue les anthocyanes pigment rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune claire, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tanins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (**Macheix et al., 2005 ; Medic-saric et al., 2004**).

I.3.3. Localisation des composés phénoliques dans la plante

A l'échelle cellulaire, les composés phénoliques sont principalement localisés dans la paroi cellulaire, ou sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes) et dans la vacuole (tanins, flavonols, anthocyanes, acide chlorogénique...).

Au niveau tissulaire, les composés phénoliques sont inégalement répartis. Les esters hydroxycinnamiques peuvent s'accumuler préférentiellement dans les parties les plus externes du fruit (cas de la poire), ou dans le cœur du fruit (cas de la pomme) ou dans les tubercules (cas de la pomme de terre). Chez certains fruits, comme l'ananas, des concentrations croissantes d'esters p-coumaroylquiniques sont observées de l'intérieur vers l'extérieur et du sommet vers la base du fruit. Les flavonoïdes, tels que les anthocyanes et les flavonols, sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes de la plante, en particulier les épidermes des fruits et des feuilles.

Les différents organes d'une plante donnée présentent également des différences très importantes. Chaque partie du végétal peut être caractérisée par son profil phénolique (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

I.3.4. Intérêt des polyphénols

Les composés phénoliques ont été impliqués depuis longtemps dans certains aspects de la physiologie de la plante. L'intérêt de ces composés est présenté dans la figure ci-dessous (figure 06).



Figure 06 : Importance des composés phénoliques dans la vie de la plante (Jean-Jacques, 1996)

I.3.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques

I.3.5.1. Propriété antioxydants des polyphénols

Plusieurs études ont souligné que beaucoup d'entre eux montrent des activités biologiques liées à leurs propriété antioxydants et antiradicalaires. Grace à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capable de piéger les radicaux libres oxygènes en particulier les radicaux peroxydes (ROO°), alkoxyles (RO°), superoxyde (O_2^\cdot) et les hydroxyles (OH), générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...). En effet, leur rôle d'antioxydants naturels permet à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène qui sont à l'origine d'un grand nombre de maladies, ce qui suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (Ojeil et al., 2010).

I.3.5.2. Propriété anti-cancéreux

La catéchine qui est présenté dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, a montré une activité anti-tumorale. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses.

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du colon et du poumon (Nkhili, 2009).

I.3.5.3. Propriété anti-ulcère

Dans les expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production leucotriènes. D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et la production de PAF (*Platelet Activating Factor*) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes (Nkhili, 2009).

Les différentes recherches effectuées dans cette étude ont été réalisées au niveau du :

- Laboratoire de recherche sur les molécules bioactives et applications.
- Laboratoire de recherche sur la chimie organique et hétéro chimie.
- Laboratoires pédagogiques du département de Biologie appliquée
- Laboratoires pédagogiques du département des sciences de la terre et de l'univers.

II. 1. Macération et extraction

II.1.1. Matériel végétal

Peganum harmala (**Figure 07**) a été récolté dans la région de Bir dhab (Djbel Belkfif) de la wilaya de Tébessa (**Figure 08**). Les parties aériennes de la plante ont été lavées, séchées à l'abri de la lumière et conservées dans des sacs en papier. Ainsi le matériel végétal est fourni "prêt à l'emploi" par Gattoute Saliha. L'échantillon en floraison a été prélevé en début du mois de juin de l'année 2015. L'identification de l'espèce de la plante a été déterminée par Mme Hioun Soraya, maitre assistante au département des êtres vivants, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Université Larbi Tébessi, Tébessa.



Figure 07 : Arbuste de *Peganum harmala* (Djbel Belkfif) (Nahal et Abidi, 2016).



Figure 08 : Carte géographique de la station de prélèvement de *Peganum harmala*. (Google Map) (Nahal et Abidi, 2016).

II.1.2. Matériel de l'extraction

Différents matériels ont été utilisés pour la préparation des extraits de *Peganum harmala* (Tableau 04).

Tableau 04 : Liste d'appareils, de verreries et de réactifs utilisés pour l'extraction.

| Appareils | Verrerie et autres | Réactifs et autres | |
|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| Rota vapeur (BUCHI R 210) | Tige en verre | Eau distillée | |
| Balance de précision (ALS 286 4N) | Béchers | Méthanol | |
| Etuve (Memmert) | Eprouvettes graduées, | Ether de pétrole | |
| Balance (DHAUS Scout SE) | Entonnoirs, Pissettes. | Acétate d'éthyle | |
| | Flacons en verre. | | Dichlorométhane |
| | Coton | | |
| | Papier (aluminium, absorbant) | | |

II.1.3. Méthodologie de l'extraction

Le protocole de l'extraction adopté a été élaboré dans le laboratoire de recherche des molécules bioactives et applications par Dr. ZEGHIB Assia (**Figure 09**).

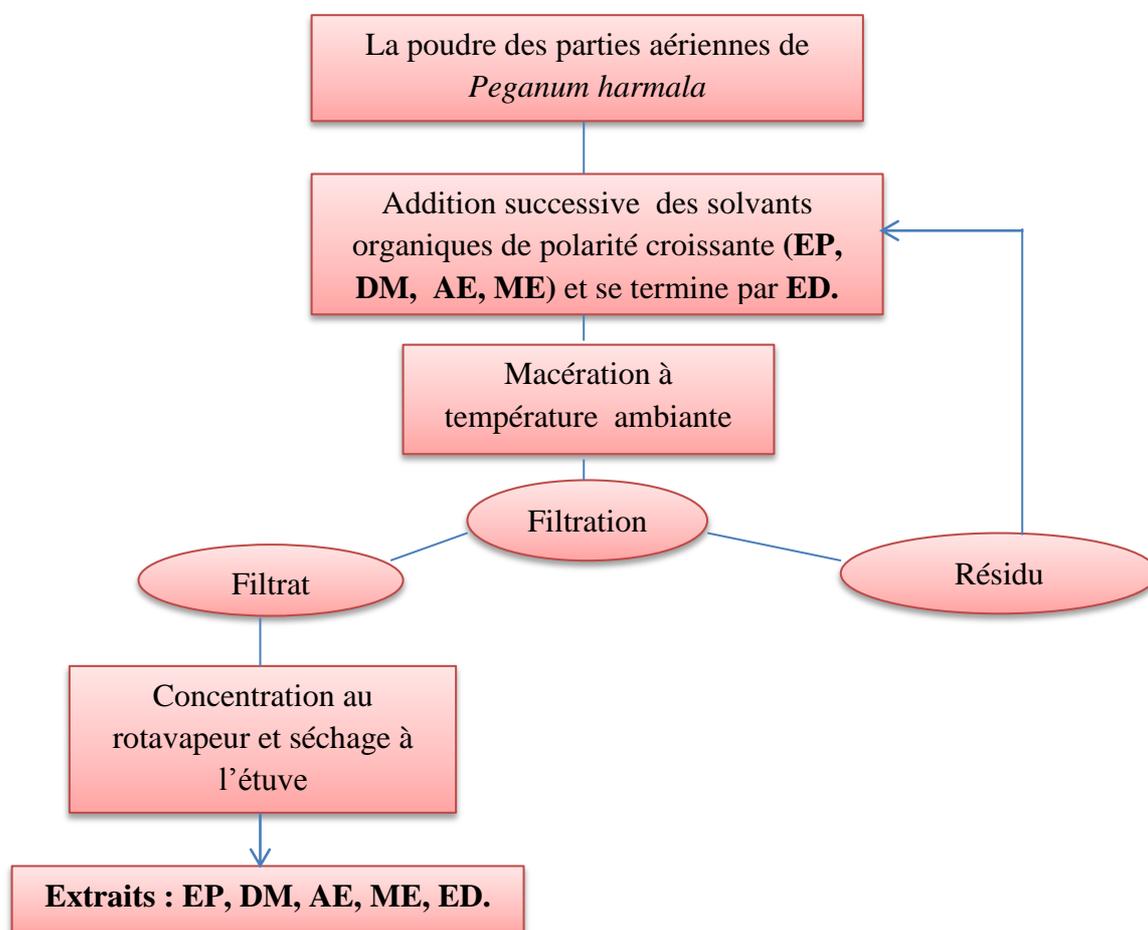


Figure 09 : Protocole de préparation des différents extraits de *Peganum harmala*.

La poudre des parties aériennes de la plante de *Peganum harmala* a été macérée à température ambiante avec des solvants organiques de polarité croissante selon l'ordre suivant : éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol et se termine par l'eau distillée. Après filtration, les filtrats obtenus sont évaporés sous pression réduite par l'utilisation de Rota-vapeur BUCHI R 210 (**Figure 10**). Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés uniquement à l'extrait méthanolique. Les autres extraits ont été conservés jusqu'à leur utilisation dans d'autres travaux de recherche future.

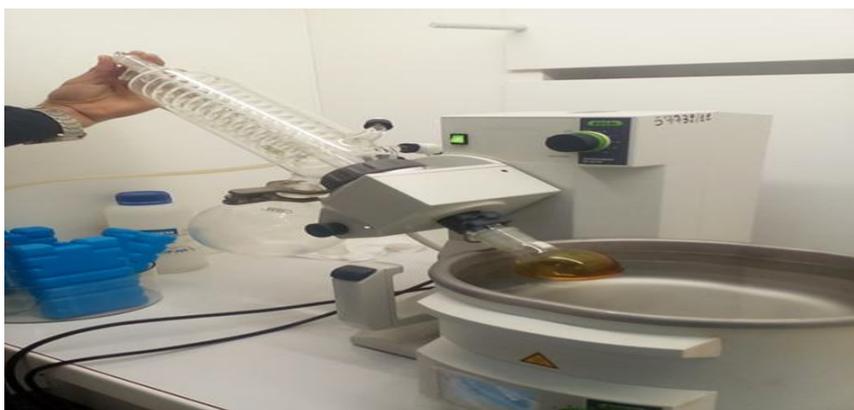


Figure 10 : Rota-vapeur BUCHI R-210 (photo personnelle).

II.1.4. Calcul du rendement des extraits

Le rendement en extrait sec a été déterminé par le rapport entre le poids de l'extrait sec et celui du matériel végétal sec utilisé pour l'extraction en gramme. Les rendements des extraits sont calculés selon la formule suivante :

$$\mathbf{Rdt\% = (P_{\text{extrait}} / P_{\text{végétal}}) \times 100}$$

P_{extrait} = le poids de l'extrait sec en gramme.

$P_{\text{végétal}}$ = le poids du végétal sec en gramme.

II.2. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante de *Peganum harmala* a été évaluée en adoptant la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

II.2.1. Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur violette en jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Parejo et al., 2003**). Cette décoloration est représentative de la capacité des substances à piéger les radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique.

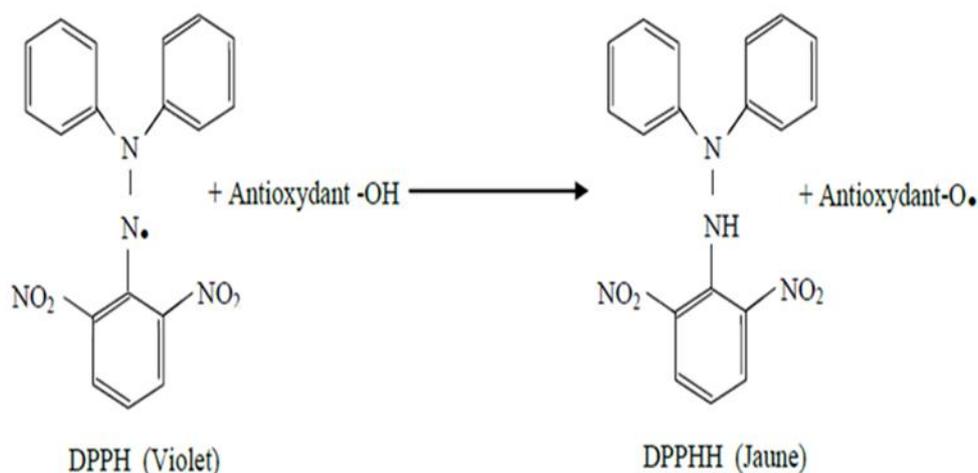


Figure 11 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi et al., 015).

II.2.2. Matériel destiné à la réalisation de l'activité antioxydante

Différents matériels ont été utilisés pour l'étude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* (Tableau 05).

Tableau 05 : Liste de matériels utilisés pour l'activité antioxydante

| Appareil | Verreries et autre | Réactif | Solvant et soluté |
|---|---|--|-------------------|
| Spectrophotomètre UV-VISIBLE 1700 (Pharma S pec SHIMADZU) | Tube à hémolyse | 2.2 diphényl-1 picrylhydra zyl (DPPH) | Eau distillé |
| Vortex (VWR VV3) | Flacon en verre | | |
| Micropipettes 500µL, 1000µL, 25µL | Papier absorbant Papier aluminium | | Méthanol |
| Balance de précision (ALS 286 4N) | Becher, Entonnoir Eprouvette graduée | | |
| | Portoir | | |
| | Embouts jaune et bleu | | |

II.2.3. Mode opératoire

Cinq solutions de concentration croissantes de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* ont été préparées : 200, 400, 600, 800, 1000 µg/ml. Vingt-cinq (25 µL) de chacune de ces solutions ont été mélangées avec 2500 µL d'une solution méthanolique de DPPH (0,04mg/ml). Après une période d'incubation de 30 min à la température de laboratoire l'absorbance est lue à 517nm contre le blanc qui contient 25 µL de méthanol et 2500µL de la solution de DPPH. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour la comparaison (**Burit et Bucar, 2000**).

II.2.4. Détermination du pourcentage d'inhibition

L'inhibition du radical libre DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$\text{Inhibition \%} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

Abs_{Contrôle} : Absorbance du contrôle

Abs_{extrait} : Absorbance de l'extrait.

II.3. Détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé)

II.3.1. Matériel

Le Matériel destiné à la réalisation de l'activité antibactérienne est présenté dans le tableau 06.

Tableau 06 : Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour la détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé).

| Appareil | Verrerie et autres | Réactifs et autres | Solvants et solutés |
|--------------------------------|--------------------------------------|---|------------------------------|
| Balance de précision | Tubes à vis 16x160mm | Milieu solide Mueller-Hinton (MH) | Eau distillée stérile |
| Plaque chauffante Agitative | Embouts jaunes | Gélose nutritive | Eau physiologique stérile |
| Etuve | Eprouvettes graduées | | Méthanol |
| Bec benzène | Ecouvillons | | |
| Micropipettes 5- 50µL | Boîtes de Pétri | | |
| Vortex | Papier absorbant Papier aluminium | | |

II.3.2. Test d'activité antibactérienne

Le test d'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (**Meddour et al., 2013**).

II.3.3. Souches bactériennes testées

Trois souches bactériennes de référence ATCC (fournie par l'*American type Culture Collection*) sont testées : *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835, *Staphylococcus aureus* 1 ATCC 25293 et *E. coli* PV, *Bacillus*, *Entérobactérie* PV qui sont d'origine clinique.

II.3.4. Milieu de culture

Nous utilisons la gélose nutritive MH (Muller Hinton) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes à l'extrait méthanolique. La préparation du milieu de culture MH se fait comme suit :

Dissoudre 38g de la gélose de MH dans un litre de l'eau distillé, puis à l'aide d'un bareau magnétique et agitateur le mélange est bien agité jusqu'à la dissolution complète. Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Après l'autoclavage, le milieu est coulé dans des boites de pétrie.

II.3.5. Ensemencement et dépôt des disques

Les boites sontensemencées par une suspension de 10^6 cellules/ml qui provient d'une culture bactérienne. L'ensemencement est se fait par écouvillonnage.

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide est comme suite :

- Trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, précédemment préparé puis l'essorer en passant fermement sur la paroi interne du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boite de 60° à chaque fois.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Appliquer les disques imbibés par l'extrait (15µL/disque) sur les boites de pétrie contenant la gélose de Muller-Hinton, en pressant chaque disque à l'aide de pinces bactériologique stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé.

- Incuber les boîtes de pétries à la température optimale de la croissance des bactéries testée (30°C pour la *Bacillus*, 37°C pour le reste des bactéries testés).

II.3.6.Lecture

L'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure à l'aide d'une règle du diamètre d'inhibition. Les résultats sont exprimés en diamètres (mm) des zones d'inhibition produites autour des disques.

III.1. Aspect et rendement des extraits des parties aériennes de *Peganum harmala*

Tableau 08 présentes Les résultats de l'extraction à partir les différentes parties aériennes de *Peganum harmala* par l'utilisation des cinq solvants a polarités croissant sont les suivants :

Tableau 08 : Aspect et rendements des extraits de *Peganum harmala*.

| Extrait | Aspect | Rendement (%) |
|----------------|---------------------------|----------------------|
| EP | Crème de couleur vert | 2,4 |
| DM | Cire de couleur marron | 2 |
| AE | Pommade de couleur marron | 1,1 |
| ME | Cire de couleur marron | 11,82 |
| ED | Solide de couleur marron | 18,28 |

EP : Ether de pétrole ; **DM** : Dichlorométhane ; **AE** : Acétate d'éthyle ; **ME** : méthanol

ED : Eau distillé

A travers les résultats obtenus, nous remarquons une grande différence entre les rendements des cinq extraits (extrait EP 2,4%, extrait DM 2%, extrait AE11%, extrait méthanolique 11,82%, extrait aqueux18 ,28%). Cette différence est expliquée par l'efficacité du solvant utilisé aux cours du processus d'extraction. Ces rendements montrent que l'eau est quantitativement la plus intéressante. Ceci s'explique par la richesse de cette plante en composés solubles dans ce solvant (eau). Le rendement des extraits EP, DM, AE, ME varient entre 1,1% pour l'extrait acétate d'éthyle et 11,8% pour l'extrait méthanolique (**Tableau 08**). Parmi ces derniers extraits, le rendement le plus intéressant est celui de l'extrait méthanolique. Ceci peut être dû à la polarité du solvant utilisé. En effet, nous observons que plus la polarité augmente, meilleur est le rendement.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par **Nahal et Abidi (2016)**. Ces auteurs rapportent des rendements 2,6%, 2%, 11,1% pour les extraits EP, DM, ME, respectivement. Ces valeurs sont plus proches à nos résultats sauf pour l'extrait AE qui avait un rendement plus faible (0,7%). En revanche, les résultats obtenus par **Rezzagui (2012)** montrent que le rendement de l'extraction par le méthanol des graines de *Peganum harmala* est plus élevé comparée au notre (20.18%). Ces différences peuvent être expliquées par l'effet de la saison de la récolte.

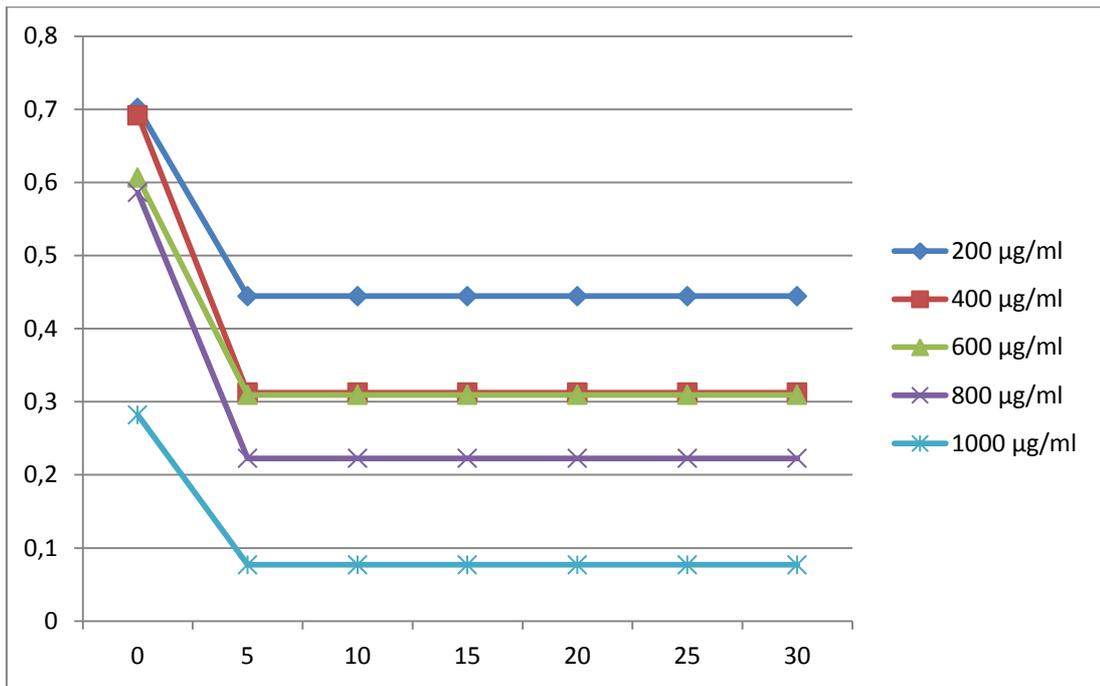
III.2. Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*

III.2.1. L'étude de la cinétique de la réaction

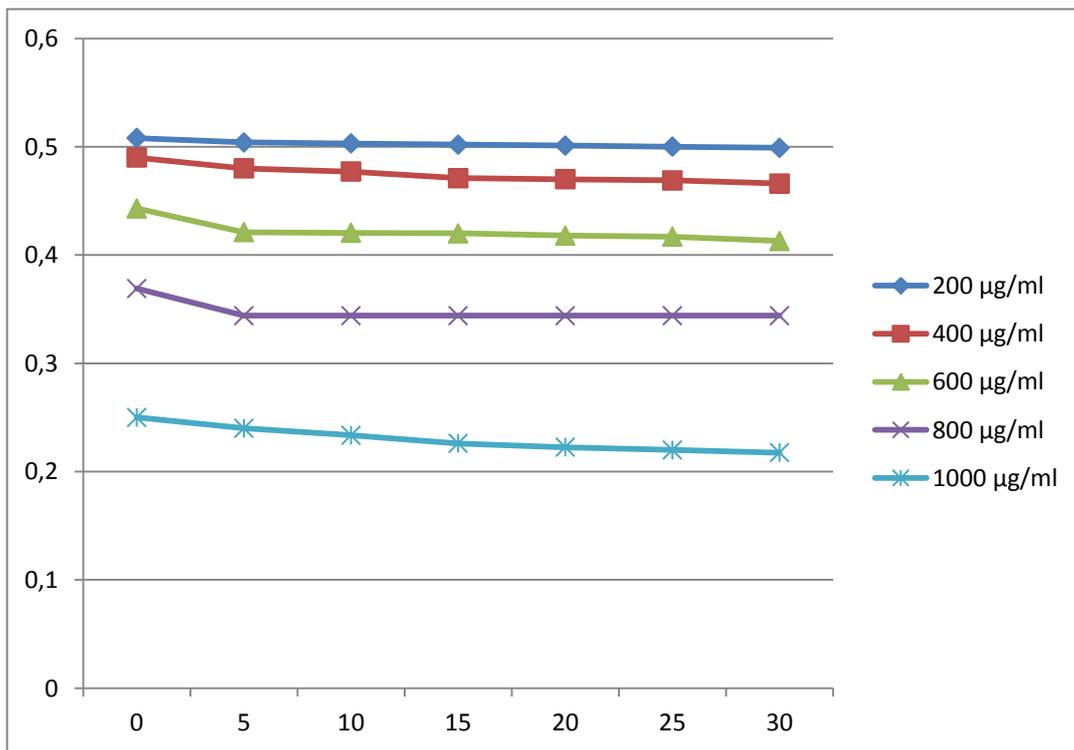
La cinétique de réduction du radical DPPH a été suivie pendant 30 mn pour les différentes concentrations utilisées. Les résultats concernant l'acide ascorbique et l'extrait méthanolique de *P. harmala* sont présentés dans la **figure 12**. Nous constatons que pour les deux composés examinés (Acide ascorbique et l'extrait méthanolique), la réaction est biphasée avec une diminution rapide de l'absorbance dans les premières minutes, suivie d'une étape plus lente, jusqu'au stade de l'équilibre. La réaction entre le DPPH et l'acide ascorbique donneur d'hydrogène atteint l'équilibre au bout d'un temps très court par rapport à l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* (5min vs 20 min, respectivement). L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'extrait méthanolique. En présence d'un radical libre DPPH°, l'atome H est transféré sur ce dernier pour le transformer en une molécule stable DPPH. Ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et, également, l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de l'antioxydant donneur d'hydrogène (**Khoudali et al., 2014**).

Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par **Edziri et al. (2010)** qui ont trouvé que l'extrait méthanolique des feuilles de *P. harmala* a montré le meilleur pouvoir antioxydant comparé à d'autres extraits de la même plante et ce en prenant la vitamine E comme témoin. En effet, ces auteurs rapportent un pourcentage d'inhibition de la peroxydation pour l'extrait méthanolique égale à 75,9% comparé à 80,6% pour la vitamine E.

Après 30 mn, l'absorbance enregistrée pour la concentration de 1000µg /mL d'extrait méthanolique paraît plus élevée que celle de la vitamine C (0,210 vs 0,077, respectivement). Ceci signifie que l'extrait méthanolique a montré une réduction accrue du pouvoir antioxydant pour les doses élevées. Cette constatation a été confirmée aussi par **Ghanya (2015)** qui affirme que l'activité réductrice de l'extrait méthanolique dépend de la concentration utilisée. Plus la concentration est élevée, meilleur est l'effet piègeur du radical libre DPPH.



(a): Vitamine C



(b): Extrait méthanolique de *Peganum harmala*

Figure 12: Réduction de DPPH par la vitamine C (a) et par l'extrait méthanolique (b).

III.2.2. Effet scavenger du radical DPPH

Les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des composés testés sont présentés dans la figure ci-dessous.

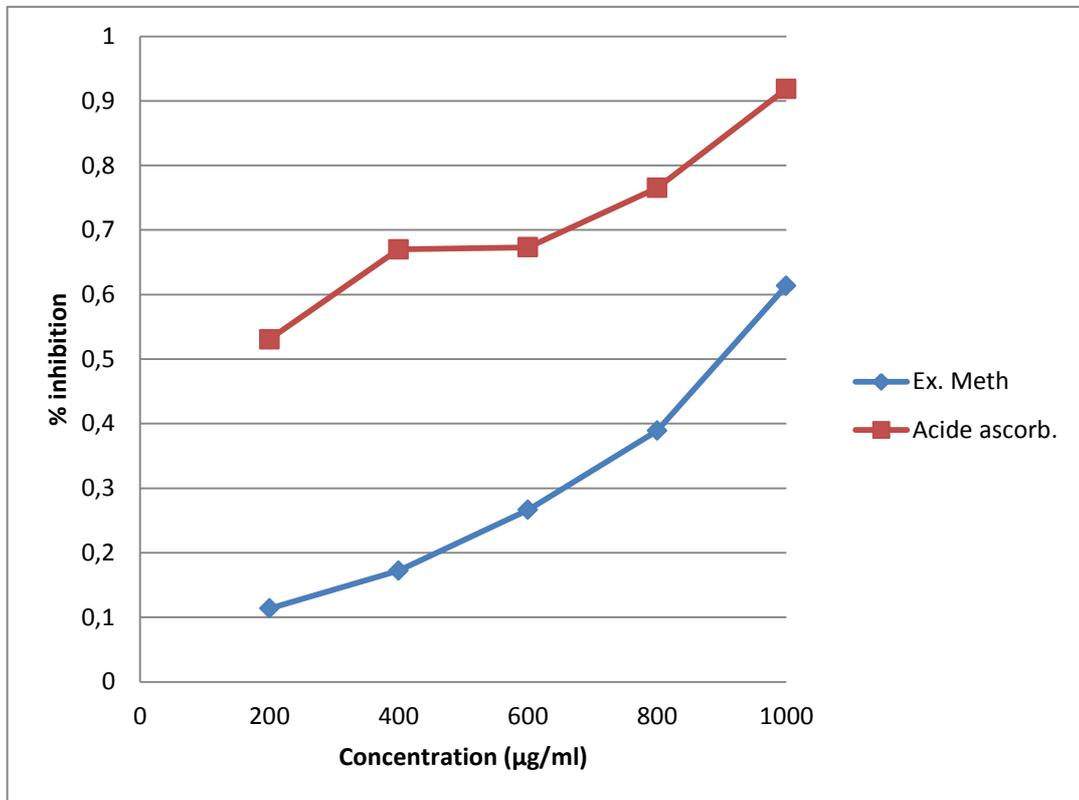


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* et de l'acide ascorbique.

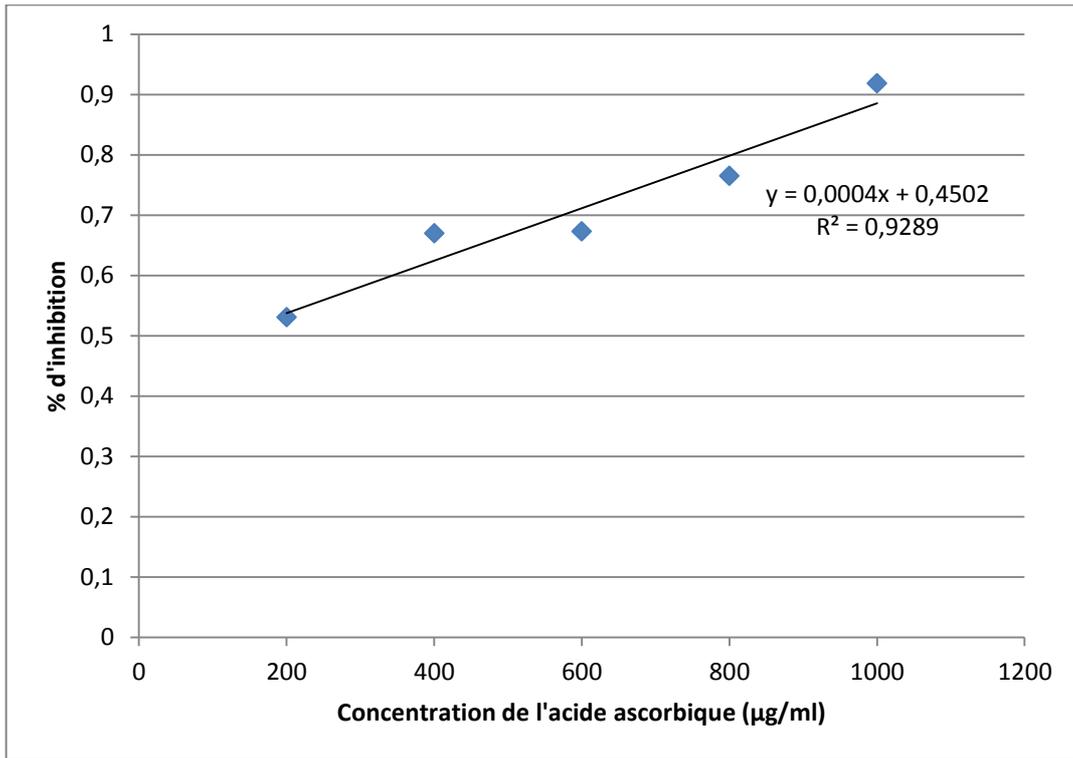
Ces résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration aussi bien pour l'acide ascorbique que pour l'extrait méthanolique du *Peganum harmala*. Nous observons que le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique est supérieur à celui de l'extrait méthanolique pour toutes les concentrations. La concentration 1000 µg/ml présente un pourcentage d'inhibition plus élevé pour la vitamine C que celle pour l'extrait méthanolique (0,91% vs 0,61%). Nous remarquons également pour la concentration 600 µg/ml que l'extrait méthanolique est doté d'un pourcentage d'inhibition (0,26%) qui est largement inférieur à celle de l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de (0,67%). Ceci est en accord avec les travaux menés par **Ghanya (2015)** sur l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* L. qui a trouvé que le pourcentage d'inhibition de cette plante est égale 61%.

III.2.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)

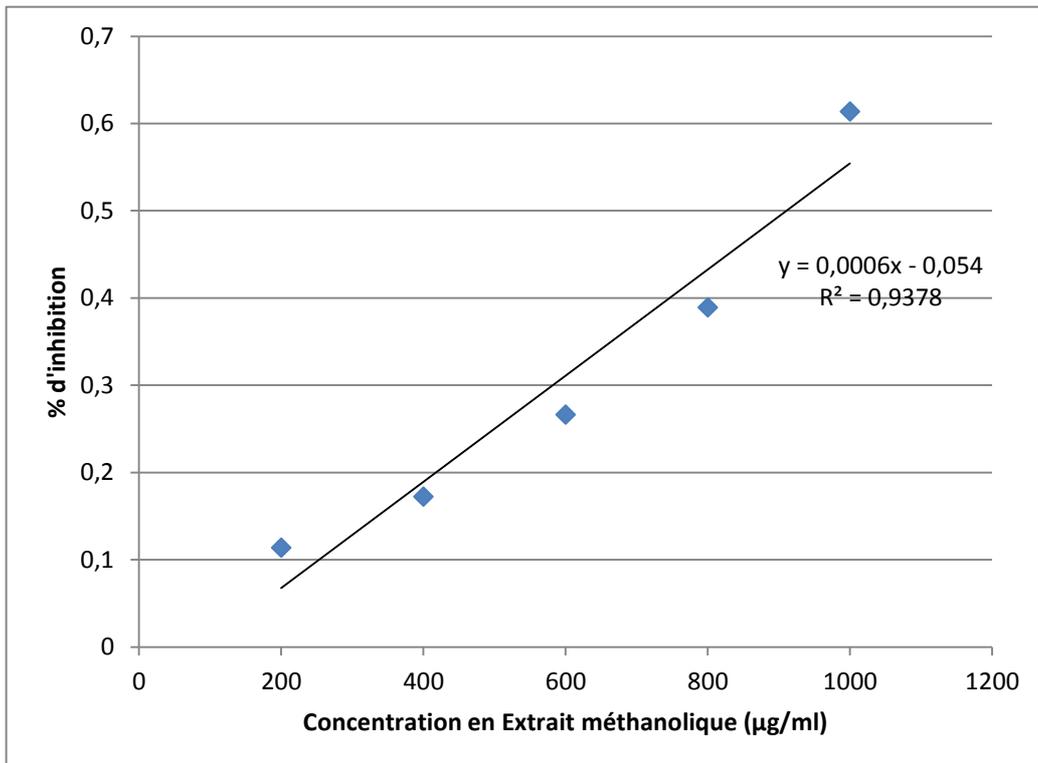
Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer la courbe qui représente les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique, la détermination graphique de IC50 se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*. La valeur IC50 (inhibition concentration 50) présente la concentration d'inhibition nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres. L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, cela veut dire que la valeur de CI50 la plus faible correspond à l'activité antiradicalaire la plus importante. Les valeurs d'IC50 de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala L.* et de l'acide ascorbique sont déterminées graphiquement comme c'est présenté dans la **figure 14**.

L'extrait méthanolique de *Peganum harmala* rend le radical libre stable (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 923,33 µg/ml montrant une activité très faible que le standard, l'acide ascorbique, qui ramène la stabilité au DPPH avec un IC50 de 114,31 µg/mL. D'après ces résultats nous prouvons que l'acide ascorbique reste l'antioxydant le plus efficace par rapport à l'extrait méthanolique de la plante étudiée.

De même, le travail mené par **Ghanya (2015)**, indique que l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* présente IC50 de 550 µg/ml par rapport à l'acide ascorbique qui a la plus grand capacité de piégeage avec IC50 de 320 µg/ml. En effet **Khelifi et al. (2013)** ont trouvé aussi pour la même plante que l'IC50 de l'extrait méthanolique est plus élevé à l'IC50 de l'acide ascorbique (70,16 vs 3,89 µg/ml). D'autres études menées par **Ouzid et al. (2018)** ont révélé que l'extrait fongique brut des mycoendophytes foliaires isolés à partir des feuilles saines de *Peganum harmala* de la région dayate Aiat a une IC50 de 6,15 mg/ml par rapport à l'acide ascorbique qui a IC50de 0,127 mg/ml. En effet, plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en polyphénols du matériel végétal et sa capacité antioxydante (**Burda et Oleszek, 2001; Vinson et al., 1995**).



(a): Vitamine C



(b): Extrait méthanolique

Figure 14 : Détermination de la valeur IC50 de la vitamine C (a) et de l'extrait méthanolique (b).

III.3. Activité antibactérienne de de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*

Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition de l'effet de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 09 : Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique.

| Bactérie | Diamètre de zone d'inhibition |
|--------------|-------------------------------|
| Staph1 | 13,67 ± 2,03 |
| Bacillus | 6,44 ± 0,51 |
| Pseudo | 11 ± 1,00 |
| E. coli ATCC | 10,44 ± 1,02 |
| E. coli PV | 11,33 ± 0,88 |
| Antéro PV | 12,67 ± 0,33 |

L'extrait méthanolique de *Peganum harmala* présente un effet inhibiteur limité sur les cinq souches testées *Escherichia coli* ATCC25921, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27835, *Staphylococcus aureus* ATCC25293, *E. coli* PV, *Entérobactérie* PV. L'inhibition la plus importante est obtenue avec la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 avec un diamètre d'inhibition moyen de 13,67 mm. Les diamètres d'inhibition moyens enregistrés pour les autres souches bactériennes sont de 12,67 mm pour *Entérobactérie* PV, 11,33 mm pour *E. coli* PV, 11,00 mm pour *P. aeruginosa*, et 10,44 mm pour *E. coli* ATCC.

En revanche, nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de *P. harmala* n'a aucun effet sur les *Bacillus* (**figure15**).

Les résultats mettent en évidence que l'extrait méthanolique a manifesté une activité limitée vis-à-vis des Gram+ et Gram-. L'activité antibactérienne observée de l'extrait méthanolique de *P. harmala* pourrait être attribuée à la présence de la grande quantité des polyphénols dans cet extrait (**Edziri et al., 2010**). En effet, la littérature rapporte que l'analyse chimique des extraits de la plante révèle la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tanins les flavonoïdes dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées (**Tahrouch et al., 2002**).

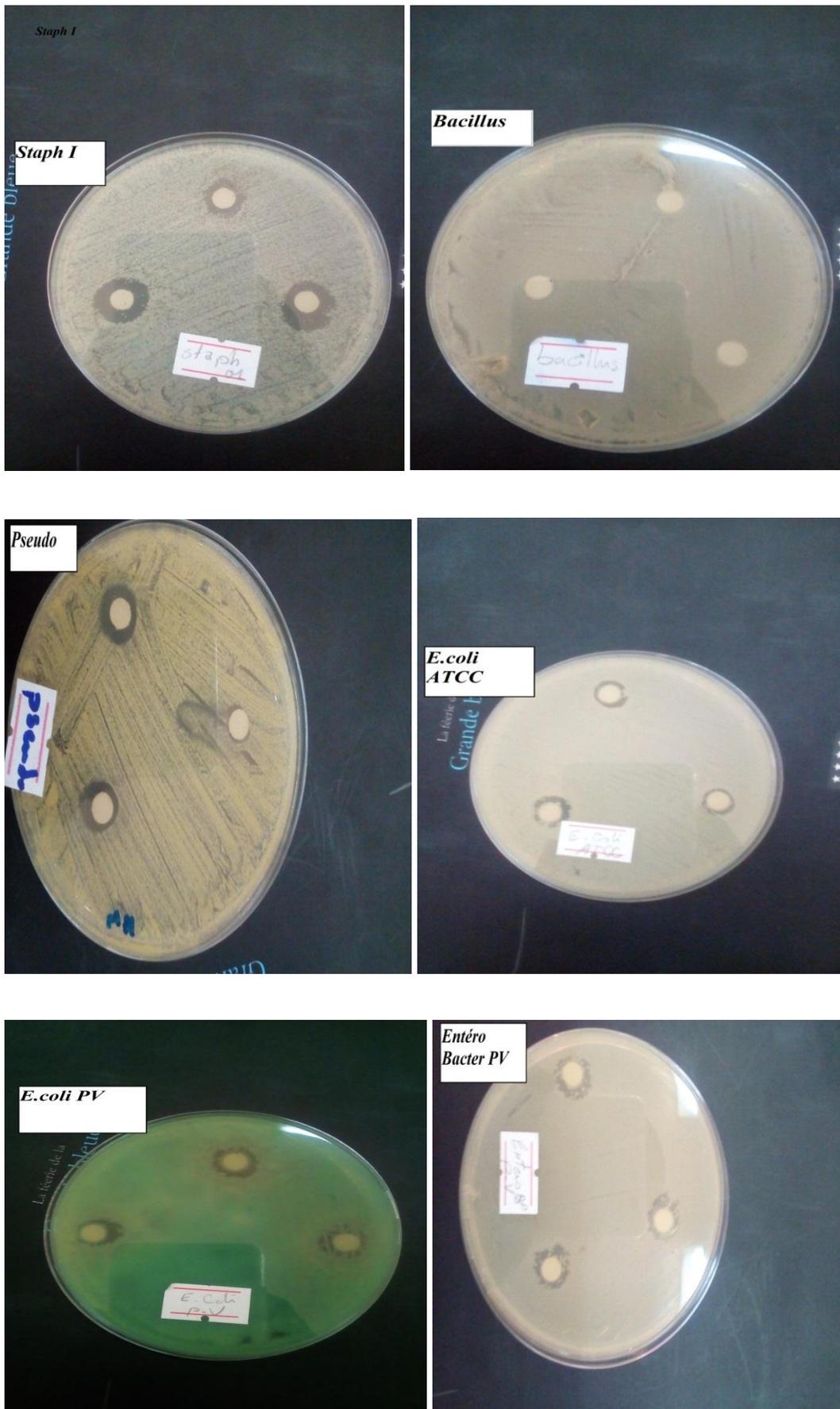


Figure 15 : Photos des tests antibactériens de *Peganum harmala* vis-à-vis des bactéries testées.

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

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

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier les activités antioxydantes et antibactériennes de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Peganum harmala* qui est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

Le processus d'extraction de la substance végétale a permis d'obtenir un rendement en extrait méthanolique assez remarquable (11,82%).

La valorisation de la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*, grâce au test de piégeage du radical libre du DPPH, a révélé que cet extrait possède un pouvoir antioxydant notable mais qui reste relativement faible par rapport à l'antioxydant standard ($IC_{50_{\text{méthanolique}}} = 923,33 \mu\text{g/ml}$ vs $IC_{50_{\text{VitC}}} = 114,31 \mu\text{g/ml}$).

Ce travail est complété par l'étude de l'action antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* sur des souches bactériennes. Les résultats obtenus révèlent que cet extrait présente une action inhibitrice sur les microorganismes testés. Cette action inhibitrice varie selon les souches utilisées. Nous trouvons que les bactéries testées présentent des zones d'inhibitions importantes, sauf *Bacillus* qui a un effet moins sensible. *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 présente un diamètre d'inhibition moyen de 13,67 mm. Les diamètres d'inhibition moyens enregistrés pour les autres souches bactériennes sont de 12,67 mm pour *Entérobactérie PV*, 11,33 mm pour *E. coli PV*, 11,00 mm pour *P. aeruginosa* et 10,44 mm et pour *E. coli* ATCC.

Ces résultats soulignent l'activité intéressante de l'extrait méthanolique de la plante de *Peganum harmala*, justifiant son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Enfin, il serait souhaitable d'étudier la meilleure manière d'introduire les extraits de *P. harmala* et leurs effets dans le traitement de différentes maladies. Il est donc intéressant de réaliser des études approfondies sur cette plante vu l'intérêt de la partie aérienne de cette plante en phytothérapie notamment :

- Etudier l'activité d'autres extraits de cette plante
- Investir d'autres activités biologiques telles que les activités anticancéreuse et anti-inflammatoire par exemple.
- Déterminer la composition chimique des extraits de *Peganum harmala*.
- Etude de la toxicité de cette plante.

A

- Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Stambouli, A., Ghaout, S .2003. Activité biologique de l'extrait de graines de *Peganum harmala* sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål 1775). Journal of Orthoptera Research, 12(1): 71-78.
- Alain, P.B., Banga B., Adou F. Y., Jean D.N & Allico J. D .2011. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature Vol. 8 N°1: 1 – 11.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Guedira, A et Chaouch A .2011. Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. Acta Bot. Gallica, 158 4 :513-523, 2011.
- Asada. Y, Oshikawa, T, Welli, Planta medica, 1998, 746,747 in mémoire de master Université des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie de Larbi Tébessi –Tébessa.
- Al-Shamma A, Drake S, Flynn DL, et al. 1981. "Antimicrobial agents from higher plants. Antimicrobial agents from *Peganum harmala* seeds". J Nat Prod. 44 (6): 745–7. doi:10.1021/np50018a025. PMID 7334386.

B

- Belkhiri A., Derouiche T., Moulahoum T., Boulebda N et Hamdi Pacha Y.2011. Médicaments à base de plantes Médicinales Traditionnelles : Necessite d'une Reglementation Adaptee Concernant Leur Mise Sur Le Marche En Algerie. Le 2ème Séminaire International sur les Plantes Médicinales SIPM'2.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N .2012. Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. 10:2–9.
- Bakiri, N., Bezzi, M., Khelifi, L., Khelifi, M .2016. Enquete ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. Dans la région de M'sila. Revue Agriculture.1 :38-42.
- Bousliman, Y., Ait EL Cadi, M., EL jaoudi, R., Laatiris, A., Bouklouze, A., Cherrah, Y .2012. Les plantes toxiques au Maroc. • Médecine du Maghreb. N°196.
- Behidj-Benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., Demmouche, K .2015. Screening Phytochimique et evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de

Peganum harmala L. récoltées dans la région de M'SILA. Sciences & Technologie. pp.27-37.

- Bruno, B .2006. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio* 2(1) :43-52.
- Bergogne-Berezin E and Dellamonica P.1995. Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, p. 486 in mémoire de magister Université des Sciences de la Nature et de la Vie Ferhat Abbas-Sétif.
- Benarous K., 2009. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: amylase, trypsine et lipase in mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Brat, P., George, S., Bellany, A., Duchauffaut, L., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N et Aniot M.J .2006. Daily Polyphenol Intake in France from fruit and vegetables. *Journal of nutrition*, 136(9) :2368-2373. In thèse de doctorat, université de carthage faculté des sciences de Bizerte.
- Burits, M & Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14: 323–328.
- Burda S. et Oleszek W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 2774-2779 in Projet de fin d'étude pour l'obtention du diplôme National d'Ingénieur .Université de Carthage.

C

- Cristina P., Ilonka S., Bartek .2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- Courbat, P.1972. Quelques généralités sur les composés flavonoïdes. *Angiologica*.9 :135-161(3-29).

E

- Edziri, H., Mastouri, M., Matieu, M., Zine. M., Gutman L & Aouni M. 2010. Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(48), PP. 8199-8205.

F

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

G

- Goulthard .1934. Les Plantes Médicinales Des Régions Arides. Unesco. Paris-7°.97P.
- Guignard, J.L. 1974. Abergé de Biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie: Masson. Paris. Pp 146-155. In mémoire de magister faculté de biologie de l'université Mentouri de Constantine.
- Ghedira, K.2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie* 3(4), 162-169. In thèse de doctorat en sciences Faculté des Sciences exactes, des sciences de la nature et de la vie. Université Mohamed Khider – Biskra.
- Ghanya, A .2015. Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Yemeni Medicinal Plants. *International Journal of Herbal Medicine* 3(3): 06-11.

H

- Habbachi, W., Benhissen. S., Ouakid. M. L., Farine J-P .2013. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (*Zygophllaceae*) sur la mortalité et le Développement larvaire de *Drosophila melanogaster*.82-88.
- Henry. 1949. Les Plantes Médicinales Des Régions Arides. Unesco. Paris-7°.97P.
- Haleng J, Pincemail, J.O., Defraigne, C., Charlier, J.P., Chapelle .2007. fonc . Le stress oxydant. *Rev Med Liege*; 62 : 10 : 628-638.
- Heim KE, Tagliaferro, AR, et Bobilya DJ .2002. Flavonoid antioxidants: chemistry,metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutrition Biochemistry*, 13(10):572–584 in thèse de doctorat de l'université Hassiba Benbouali de Chlef.

J

- Jean-Jacques, M .1996. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta bot. Gallica*, 143 (6) : 473-479.

- Jacqueline, D .1978. Les tanins dans les bois tropicaux. Revue bois et foret des tropicaux, n°182, novembre-décembre.

K

- Kalam S, Singh R, Mani A, Patel J, Naem KF, & Pandey A. 2012. Antioxydants : elixir of life. International Multidisciplinary Research Journal, 1 :18-34 in mémoire de magister Université des Sciences de la Nature et de la Vie Ferhat Abbas-Sétif.
- Khady, Ba., Emmanuel, T., Jacqueline, D., Ndiaga, C., Philippe, T .2010. Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. Biotechnol.Agron.Soc.Enviren.14 (1) :131-139.
- Khoudali1, S., Benmessaoud left, D., Essaqui1, A., Zertoubi, M., Azzi, M., Benaissa, M. 2014. Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. J. Mater. Environ. Sci. 5 (3) : 887-898.
- Khlifi, D., Sghaier, R., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., Bouajila, J.2013. Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. Food and Chemical Toxicology 55 : 202–208.

L

- Larousse B. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales, p 15 -84. In mémoire de master académique université Kasdi Merbah Ouargla faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

M

- Moghadam, MS., Maleki, S., Darabpour, E., Motamedi, H & Seyyed Nejad, SM .2010. Antibacterial activity of eight Iranian plant extracts against methicillin and cefixime resistant *Staphylococcus aureus* strains. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3: 262-265 in mémoire de magister Université des Sciences de la Nature et de la Vie Ferhat Abbas-Sétif.

- Monique, G.A., Dominique, B.R., Zohreh, A et Daniel, J .2003. Espèces réactives de l’oxygène. L’actualité chimique - novembre-décembre.
- Muanda, FN. 2010. Identification des Polyphénols, Evaluation de leur Activité Antioxydante et Etude de leurs Propriétés Biologiques in thèse de doctorat-Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d’importance économique. PPTUR Lausanne. In mémoire de magister de l’université Mentouri de Constantine faculté de biologie.
- Medic Saric, M., Jasprica, I., Smoleic-Bubalo, An et Mornar, A. 2004. Optimisation of chromatographic condition in thin layer chromatography of flavonoïdes and phenolic acids. Croatic achemica acta.77- (1-2), 361-366. In mémoire de magister de l’université Mentouri de Constantine faculté de biologie.
- Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., Ayachi, A .2013. Etude de l’activité antioxydante et antibactérienne des extraits d’un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L. lebanese science journal, vol.14, No.1.
- Midoun, T. 2011. Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltametrie Cyclique. In mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla.

N

- Noori, S .2012. An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. 1:413. doi:10.4172/scientificreports.413.
- Nkhili, E.2009. Polyphénols de l’alimentation : Extraction, Interaction avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant in mémoire de l’université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Nahal, G., Abidi, K .2016. Mémoire de master .Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Université de Larbi Tébessi –Tébessa.
- Nkhili, E. 2009. Polyphénols de l’Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant in mémoire de master Faculté des Science Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Larbi Tébessi-Tébessa.

O

- Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition 44: 307-315.
- Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Bou Mouncef, P., Rizk, T et Richard G. M. 2010. Identification et caractérisation des composés phénoliques extraits du Raisin Château Ksara. Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 2.
- Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N et Houali, K. 2018. Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate Aiat (LAGHOUAT, ALGERIA) Journal of Fundamental and Applied Sciences., 10(1), 147-157.

P

- Psychonaut, 2006. Conseil culture de *Peganum harmala* L. Disponible en format (URL) sur le site : <http://www.psychonaut.com/salon-annonces-generales/23382-conseil-culture.html> in thèse de doctorat de l'université Badji Mokhtar Annaba.
- Powers, S.K., Jackson, M.J .2008. Exercise-induced oxidative stress : cellular mechanisms and impact on muscle force production .Physiol Rev88,1243-1276 in thèse de doctorat de l'université de strasbourg et université de carthage.
- Pham-Huy LA, HeH,& Phamy-Huy C .2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. Internatinal Journal of Biomedical Medicine, 4 :89-86 in mémoire de magister Université des Sciences de la Nature et de la Vie Ferhat Abbas-Sétif.
- Perry. J, Staley .J, Lory .S .2002. Microbiologie. Cours et question de révision, 159-160 in mémoire de master Université Larbi Tébessi- Tébessa.
- Psotová, J., Lasovsky, J; Vicar, J. 2003. Metal –chelating Propertys, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic. Biomed. Papers 147(2), 147 153in mémoire de magister faculté de biologie de l'université Mentouri de Constantine.
- Perret, C. 2001. Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*.in mémoire de master de l'université d'Echahid Hamma Lakhdar D'EL-OUED.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J ; et al. 2003. Investigation of bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. Life Sci, 73 :1667-81. In

mémoire de master faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Q

- Quezel, P., Santa, S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris in mémoire de magister Université des Sciences Exactes et de Chimie Mentouri-Constantine.

R

- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2: 219-236.
- Rozman, T. ; Jersek, B. 2009. *Acta agriculturae solvenica*, 93 (1) :51-580 in thèse de doctorat Université d'Oran 1 Faculté des Sciences Exactes et Appliquées et de l'univers Ahmed Ben Béla -Wahrân.
- Richter, R. 1993. *Metabolisme des végétales physiologies et biochimie*. PPUR. Lausanne PP 319-322 in mémoire de magister faculté de biologie de l'université Mentouri de Constantine.
- Rezzagui, A, 2016. Mémoire de master .Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Université de Ferhat Abbas-Sétif.

S

- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L. & Douira. 2010. A. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146.
- Sanae, A., Rhalem, N., Khattabi, A., Lotfi, H., Mokhtari, A., Soulaymani, A., Turcant, A et Soulaymani Bencheikh, R .2012. L'intoxication au *Peganum harmala* L. au Maroc : à propos de 200 cas.67(1) :53-58.
- Sheahan M. C., Chase M. w. 1996. A Phylogenetic analysis of *Zygophyllaceae* based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data. *Bot. J.Linn. Soc.*122 :279-300 in mémoire de magister Université des Sciences Exactes et de Chimie Mentouri-Constantine.
- Sheahan M. C., Chase M. w .2000. Phylogenetic relationships within *Zygophyllaceae* based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on

Zygophylloideae. Syst. Bot.25 :371-384 in mémoire de magister Université des Sciences Exactes et de Chimie Mentouri-Constantine.

- Salehian, A., Ghodsi, M.B., Mahdyon, F.1973. Inventaire de quelques espèces de la flore de l'Iran utilisées en thérapeutique. Société linnéenne de Lyon.
- Smaoui S. 2010. Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés in mémoire de master Université des Sciences de la Nature et de la Vie des Frères Mentouri Constantine.
- Sarni-Manchado P and Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10. 33: 2-16. in mémoire de master Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri de Constantine.

T

- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi⁴, J., Hilali, A. 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. 6 :1111-1117.
- Tahrouch, S., Rapior, S., Mondolot-Cosson, L., Idrissi-Hassani. L. A., Bessière. J. M et Andary. C. 2002. *Peganum Harmala* : source combinée d'arômes et de colorants. 33-37.pp.

V

- Vinson J.A., Dabbagh Y.A., Serry M.M. et Jang J. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using in vitro oxidation model for heart disease. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43 : 2800-2802 in Projet de fin d'étude pour l'obtention du diplôme National d'Ingénieur .Université de Carthage.

W

- Winston G. W., Regoli F., Dugas A. J. Jr., Fong J. H., Blanchard K. A .1998. Free Radical Biol. Med., 24, 480-493 in thèse de doctorat des sciences d'Orsay université Paris Sud XI.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة العربي التبسي - تبسة -
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة.

الموضوع: تصحيح مذكرة التخرج في الماجستير

تخصص: بيوكيمياء تطبيقية

تشهد الأستاذة زغيب آسيا، رئيسة لجنة المناقشة
والأستاذ جاجري بلقاسم بصفتهم مؤطرا أن الطالبين
مباركيا عزيز وخويلد رشيدة قد أنجزا التصحيحات المقترحة
من طرف لجنة المناقشة على الملء وجهه.
عنوان المذكرة: 2.

Estimation du potentiel antioxydant et
antibactérien de l'extract méthanolique de
Peganum harmala.

الأستاذة جاجري بلقاسم



الأستاذة زغيب آسيا





Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Khawaled Rachida

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 341014341/2013

Année universitaire : 2018

Domaine : Sciences Biologiques

Fillière : Biologie Appliquée

Spécialité : Biotechnologie Appliquée

Intitulé du mémoire : Estimation du potentiel antioxydant et antibactérien de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive

Fait à Tébessa, le :

2018 جوان 18

Signature de l'étudiant(e) :

الجامعة الوطنية للعلوم والتقنية
جامعة تيبسة
مجلس التسيير
مكتب الشؤون الإدارية
م. ب. 15000 تيبسة



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Mebarki Ghazal

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 1914.017.879 / 2018

Année universitaire : 2018

Domaine : Sciences biologiques

Filière : Biologie appliquée

Spécialité : Biotechnologie appliquée

Intitulé du mémoire : E. Stimulation du potentiel antioxydant et antibactérien de l'extrait méthanolique de *Peganum harmala*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive

2018 جوان 12

Fait à Tébessa, le :

Signature de l'étudiant(e) :