



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de  
la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Microbiologie appliquée  
Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :  
**AMMARI Dounia et SLATNIA Marwa**

Le : mardi 28 juin 2022

### Thème

## Activité antimicrobiennes de « *Peganum harmala L* » Analyse d'articles

---

#### Jury :

Titre	DENDOUGA Wassila	MCA	Université de Biskra	Président
Titre	BENMEDDOUR Tarek	MCA	Université de Biskra	Examineur
Titre	MEDDOUR Asma	MCB	Université de Biskra	Encadreur

Année universitaire : 2021/2022

## **Remerciements**

*Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidés à compléter cette recherche modeste. Premièrement, nous remercions Madame Asma Meddour pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, nous le remercions profondément pour son compréhension, son patience et son politesse incomparable.*

*A Tous les enseignants du primaires jusqu'à l'université de nous fournir les outils nécessaires à la réussite dans nos études*

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail*

**Marwa & Dounia**

## *Dédicace*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser  
ce modeste travail que je dédie :*

*A ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.*

*A mon père, pour son soutien, son affection, et la confiance qu'il m'a accordé.*

*Que dieu les garde et les protège*

*A mes belles sœurs, A mes adorables frères et leurs petits (e)anges.*

*A mes proches qui me tiennent à cœur, car je suis leur tante : Nassim , Isslam*

*A mes meilleurs amis que j'aime beaucoup, surtout ma moitié Fatima qui me  
rende la vie plus belle. Achwak , Khadija et Souhayla.*

*A mon binôme Marwa avec qui j'ai vécu des beaux moments au cours de cette  
année, ainsi que sa famille.*

*A tous mes enseignants et à toute ma promotion.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Dounia*

## *Dédicace*

*Louange à dieu qui m'a donné la force et la patience pour atteindre ce niveau de connaissance ; la compétence et le courage pour dépasser toutes les difficultés et finaliser ce modeste travail de recherche. Merci à dieu qui a rendu ma famille fière de moi*

*Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail :*

*A ma très chère mère « Samira » tu représentes pour moi le symbole de la force par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*A mon cher père « Miloud » et mon frère « Omar », rien n'exprime l'amour, le respect, la dévotion et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma chère grand-mère « Habiba », j'aimerais que tu sois présente parmi nous, mais tu es au paradis, si Dieu le veut...Je n'oublierai jamais ton soutien et ton amour pour moi... J'ai fait beaucoup de promesses en ta présence, mais la sagesse de Dieu est avant tout.*

*A mes frères filles et garçons Haroune, Ali, Ismail, Aya, Dalal, El'khamza, Zohra chacun de vous a sa propre façon de m'aimer, de me soutenir et de m'aider...Dieu vous protège pour moi.*

*A mes chères sœurs en dieu et mes fidèles amies Amel, Sara, Imen et Amira*

*A Toutes mes amies, Surtout ma binôme Dounia et sa famille.*

*A Tous mes enseignants du primaires jusqu'à l'université de m' avoir fourni les outils nécessaires à la réussite dans mes études*

*A Toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail*

*A tous ceux qui aiment la science*

*Marwa*

# SOMMAIRS

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux .....	I
Liste des figures .....	III
Liste des abréviations .....	IV
Introduction générale .....	1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur <i>Peganum harmala</i> .....	3
1.1. Présentation de la plante .....	3
1.2. Nomenclature de <i>Peganum harmala</i> L. ....	3
1.3. Position systématique .....	4
1.4. Description botanique.....	4
1.5. Composition biochimique.....	5
1.6. Activité biologique.....	6
1.6.1. Activités antibactériennes et antifongiques.....	7
1.6.2. Activité Antioxydant.....	7
1.6.3. Activité anti-inflammatoire et analgésique .....	7
1.6.4. Effet cardio-vasculaire .....	7
1.6.5. Autres effets .....	8
1.7. Utilisation traditionnelle .....	8
2. Généralités sur les métabolites secondaires et les alcaloïdes.....	9
2.1. Introduction.....	9
2.2. Définition et fonction de métabolites secondaires. ....	9
2.3. Biosynthèse des métabolites secondaires .....	9
2.4. Classification des métabolites secondaires.....	10

2.4.1. Les alcaloïdes .....	10
-----------------------------	----

## **PARTIE EXPERIMENTAL**

3. Matériel et méthodes.....	12
3.1 Matériel.....	12
3.1.1. Matériel végétale .....	12
3.1.2. Matériel biologique.....	13
3.1.3. Matériel et réactif de laboratoire .....	15
3.2. Méthodes .....	16
3.2.1. Préparation des extraits .....	16
3.2.2. Criblage chimique par des réactions en solution .....	20
3.2.3. Évaluations de l'activité antimicrobienne .....	25
3.2.4. Analyses statistiques .....	32
4. Résultats et discussion .....	34
4.1. Extraits obtenus.....	34
4.2. Les tests préliminaires .....	34
4.3. Activité antimicrobienne .....	36
Conclusion .....	55
Liste des références .....	57
Annexes .....	65

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Collecte et identification de <i>Pegnum harmala</i> .....	13
<b>Tableau 2.</b> Matériel biologique. ....	14
<b>Tableau 3.</b> Matériel et appareillage de laboratoire .....	15
<b>Tableau 4.</b> Milieu de culture et antibiotiques.....	15
<b>Tableau 5.</b> Réactifs chimiques .....	16
<b>Tableau 6.</b> Essai des groupes chimiques .....	25
<b>Tableau 7.</b> Le rendement d'extraction p/p de l'extrait total d'alcaloïdes de <i>P.harmala</i> . ....	34
<b>Tableau 8.</b> Résultats des tests phytochimique préliminaires de l'extrait méthanolique et .....	35
<b>Tableau 9.</b> Résultats du dépistage phytochimique de l'extrait méthanolique des parties de la plante <i>P.harmala</i> . ....	35
<b>Tableau 10.</b> Les valeurs RF de places obtenues (à 336 nm) : Du haut poids moléculaire au bas poids.....	42
<b>Tableau 11.1.</b> Résultats des effets synergiques des extraits de graines et de racines de <i>P. harmala</i> avec disques antibiotiques.....	43
<b>Tableau 11.2.</b> Résultats des effets synergiques des extraits de graines et de racines de <i>P. harmala</i> avec disques antibiotiques .....	43
<b>Tableau 12.</b> Activités antimicrobiennes de mélanges individuels et binaires d'alcaloïdes de <i>P. harmala</i> contre les micro-organismes testés.....	45
<b>Tableau 13.</b> Activité antibactérienne des extraits de <i>Peganum harmala</i> . ....	46
<b>Tableau 14.</b> Les zones d'inhibition autour des disques (mm) produites par l'activité antibactérienne de différentes concentrations de <i>P. harmala</i> et des antibiotiques standards contre les souches bactériennes isolées de la truite arc-en-ciel.....	46
<b>Tableau 15.</b> Concentration minimale inhibitrice d'alcaloïdes de <i>P. harmala</i> contre les micro-organismes testés.....	49
<b>Tableau 16.</b> Les valeurs CMI et MBC des extraits de graines et de racines de <i>P.harmala</i> contre certains pathogènes bactériens importants. ....	50
<b>Tableau 17.</b> CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de l'extrait total d'alcaloïdes, du clotrimazole et de l'amikacine contre les micro-organismes standards et pathogènes.....	50
<b>Tableau 18.</b> Activité antimicrobienne de la fumée contre les micro-organismes standards et pathogènes.....	51

<b>Tableau 19.</b> Détermination de la CMI (par dosage de dilution en série) et du MBC à différentes concentrations de <i>P.harmala</i> contre les souches bactériennes isolées de la truite arc-en-ciel. ....	51
--	----



## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> <i>Peganum harmala</i> .....	3
<b>Figure 2.</b> Différentes parties de <i>Peganum harmala</i> . ....	5
<b>Figure 3.</b> Structure moléculaire des principaux alcaloïdes du <i>P. harmala</i> (Milad et al., 2013). .....	6
<b>Figure 4.</b> Un aperçu général simplifié des voies de biosynthèse impliquées dans la biosynthèse de métabolites secondaires montrant une association étroite avec le produit de métabolisme primaire. Les cases roses représentent les métabolites secondaires (Bhekumthetho et Johannes, 2015). ....	10
<b>Figure 5.</b> Une vue schématique de l'appareil utilisé dans cette étude pour l'étude de l'activité antibactérienne de <i>P. harmala</i> des graines. ....	27
<b>Figure 6.</b> Activité antibactérienne de l'extrait de graines de <i>P.harmala</i> (Se E) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques.Le diamètre du disque est de 6 mm.....	37
<b>Figure 7.</b> Activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de <i>P. harmala</i> (LE) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.....	37
<b>Figure 8.</b> Activité antibactérienne de l'extrait de fleurs de <i>P.harmala</i> contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.....	38
<b>Figure 9.</b> Activité antibactérienne de l'extrait de tige de <i>P.harmala</i> (St E) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.....	38
<b>Figure 10.</b> Activité antibactérienne de l'extrait de racine de <i>P.harmala</i> (RE) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques.Le diamètre du disque est de 6 mm.....	39
<b>Figure 11.</b> Activité antibactérienne des antibiotiques synthétiques contre certaines pathogènes bactériennes cliniques.Le diamètre du disque est de 6 mm.....	39
<b>Figure 12.</b> Résultats de stabilité des extraits de graines et racines de <i>P.harmala</i> dans les différents pH. DIZ (S) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de graine contre le SARM. DIZ (R) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de racine contre le SARM.....	40
<b>Figure 13.</b> Résultats du traitement thermique sur <i>P. harmala</i> extraits de graines et de racines. .....	41
<b>Figure 14.</b> Analyse CCM des extraits de graines et de racines de <i>P.harmala</i> . ....	42
<b>Figure 15 .</b> Les valeurs d'inhibition de la croissance (%) et la détermination de la CMI de différentes concentrations d'extrait de méthanol de <i>P.harmala</i> (mg mL <sup>-1</sup> ) pour toutes les bactéries testées à l'aide d'un test sur microplaque. Chaque point de données représente la moyenne (± SE) des triplets. Les données sont identifiées par le test de Duncan. ....	53

## Liste des abréviations

**A** : Article

**ANOVA** : Analyse de variance

**CCM** : chromatographie sur couche mince

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CMB** : Concentration Bactéricide Minimale

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**G -** : Gram négatif

**G +** : Gram positif

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance

**ISO** : L'Organisation internationale de normalisation

**MH**: Mueller Hinton.

**MHB**: Muller-Hinton Broth

**MHA**: Mueller Hinton agar.

**MS** : Spectrométrie de masse

**MHB** : Muller- Bouillon Hinton

**Mc,Farland** : Référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes.

**P** : *Peganum*.

**Pb** : paire de base

**RMN** : résonance magnétique nucléaire

**SARM** : résistant à la méthicilline *Staphylococcus aureus*

**SPSS** : Logiciel utilisé pour l'analyse statistique

**TSB** : *Bouillon Tryptone-Soja*

**UV** : Ultra-violet

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme

**CH<sub>3</sub>OH** : Méthanol

**C°** : Degré Celsius

**DO<sub>c</sub>** : Densité Optique

**DO<sub>t</sub>** : Densité Optique

**HCL** : Acide chlorhydrique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**M** : Molaire.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**NaHCO<sub>3</sub>** : Bicarbonate de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : L'hydroxyde d'ammonium

**N** : Normalité

**R%** : Rendement en pourcentage

**SD** : Standard déviation (en français : écart-type).

**UFC/ml** : Unité Farmant des Colonie par millilitre

**v/v** : volume par volume

**%** : Pourcentage.

# **INTRODUCTION**

## **GENERALE**

## Introduction générale

Depuis longtemps, les plantes sont utilisées non seulement pour se nourrir, mais aussi pour traiter des désordres et des maladies. Le corps humain ne garantit pas toujours son équilibre et sa santé, il a besoin de son environnement qui contient quelques herbes médicinales qui aident à prévenir, guérir et éliminer les toxines (**Pursell , 2015**).

Les plantes médicinales contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des médicaments utiles (**Sofowora et al., 2010**) ont également été utilisées pour l'extraction de composés bioactifs importants. Au cours de ces dernières années, le nombre d'études évaluant les activités physiologiques des bioactifs d'origine végétale et des composants végétaux dotés de propriétés fonctionnelles a considérablement augmenté.

Les médicaments traditionnels sont généralement moins chers que les médicaments modernes, et probablement les seuls remèdes naturels disponibles et accessibles dans les communautés rurales reculées des pays en développement. Les habitants des zones rurales préfèrent la médecine traditionnelle en raison de leur proximité avec les guérisseurs traditionnels et du fait que les guérisseurs comprennent leur culture et leur environnement ainsi que leurs patients (**Mbuni et al., 2020**). L'Algérie comprenait plus de 600 espèces végétales d'intérêt médicinal et aromatique (**Mokkadems, 1999**).

*Peganum harmala* L. connu sous le nom de Harmel, produit des substances biologiquement actives, qui lui permettent plusieurs fonctions, comme l'adaptation, la défense, la communication et même la sexualité. Elle est utilisée dans la lutte biologique contre les insectes ravageurs et présente aussi un pouvoir allélopatique contre la germination des adventices des cultures (**Benmeddour, 2010**). Elle est considérée comme l'une des plantes médicinales les plus célèbres dans la médecine traditionnelle grâce à ses nombreuses vertus thérapeutiques telles qu'un antidouleur, antispasmodique, agent narcotique, pour le traitement des fièvres et même pour soigner les rhumatismes.

Ce travail est bibliographique. En effet, la pandémie de covid 19 et le confinement qui a suivi nous a empêché de réaliser un travail expérimental.

L'objectif de cette présente étude bibliographique est une synthèse des travaux concernant l'activité antibactérienne de différentes parties de *Peganum harmala* L. L'organisation de cette étude s'est faite en plusieurs chapitres :

Dans le premier chapitre ; nous sommes intéressés au présentation du plante étudiée *Peganum harmala* et ses caractéristiques botaniques. Ainsi que sa composition chimique et nous avons déterminé son pouvoir biologique (antibactériennes et antifongiques, Antioxydant...) et à la fin son utilisation traditionnelle.

Dans le deuxième chapitre ; nous avons défini les métabolites secondaires et sa fonction, puis la biosynthèse des métabolites. Nous avons déterminé la classification des métabolites secondaires et nous sommes intéressés aux les alcaloïdes.

Dans le troisième chapitre ; nous avons synthétisé les méthodes et matériel les plus usuelles dans les différents articles qui étudiés.

Dans le quatrième chapitre ; nous avons exposé les résultats de l'étude synthétique de ces cinq articles et discute ses différents résultats avec d'autres travaux faits par différents auteurs.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE 1.**  
**GENERALITES SUR**  
***PEGANUM HARMALA***



## 1. Généralité sur *Peganum harmala*

### 1.1. Présentation de la plante

*Peganum harmala* L. (La rue syrienne) est une plante à fleurs à croissance sauvage appartenant à la famille des Zygophylaceae et est considérée comme une plante médicinale importante (Edziri *et al.*, 2010). Il est originaire des régions arides allant de l'est de la Méditerranée au nord de l'Inde, la Mongolie, et est présent dans le sud-est de l'Europe, y compris le sud de l'Italie (Pouilles et Sardaigne) dans les steppes arides et les bords des routes (Ida *et al.*, 2016).

C'est une plante médicinale polyvalente aux propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anti activités cancéreuses, hypothermiques et hallucinogènes. Des investigations phytochimiques ont révélé la présence de certain nombre d'alcaloïdes actifs, en particulier les bêta-carbolines telles que l'harmalol, l'harmaline et l'harmine (Nissar *et al.*, 2017)



**Figure 1.** *Peganum harmala* (site 1).

### 1.2. Nomenclature de *Peganum harmala* L.

Nom latin : *Peganum harmala* (Lamchouri *et al.*, 2000).

Arabe : Harmel sahari

Local : Harmel ; Armel ; L'harmel.

Touareg : Bender tiffin.

Français : rue sauvage ; rue verte ; pégane.

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

Iran : espond (Jinous et Fereshteh, 2012)

### 1.3. Position systématique

**Embranchement :** Spermatophytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Rosidae

**Ordre :** Sapindales

**Famille :** *Zygophyllaceae*

**Genre :** *Peganum*

**Espèce :** *Peganum harmala* L (**Ozenda, 1991**).

### 1.4. Description botanique

*Peganum harmala* est une plante herbacée vivace, ramifiée en 5-13 tiges, glabre qui pousse jusqu'à 30 à 100 cm d'hauteur. La plante n'est généralement pas pâturée par les animaux en raison de son goût amer.

- ✓ **Les feuilles** sont palmées en 3 à 5 lobes linéaires de 3 à 6 cm de long et de 1,5 à 3,0 mm de large.
- ✓ **Les fleurs** apparaissent par 1 à 3 sur les sommets des branches qui portent des pétales de couleur jaune blanchâtre.
- ✓ **Les fruits** sont globuleux capsule à 3 loges, de 0,9 à 1,3 cm de diamètre et contenant 35 à 45 graines anguleuses noirâtres (**Nissar *et al.*, 2017**)

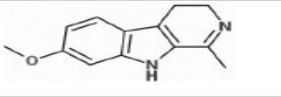
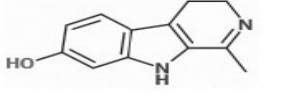
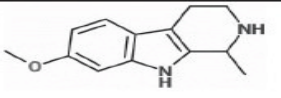
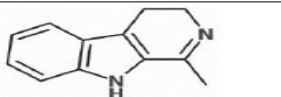
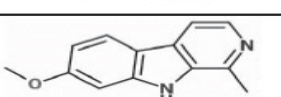
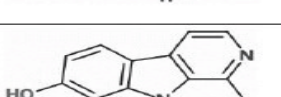
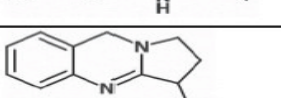
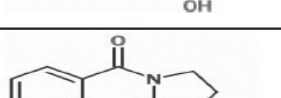


**Figure 2.** Différentes parties de *Peganum harmala* (site 2).

### 1.5. Composition biochimique

Les composés phytochimiques communément connus de *P.harmala* sont des alcaloïdes, des flavonoïdes et des anthraquinones.

La teneur totale en alcaloïdes de *P. harmala* varie entre 2 et 5 % (**Jinous et Fereshteh, 2012**), les principaux sont mentionnés ci-dessous :

Harmaline	
Harmalol	
Tetrahydroharmine	
Harmane	
Harmine	
Harmol	
Vasicine	
Vasicinone	

**Figure 3.** Structure moléculaire des principaux alcaloïdes du *P. harmala* (Milad *et al.*, 2013).

Les parties aériennes de *P. harmala* contiennent quatre nouveaux flavonoïdes, dont l'acacétine 7-O-rhamnoside, le 7-O-6''-O-glucosyl-2''-O-(3'''-acetylramnosyl) glucoside, le 7-O-(2'''-O-rhamnosyl-2''-O-glucosylglucoside) et la glycoflavone 2'''-O rhamnosyl-2''-O-glucosylcytisoside. Deux nouvelles anthraquinones ont été isolées des graines de *P. harmala* et leurs structures sont établies comme 3,6-dihydroxy-8-méthoxy-2-méthylanthraquinone (peganone1) et 8-hydroxy-7-méthoxy-2-méthylanthraquinone (peganone2) (Alyaa, 2018).

### 1.6. Activité biologique

Les différentes parties de *P. harmala* sont utilisées en médecine traditionnelle (Rezvan *et al.*, 2015).

### 1.6.1. Activités antibactériennes et antifongiques

L'une des caractéristiques importantes des alcaloïdes de *P. harmala* est leur activité bactéricide qui est comparable à celle des antibiotiques courants. L'activité de ces alcaloïdes dépendait du micro-organisme et de la méthode d'application. (Alyaa, 2018).

L'extrait méthanolique *P. harmala* a montré un pouvoir antibactérien plus élevé contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *P. vulgaris* que d'autres extraits de chloroforme et de pétrole dans une étude. (Alyaa, 2018).

L'activité antifongique de *P. harmala* sur 6 espèces de *Candida* et 3 espèces *Aspergillus*, a été évaluée *in vitro*. L'extrait alcoolique de graines de *P. harmala* était efficace surtout sur *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* comme inhibiteur de croissance (Jinous et Fereshteh, 2012).

L'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait de graines de *P. harmala* est principalement liée à l'harmaline (Jinous et Fereshteh, 2012).

### 1.6.2. Activité Antioxydant

L'extrait de méthanol des feuilles de *P. harmala* a montré une activité antioxydante élevée. Cette forte activité antioxydante peut être principalement lié à la présence de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les tanins. (Jinous et Fereshteh, 2012).

### 1.6.3. Activité anti-inflammatoire et analgésique

L'huile de graines de *P. harmala* a montré une activité anti-inflammatoire intéressante avec un léger effet analgésique périphérique dû principalement à sa richesse en acide linoléique,  $\gamma$ -tocophérol, et polyphénols et à son importante capacité antioxydante (Alyaa, 2018).

L'extrait d'alcaloïde de *Peganum harmala* semble posséder à la fois des et des activités antinociceptives périphériques qui peuvent être médiées par les récepteurs opioïdes (Alyaa, 2018).

### 1.6.4. Effet cardio-vasculaire

*P. harmala* est l'une des espèces médicinales les plus fréquemment utilisées pour traiter l'hypertension et les maladies cardiaques dans le monde entier. Cet effet est dû surtout au présence de ses principaux alcaloïdes actifs : harmine, harmaline, harman et harmalol (Milad et al., 2013).

### 1.6.5. Autres effets

*P.harmala* possède d'autres effets comme : effets immunomodulateurs effet antidiabétique et antispasmodique ... (Milad *et al.*, 2013).

Malgré les nombreux rapports effets enregistrés de *Peganum harmala*, toute la plante est toxique due à la présence des alcaloïdes dont le taux est plus élevé dans les graines (3 à 4%). La teneur en alcaloïdes augmente en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine (Hassina, 2018).

### 1.7. Utilisation traditionnelle

*Peganum harmala* a été connu dans la médecine traditionnelle depuis les temps les plus reculés comme remède pour un large éventail de maux. Elle a été utilisée pour soigner certains troubles du système nerveux comme la maladie de Parkinson en psychiatrie conditions. *P. harmala* a été également utilisé pour le traitement du diabète dans la médecine folklorique dans certaines régions du monde (Nissar *et al.*, 2017).

Cette plante a été largement utilisée en médecine traditionnelle, en tant qu'agent abortif, emménagogue, narcotique, antihelminthique, antispasmodique, et dans certains cas des rhumatismes, d'asthme et du cancer. (Hassina, 2018).

Un colorant rouge extrait des graines de *Peganum* est utilisé en Turquie et en Iran pour colorer les tapis. En médecine traditionnelle (Nissar *et al.*, 2017).

**Chapitre 2.**

**GENERALITES SUR  
LES METABOLITES  
SECONDAIRES**

## 2. Généralités sur les métabolites secondaires

### 2.1. Introduction

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Jean *et al.*, 2005**).

### 2.2. Définition et fonction de métabolites secondaires.

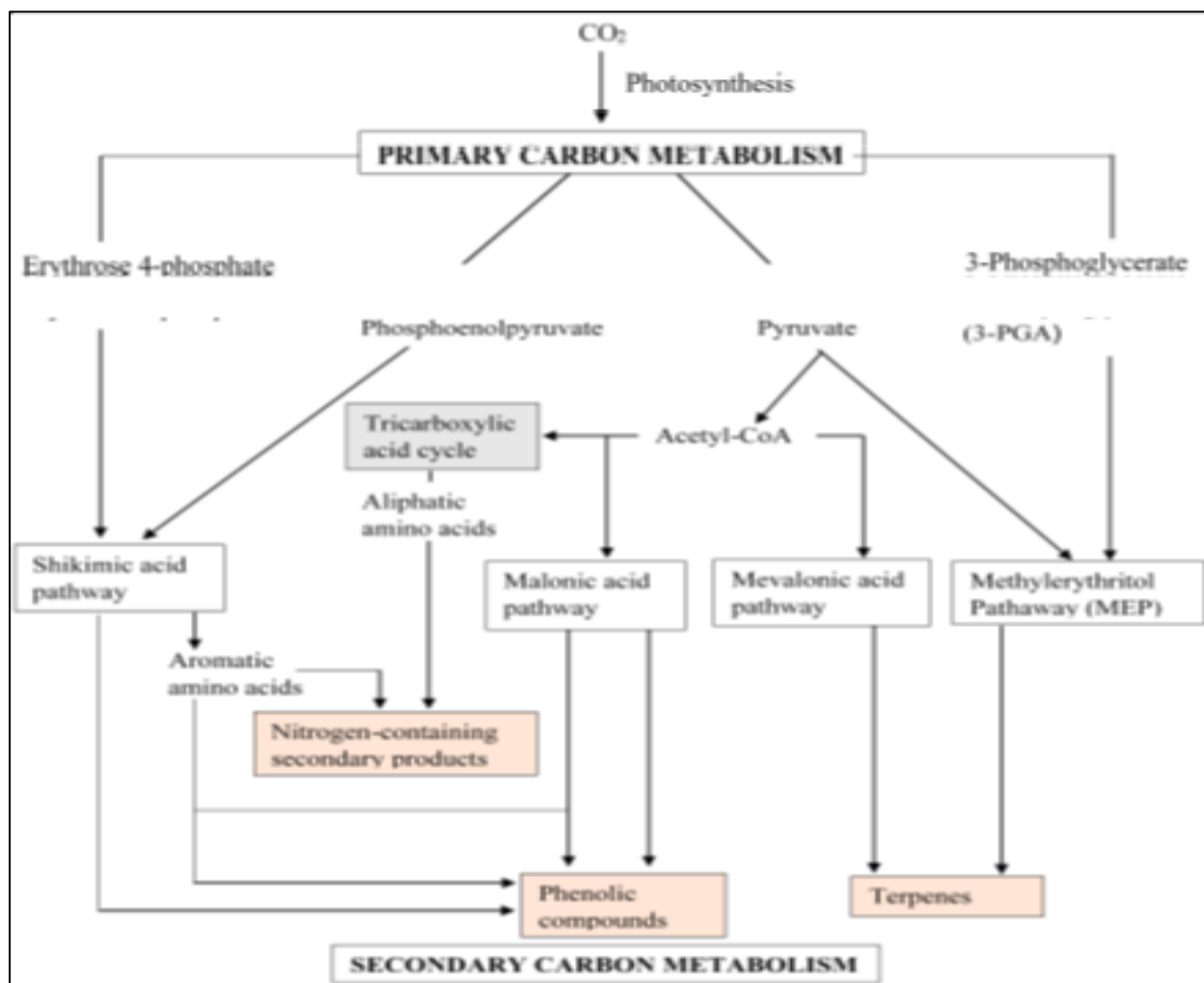
Les métabolites secondaires des plantes sont définis comme les produits naturels trouvés dans les plantes et sont bénéfiques pour leur survie et leur reproduction dans l'environnement (**Shih et Morgan, 2020**). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Nour el houda et Hanane, 2015**).

Dans les plantes supérieures, une grande variété de métabolites secondaires sont synthétisée à partir de métabolites primaires (par exemple, les glucides, les lipides et les acides aminés). Ils sont nécessaires à la défense des plantes contre les herbivores et les agents pathogènes. Souvent, ils peuvent conférer une protection contre les stress environnementaux. Les métabolites secondaires contribuent également aux odeurs, goûts et couleurs spécifiques des plantes. Les métabolites secondaires des plantes sont des sources uniques d'additifs alimentaires, d'arômes, de produits pharmaceutiques et de produits pharmaceutiques importants sur le plan industriel. (**Akula et Gokare, 2011**)

### 2.3. Biosynthèse des métabolites secondaires

Le schéma suivant résume les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires :





**Figure 4.** Un aperçu général simplifié des voies de biosynthèse impliquées dans la biosynthèse de métabolites secondaires montrant une association étroite avec le produit de métabolisme primaire. Les cases roses représentent les métabolites secondaires (Bhekumthetho et Johannes, 2015).

## 2.4. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire. Ces molécules marquent de manière originale, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Wahiba, 2018).

### 2.4.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes englobent une énorme classe d'environ 12 000 produits naturels de faible poids moléculaire. La principale exigence pour la classification en tant qu'alcaloïde est la présence d'un atome d'azote basique à n'importe quelle position de la molécule, qui n'inclut

pas l'azote dans une liaison amide ou peptidique. Comme l'implique cette définition exceptionnellement large, les alcaloïdes forment un groupe de molécules structurellement diverses et biogéniquement non apparentées (**Bhekumthetho et Johannes, 2015**).

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique. Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (**Mahdia et Mounira, 2015**).

**Selon l'origine biosynthétique**, on peut distinguer **des alcaloïdes vrais** (dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique), **des pseudo-alcaloïdes** (des composés aromatiques dont le squelette carboné de base ne dérive pas d'acide aminé) et **des proto-alcaloïdes** (des amines simples qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structure cycliques) (**Tadeusz, 2007**).

Et **selon leur composition chimique et structure moléculaire**, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes : phénylalanines, alcaloïdes isoquinoléiques, alcaloïdes quinoléiques, alcaloïdes pyridiques et pipéridiques, alcaloïdes dérivés du tropane et alcaloïdes stéroïdes (**Tadeusz, 2007**).

Les alcaloïdes jouent un rôle écologique important permettant à l'organisme producteur d'interagir de manière défensive avec son environnement (**Bhekumthetho et Johannes, 2015**).

Chez l'homme, les alcaloïdes trouvent plusieurs applications pharmaceutiques notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire. On notera aussi l'existence d'antitumoraux, d'antiparasitaires, de curarisants, les alcaloïdes sont utilisés comme anticancer sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (**Mahdia et Mounira, 2015**).

Les alcaloïdes ont diverses activités biologiques, ils agissent comme analgésiques, diurétiques, antiprolifératives, abortives, antimicrobiennes. Ils sont utilisés aussi dans les troubles neurodégénératifs du type des maladies d'Alzheimer (**Saliha et Manel, 2020**).

La toxicité des alcaloïdes est liée à leur taux (**Hassina, 2018**).

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

# **Chapitre 3.**

## **MATERIEL ET METHODES**

### 3. Matériel et méthodes

Cette étude est menée pour évaluer les effets antibactériens des extraits méthanolique et n-hexanoïque de différentes parties de *P. harmala* y compris les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les graines, en analysant les articles suivants :

**Article (A1) : Gomah Nenaah. 2010.** Activités antibactériennes et antifongiques des alcaloïdes (bêta)-carboline de *Péganum harmala* (L) les graines et leurs effets combinés. Zoologie. Fitoterapia 81 : 779–782.

**Article (A2) : Ghulam Dastagir., Farrukh Hussain., Abid Ali Khan. 2012.** Activité antibactérienne de certaines plantes sélectionnées de la famille Zygophyllacées et Euphorbiacées. Journal de recherche sur les plantes médicinales Vol. 6(40), pp. 5360-5368.

**Article (A3) : Esmail Darabpour., Aniseh Poshtkouhian Bavi., Hossein Motamedi., Seyyed Mansour Seyyed Nejad. 2011.** activité antibactérienne de différentes parties de *peganum harmala*. Croitre en Iran contre bactéries multi résistantes aux médicaments. Biologie 10:252-263 – ISSN 1611-2156 .

**Article (A4) : Milad Iranchahy., Sedigheh Fazly Bazzaz., Giti Haririzadeh., Bibi Zahra Abootorabi., Ali Mohammad Mohamadi., Zahra Khashyarmanesh. 2019.** Composition chimique et propriétés antibactériennes de *Péganum harmala*., pharmacie 530-537.

**Article (A5) : P Akbary., MS Fereidouni., M Akhlaghi. 2014.** *In vitro* activité antibactérienne de *Péganum harmala* (L) extrait de certaines bactéries pathogènes des poissons. Médecine vétérinaire des sciences marines 1 (1) 7-16.

#### 3.1 Matériel

##### 3.1.1. Matériel végétale

Les articles que nous avons analysés comprennent le matériel végétal suivant :

**Tableau 1.** Collecte et identification de *Pegnum harmala*

Numéro d'article	Collecte et identification
A1	Des graines fraîches de <i>P.harmala</i> . Ont été récoltées à partir d'échantillons mûris sur la côte méditerranéenne de l'Égypte en juillet 2008.
A2	Les spécimens frais de <i>P.harmala</i> , ont été récoltés entre juin et août et identifiées selon la flore du Pakistan. Ils ont été séchés à l'ombre à une température de 28 à 30°C pendant 14 jours.
A3	Les différentes parties de <i>P. harmala</i> ont été collectés autour de Behbahan (sud-est de la province du Khuzestan, Iran) en avril 2009 pour les feuilles et les tiges, en mai pour les fleurs, en juin pour les graines et en septembre pour les racines. La plante a été identifiée taxonomiquement par l'Herbier de la Faculté des sciences agricoles.
A4	<i>P. harmala</i> été recueilli de Neishabur (Province du Khorasan Razavi ,iran)
A5	<i>P. harmala</i> a été acheté de magasin de phytothérapie et son identité a été confirmée à l'aide de monographies par Mozaffarian (1996). Les graines de la plante ont été séchées à l'ombre.

### 3.1.2. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans les différentes études est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 2. Matériel biologique.

Numéro d'article	Souches bactériennes	Type des souches
<b>A1</b>	<i>Bacillus subtilis</i> (G+)	CNRC
	<i>Staphylocoque doré</i> (G+)	NRC
	<i>Escherichia coli</i> (G-)	CNRC
	<i>Proteus vulgaris</i> (G-)	NRC
	<i>Aspergillus niger</i> .	/
	<i>Candida albicans</i>	/
<b>A2</b>	<i>Escherichia coli</i> ,	/
	<i>Salmonella typhi</i>	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	/
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	/
	<i>Klebsiella pneumoni</i> .	/
<b>A3</b>	<i>Bacille anthracis</i> ,	/
	<i>Bacille cereus</i>	/
	<i>Bacille pumilus</i> ,	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	/
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	/
	<i>Listeria monocytogenes</i>	/
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	/
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	/
	<i>Brucella melitensis</i> ,	/
	<i>Proteus mirabilis</i>	/
	<i>Salmonella typhi</i>	/
	<i>Escherichia coli</i>	/
<i>Klebsiella pneumoni</i>	/	
<b>A4</b>	<i>Microcoque jaune</i>	PTCC 9341
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PTCC 1074
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29737
	Levure : <i>Candida albicans</i> .	ATCC 10231
<b>A5</b>	<i>L. garvieae</i>	EU727199
	<i>hydrophile</i>	JF313402
	<i>Y. ruckeri</i>	ATCC29475
	<i>P. putida</i>	JN937120

### 3.1.3. Matériel et réactif de laboratoire

Le Matériel et appareillage de laboratoire d'étude analytique résumé au tableau suivant :

**Tableau 3.** Matériel et appareillage de laboratoire

<b>Matériel du laboratoire</b>	
Colonne de gel de silice	Réfrigérateur,
Plaque de gel de silice.	Ampoule stérile a bouchon
Plaque CCM	Bain marie
Évaporateur rotatif	Spectromètre RMN.
Spectrométrie de masse	Spectromètre UV/ MS
Les disques, papier kraft, papier filtre	Congélateur
Boîtes de Pétri	Autoclave.
Anse de platine, broyeur électrique	Spectromètre shimadzu uv 1650.
Disque de papier filtre stérile.	Centrifugeuse

**Tableau 4.** Milieu de culture et antibiotiques

<b>Milieu de culture</b>	<b>Antibiotiques</b>
Gélose dextrose de pomme de terre	Amikacine
Gélose nutritive	Imipénem
Bouillon nutritif	Clotrimazole
Gélose au sang	Antibiotique.
Caséine de soja	Chloramphéniol
Gélose Mueller Hinton	Tétracycline
Bouillon de digestion de caséine de soja	Erythomycine
Bouillon MIC	
Bouillon TSB	
Gélatine	

Les réactifs chimiques résumés dans le tableau 6 suivant :



**Tableau 5.** Réactifs chimiques

<b>Réactifs chimique</b>		
Solution salin normale	Dichlorométhane	Solvant n-butanol
Solution d'ammoniaque	Acétone	Magnésium
Solution d'aluminium	Ether	Alcool amylique
Solution de Fehling	Huile d'olive	HCL
Glycérol	Acétate d'éthyle	CHCl3
DMSO	Chlorure ferrique à 0.1%	H2So4 (3%)
Chlorure de sodium	Anhydride acétique	NaOH
Ether de pétrole	Acide acétique glacial	NaHCO3
Réactif de lucas	Méthanol	H2SO4
Réactif de dragondroff	Permanganate de potassium	CHOH3
Réactif de Tollen		NH4OH (10%)
Réactif de Grignard		

### 3.2. Méthodes

#### 3.2.1. Préparation des extraits

##### A1 :

L'extrait méthanolique des graines séchées et broyées a été fractionné à l'aide d'hexane et de dichlorométhane en milieu alcalin (PH 10).

Les fractions obtenues ont été concentrées pour donner l'extraits alcalin total (**Monsef et al., 2004**). Le fractionnement des alcaloïdes de *P.harmala* individuels a été réalisé selon un fractionnement guidé par essai biologique (**Farouk et al., 2008 et Berrougui et al.,2006**) . En bref, l'extrait alcaloïde total (fraction hexane) a été élué sur une colonne de gel de silice initialement avec du chloroforme pur puis des quantités croissantes de méthanol.

Toutes les fractions obtenues ont été examinées sur des plaques CCM pré-enduites en utilisant CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH.

Les fractions similaires ont été regroupées et lavées successivement dans du chloroforme et du méthanol.

Les échantillons cristallisés ont été comparés par leurs temps de rétention sur HPLC par rapport à des échantillons authentiques, et par spectrométrie de masse.

#### **A2 et A5 :**

La plante entière de *Peganum harmala* été broyée à l'aide d'un broyeur électrique 50 g d'échantillon en poudre a été trempé dans 250 ml de méthanol à 70 % pendant 72 h pour **A2**, mais dans **A5** macérées la même quantité de poudre dans 400 ml de méthanol.

Filtration à travers du papier filtre Whatman n° 1823.

L'opération a été répétée 3 fois Pour **A2**.

Concentré l'extrait à l'aide d'un évaporateur rotatif

Les extraits ont été stockés à 4 ° C avant d'autres analyses.

Le médicament standard (imépinem) a également été utilisé (**Mariam et al. 1993**).

L'étude antibactérienne des extraits bruts a été réalisée par la méthode de diffusion en puits d'agar (**Carron et al., 1987**). Les données d'activité antibactérienne ont été soumises au test T selon Cox (**1967**) pour **A2**.

#### **A3 :**

Les feuilles, les fleurs, les graines et les tiges ont été séchées à l'ombre à température ambiante pendant dix jours. Tandis que la racine a été séchée à l'ombre pendant vingt jours.

Ces pièces mentionnées ont été broyées en une poudre fine.

La poudre (1 g) a été extraite à l'aide de 10 ml d'une solution d'eau distillée / méthanol (8 :2 v/v).

L'extrait a été centrifugée à 3000 tr/min pendant 15 min et recueil du surnageant. Ce processus a été répété trois fois.

Ensuite, le solvant a été éliminé par évaporation ( **Darabpour et al., 2010**).

#### **A4 :**

L'herbe séchée et réduite en poudre (3 kg) a été macérée quatre fois avec 3 L de méthanol pendant 24 heures.

Les extraits ont été réunis et le solvant a été évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif.

L'extrait concentré a été conservé à 20°C jusqu'à son utilisation.

### **L'extraction d'alcaloïdes**

Le résidu (obtenu comme décrit dans la partie extraction), obtenu précédemment a été acidifié à l'aide d'acide sulfurique à 3 % (pH 1), puis filtré et lavé à l'éther de pétrole pour éliminer les composés hautement lipophiles.

La couche acide aqueuse a été basifiée à pH 8-9 en utilisant  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) et extrait plusieurs fois au chloroforme.

Les extraits de chloroforme ont été mélangés et le solvant a été évaporé à sec.

Le fractionnement des alcaloïdes a été réalisée par chromatographie sur colonne avec du gel de silice. Pour 1 g de l'alcaloïde total, 50 g de gel de silice ont été utilisés.

La polarité du système solvant a progressivement augmenté de chloroforme-méthanol 95-5 % à méthanol 100 %.

Les fractions collectées ont été testées pour la présence d'alcaloïdes par CCM en utilisant différents solvant (chloroforme/méthanol/ammoniaque), Réactif de Dragendorff comme indicateur.

La purification finale des alcaloïdes a été effectuée par CCM préparative et la structure des composés purifiés a été élucidée à l'aide de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -NMR, UV et MS.

### **❖ Préparation d'extrait alcoolique d'alcaloïdes**

Les graines de la plante ont été lavées avec de l'éther de pétrole, séchées et broyées en poudre brute.

Dans la première étape, 100 à 150 g de poudre séchée ont été macérés dans 1 L de méthanol à 95 % pendant 12 h à 50 °C dans un bain-marie.

Après évaporation du solvant, le résidu a été dissous dans HCl (5 %) jusqu'à ce que le pH de la solution finale devienne 1, puis la solution a été filtrée.

Dans l'étape suivante, le filtrat a été extrait deux fois par 30 ml d'éther de pétrole pour éliminer les composés hautement lipophiles. Le résidu a été basifié par 10% NH<sub>4</sub>OH (pH 9-10) et extrait au chloroforme (30 ml). Enfin, le chloroforme est évaporé à sec.

#### ❖ Etude de l'effet synergique

### A3

Pour déterminer l'effet synergique des parties les plus efficaces de *P.harmala* avec des antibiotiques synthétiques une concentration de 400 mg/ml de leur extrait a été ajoutée aux disques contenant ces antibiotiques (novobiocine, colistine et carbénicilline) et leur effet a été évalué par la méthode de diffusion sur disque sur les pathogènes bactériens les plus importants parmi les bactéries testées (**Motamedi et al., 2010**).

#### Traitement physico-chimique des extraits actifs

#### ❖ La thermo-stabilité du composé antibactérien

Des aliquotes de 1 ml des extraits les plus efficaces à une concentration de 100 mg/ml ont été ajoutées aux ampoules stériles à bouchon à vis et traitées par température à 4 °C au réfrigérateur pendant 24 h et 25, 37, 56, 70 et 90 °C dans un bain-marie pendant 30 min (**Salama et Marraiki, 2009 ; Amin et al., 2010**).

#### ❖ L'effet du pH

L'extrait méthanolique des parties les plus efficaces à une concentration de 100 mg/ml a été traité à des plages de pH de 2 à 10 en utilisant des puis des solutions de HCl 1N ou de NaOH 1N pendant 30 min à 4 °C (**Salama et Marraiki, 2009**).

Le résultat de ces traitements a été trouvé par la mesure de la zone d'inhibition contre l'une des plus importantes bactéries pathogènes humaines.

Fractionnement de l'extrait le plus efficace par CCM.

Les extraits méthanoliques des parties les plus efficaces de *P. harmala* ont été analysés par CCM. La présence de différents types de constituants dans les extraits criblés a été analysée en ajoutant 15 µl d'extraits à une concentration de 100 mg/ml sur plaque de gel de silice (Merck 60 F254 10-20 cm), la plaque a été mise dans une chambre saturée de système solvant n- butanol : acide acétique : eau distillée (v/v 4:4:1) comme phases mobiles. Les composants séparés ont été visualisés sous lumière visible et ultraviolette (254 et 366 nm).

### 3.2.2. Criblage chimique par des réactions en solution

Les réactions classiques en solution sont basées sur l'apparition de la coloration pour les flavonoïdes, les stéroïdes, les tannins et les terpénoïdes, la précipitation pour les alcaloïdes ou la formation de mousse pour les saponines. Elles ont permis de réaliser des tests phytochimiques, qui ont consisté à rechercher de groupes des substances bioactives précités, parmi lesquels certains seraient pourvus d'un potentiel antimicrobien (**Bashige et al., 2020**).

#### ❖ Dépistage phytochimique

##### A2

Les spécimens frais de *P. harmala* a été collectés à **Peshawar et Attock Hills** pour le criblage des constituants chimiques. Les échantillons de plantes collectés ont été lavés, nettoyés, séchés et emballés dans du papier kraft. Les parties de la plante ont été broyées à l'aide d'une machine à broyer et les échantillons en poudre ont été traités par la suite. Des tests chimiques ont été effectués sur les extraits aqueux, méthanolique et au n-hexane en utilisant des procédures standard pour identifier les constituants comme décrit par (**Sofowora. 1993**), (**Trease et Evans 1989**) et (**Harborne. 1973**).

##### A4

L'analyse qualitative des constituants chimiques a été réalisée sur la base des méthodes précédemment décrites par (**Farnsworth 1996**) avec quelques modifications (**Farnsworth, 1996 ; Siddiqui et al., 1987 ; Kaskoos, 2014**).

#### 3.2.2.1. Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont des analgésiques, une activité antioxydante antimicrobienne, interfèrent avec la division cellulaire, d'où la présence d'alcaloïdes dans la plantes étudiée pourrait expliquer l'inhibition des espèces bactériennes dans cette étude.

##### A2

La détection des alcaloïdes a été réalisée par la méthode adoptée par (**Trease et Evans 1989**). Par précipitation avec le réactif de Dragondroff. Le violet rosé ou le brun rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes.

#### La préparation de réactif de Dragondroff et la solution de pulvérisation

La solution mère du réactif de Dragendorff est composée de deux volumes égaux des portions :

- ❖ **Portion 1** : 0.85 g de substrat de Bismuth était dissous dans une solution de 10 ml d'acide acétique et 40 ml d'eau.
- ❖ **Portion 2** : 8 g d'iodure de potassium a été dissous dans 20 ml d'eau.

La solution de pulvérisation est préparée en mélangeant 1 ml de solution mère avec 2 ml d'acide acétique frais et 10 ml d'eau. La détection des alcaloïdes et autres composés azotés se fait par des taches brun orangé sur fond jaune (**Harborne, 1973**).

#### **A4 :**

L'extrait méthanolique (3 g) concentré a été mis en suspension dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3%) pendant 3 h et gité puis filtré.

Le filtrat a été basifié avec 10% de NH<sub>4</sub>OH (pH 8-9) et extrait par CHCl<sub>3</sub> (trois fois).

Ensuite, l'extrait a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide et déposé sur une plaque de chromatographie en couche mince (CCM).

Après migration, la plaque a été séchée et pulvérisée avec le réactif de Dragendorff.

Les taches orange ont été considérées comme des alcaloïdes.

#### **3.2.2.2. Recherche des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont une activité antimicrobienne et sont probablement dues à leur capacité à se complexer avec les protéines extracellulaires et solubles et la paroi cellulaire des bactéries (**Njoku et Obi, 2007**).

#### **A2**

Trois méthodes ont été utilisées pour détecter la présence de flavonoïdes :

**Méthode 1** : 3 ml de solution d'ammoniaque diluée ont été ajoutés à chaque extrait de plante. Suivi de l'ajoute de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. La coloration jaune indiquée la présence de flavonoïdes.

**Méthode 2** : quelques gouttes d'une solution d'aluminium à 1 % ont été ajoutées à une portion de filtrat. La coloration jaune indiquée la présence de flavonoïdes.

**Méthode 3** : un échantillon de plante a été chauffé avec 10 ml d'acétate d'éthyle sur bain de vapeur pendant 3 min. Le mélange a été filtré. 4 ml de filtrat ont été secoués avec 1 ml

d'une solution d'ammoniaque diluée. La coloration jaune indique un résultat positif (**Edeoga et al., 2005**).

**A4**

100 g du magnésium métallique a été ajoutée à 1 g d'extrait de méthanol dans 10 ml d'eau, puis 5 à 6 gouttes de HCl concentré ont été ajoutées lentement goutte à goutte, puis 2 ml d'alcool amylique. La solution vire à rouge indique la présence de flavonoïdes.

### **3.2.2.3. Recherche des tanins**

Les tanins ont des activités antibactériennes et ils diminuent la prolifération bactérienne en bloquant les enzymes clés du métabolisme microbien. (**Ogunwenmo et al., 2007**) ont indiqué que les tanins solubles dans l'eau sont toxiques pour les bactéries.

**A2**

0.5g d'échantillon en poudre séchés ont été bouillis dans 20 ml d'eau dans un tube à essai puis filtrés.

Ajoutées quelques gouttes de chlorure ferrique à 0.1%. La coloration vert brunâtre ou bleu noire indique un résultat positif (**Edeoga et al., 2005**).

**A4**

2 ml d'extrait de méthanol à 10% ont été ajoutée à 0.1 g de gélatine, 10 ml d'eau et 1g de chlorure de sodium. Les précipitations sont révélatrices de la présence de tanins.

### **3.2.2.4. Recherche des glycosides**

**A2**

1 ml de chaque extrait ont été traités avec 2 ml d'acide acétique glacial contenant une goutte de solution de chlorure ferrique. Recouvert de 1 ml d'acide sulfurique concentré.

Un anneau brun de l'interface indique un désoxy-sucre caractéristique des cardénolides.

Un anneau violet peut apparaître sous l'anneau brun.

Tandis que dans la couche d'acide acétique, un anneau verdâtre peut se former progressivement à travers la couche mince (**Edeoga et al., 2005**).

**A4**

Pour la détection qualitative des glycosides cyanogénétiques dans la plante, le test de Grignard a été utilisé :

4 gouttes de toluène ont été ajoutées à environ 2g de matière végétale humide dans un tube à essai.

Le réactif de Grignard été utilisé comme indicateur.

Les bandes de papier filtre ont été saturée avec la solution, séchée et introduites dans le col du tube à essai contenant le matériel végétal.

Réchauffés le tube à essai à 30 à 35 C° jusqu'à 3 h.

Tout changement de couleur jaune ou rouge indique un résultat positif.

L'absence de couleur rouge indique un résultat négatif.

#### **3.2.2.5. Recherche des saponines**

Les saponines ont une activité antibiotique et antimicrobienne et cette activité de la saponine est due à sa capacité à provoquer une fuite de protéines et de certaines enzymes de la cellule.

##### **A2**

0.2 g d'échantillon en poudre a été bouilli dans 2 ml d'eau distillée sur un bain- marie et filtré.

1 ml de filtrat aqueux a été mélangé avec 2 ml d'eau distillée et agitée vigoureusement pour former une mousse persistante stable.

Mélangée la mousse avec environ 3 gouttes d'huile olive et secouée vigoureusement.

La formation d'une émulsion confirmé la présence saponine (**Ngoci *et al.*, 2011**).

##### **A4**

1 g d'extrait de méthanol ont été ajoutés à 10 ml d'eau. Le mélange a été secoué vigoureusement pendant 2 min.

Après 30 min, la formation d'une mousse riche a été étudiée (et stable pendant plus de 10 min).

#### **3.2.2.6. Recherche des stéroïdes**



**A2**

2 ml d'anhydride acétique ont été ajoutés à 0.5 g d'extrait éthanolique avec 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Le changement de couleur au violet, bleu ou vert indique la présence des stéroïdes (**Edeoga et al., 2005**).

**3.2.2.7. Recherche des terpénoïdes****A2**

5 ml de chaque extrait ont été mélangés dans 2 ml de chloroforme et 3 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Une coloration brun rougeâtre de l'interface s'est formée pour montrer la présence des terpénoïdes (**Edeoga et al., 2005**).

**3.2.2.8. Recherche des mucilages****A2**

Une petite quantité de poudre a été mélangée à quelques gouttes d'eau et laissée reposer. Si la poudre n'était pas dissoute complètement et devenu gommeux des mucilages ont été détectés (**Trease et Evans, 1989**).

**3.2.2.9. Recherche des anthraquinones****A2**

Une petite quantité de poudre a été macérée avec de l'éther. La couleur rose, rouge ou violette dans la couche aqueuse après l'agitation indique la présence de dérivés d'anthraquinones (**Trease et Evans, 1989**).

**3.2.2.10. Recherche des huiles****A2**

Une petite quantité de poudre a été pressée entre des papiers filtre. Les taches huileuses indiquent la présence de graisses et d'huiles (**Trease et Evans 1989**).

**3.2.2.11. Recherche des sucres réducteurs****A2**

0.5 D'extrait d'éthanol dans 5 ml d'eau a été ajouté à la solution bouillante de Fehling (A et B) dans un tube à essai. Réaction colorée a été observée (**Khan et al., 2011**).

### 3.2.2.12. Essai des groupes chimiques

Pour la détection des groupes chimique le tableau suivant résume l'ensemble des essais qui utilise aux articles analytiques :

**Tableau 6.** Essai des groupes chimiques

Groupes chimiques	Essais	Références
Les groupes phénoliques	3 à 5 gouttes de NaOH 1 M (aqueux) ont été ajoutées à 2 ml de l'échantillon. La solubilité de l'échantillon était une indication de la présence de groupes phénoliques.	(Ngoci et al., 2011)
Acide carboxylique	3à 5 gouttes de NaHCO <sub>3</sub> 1M (aqueux) ont été ajoutées à 2 ml d'extrait de l'échantillon. La solubilité et l'effervescence de l'échantillon était une confirmation de la présence de groupes carboxyliques.	(Ngoci et al., 2011).
Les groupes aldéhydes/ cétones	3 à 5 gouttes de réactif de Tollen ont été ajoutées à 2 ml de l'échantillon. La présence d'argent ou d'un précipité noire était une confirmation d'un test positif.	(Ngoci et al., 2011)
Les Groupes d'alcool	3 à 5 gouttes de réactif de Lucas ont été ajoutées à 2 ml de l'échantillon. La formation de précipité vert était une confirmation des résultats positifs. Si la réaction se faite très rapidement des alcools tertiaires étaient présents. Si une réaction modérée a eu lieu, des alcools secondaires étaient présents. Lorsque la réaction n'était pas observable, cela indiquait la présence d'alcools primaires.	(Ngoci et al., 2011)

### 3.2.3. Évaluations de l'activité antimicrobienne

#### 3.2.3.1. Réanimation de micro-organismes

Un milieu de bouillon de digestion de caséine de soja (0,5 ml) a été ajouté aux micro-organismes lyophilisés, et la suspension a été utilisée pour la préparation d'une culture mère sur gélose de digestion de caséine de soja par la méthode de stries.

Le milieu de culture a été incubé (24 h, à 37°C pour les bactéries et 48 h, à 25°C pour les levures). Puis des dilutions de la culture mère ont été préparées.

À partir de ces dilutions, une solution saline normale avec un dénombrement microbien de  $10^8$  UFC/ml (en comparaison avec 0,5 ml d'étalon Mc Farland) ont été préparés.

### **3.2.3.2. Evaluation des propriétés antimicrobiennes des alcaloïdes totaux**

Des extraits d'alcaloïdes à différentes concentrations ont été ajoutés aux milieux de culture (gélose Mueller Hinton, 45°C) pour préparer des milieux avec alcaloïdes (20-3000 µg/ml).

Les milieux de culture avec des poudres d'antibiotiques standard, l'amikacine (de 0,25 à 100 µg/ml) et le clotrimazole (de 0,25 à 20 µg/ml) ont également été préparés de la même manière.

Pour inoculer chaque micro-organisme, 15 ml de milieu de culture ont été transférés sur la boîte et 0,5 ml d'une suspension de micro-organismes de  $10^5$  UFC/ ml a été étalée sur la surface de la plaque de gélose.

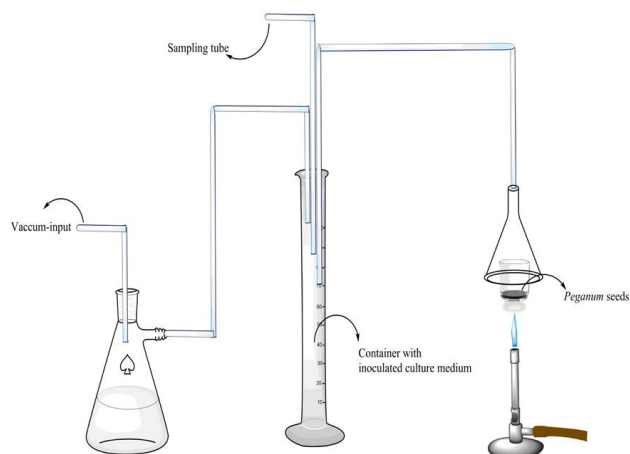
L'incubation des plaques a été réalisée à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25° C pendant 48 h pour la levure. Enfin, la croissance des micro-organismes a été étudiée.

#### **▪ Fumée**

La fumée des graines brûlées de *P. harmala* ou un comprimé de formol dans un verre de montre a été dirigé vers un flacon contenant du bouillon Mueller Hinton (150 ml) à travers un tube.

Un ml de chaque suspension microbienne (équivalent à 0,5 ml de standard Mc Farland, soit 108CFU/ml) a été ajouté au milieu (Fig.5).

L'incubation du flacon a été effectuée pendant 24 heures, à 37° C pour les bactéries et pendant 48 h, 25° C pour la levure, puis la croissance des micro-organismes a été observée. Toutes les étapes ont été réalisées dans des conditions aseptiques.



**Figure 5.** Une vue schématique de l'appareil utilisé dans cette étude pour l'étude de l'activité antibactérienne de *P. harmala* des graines.

### 3.2.3.3. Préparation d'inoculum et tests d'activité antimicrobienne

#### A3

Toutes les bactéries testées ont été cultivées pendant la nuit à 37 ° C dans du gélose Muller-Hinton Broth (MHB, Merck) et utilisées comme inoculum. La turbidité de la suspension a été ajustée à la norme de turbidité McFarland 0,5 ( $10^8$  UFC/ml) (**Owen et Palombo, 2007 ; Chomnawang *et al.*, 2005**).

Dans un premier temps, un total de 0,1 ml de suspension bactérienne a été versé sur chaque boîte contenant de gélose Muller-Hinton (MHA, Merck). La culture a été préparée avec un coton-tige stérile et laissée en contact pendant 1 min.

Quatre concentrations d'extraits méthanoliques (50, 100, 200 et 400 mg/ml) de chacune des parties de *P. harmala* utilisées ont été préparés et des disques de papier filtre stériles (6 mm de diamètre) (**Cermelli *et al.*, 2008**) ont été saturés par 35  $\mu$ l de différentes concentrations de chaque extrait puis ont été placés sur les boîtes contenant de cultures.

Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h et la zone d'inhibition autour de chaque disque a été mesurée en mm. Cette expérience a été réalisée en double.

Comme témoins positifs, des disques contenant de la novobiocine 30  $\mu$ g, de l'acide nalidixique 30  $\mu$ g, de la carbénicilline 100  $\mu$ g, de la colistine 10  $\mu$ g, de la streptomycine 10  $\mu$ g et de la méthicilline 5  $\mu$ g ont été utilisés.

Des disques imprégnés de 80 % et de méthanol ont également été inclus pour tester s'ils avaient un effet inhibiteur sur les bactéries testées.

**A1**

La méthode de diffusion par disque (Comité national des normes de laboratoire clinique. Méthodes de dilution des tests de sensibilité aux antimicrobiens pour les bactéries qui se développent de manière aérobie. Le biodisque à haute puissance (**Himedia**, 0,7 cm) a été appliqué pour évaluer les activités antimicrobiennes des composés phytochimiques testés.

Les milieux ont été inoculés avec une suspension cellulaire ( $10^4$  UFC/ml) et les disques ont été chargés avec les composés testés dissous dans l'acétone (1 mg/ml).

Après évaporation du solvant de charge, chaque disque a été placé au centre d'une boîte de Pétri contenant de l'agar, préalablementensemencé avec le microorganisme spécifique.

L'incubation a été poursuivie pendant 18h à une température spécifique ( $30 \pm 2$  °C) pour les bactéries et 72h ( $27 \pm 2$  °C) pour les champignons et les levures.

Après ces périodes, les boîtes ont été examinées et les zones d'inhibition ont été mesurées.

Pour tester tout effet additif entre les alcaloïdes testés, les disques d'ampicilline, de streptomycine et d'acide nalidixique ont été utilisés comme témoins positifs pour les bactéries, tandis que les disques de carbendazime étaient l'antifongique standard sélectionné pour les champignons.

**Détermination de la CMI et du CMB**

**CMI** : la Concentration Minimale Inhibitrice est la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien (en mg/L) qui, dans des conditions *in vitro* définies, inhibe l'apparition d'une croissance visible d'un microorganisme au cours d'une période définie (**Anne-sofie, 2017**).

**CMB** : la Concentration Bactéricide Minimale est la plus petite concentration d'antibiotique qui laisse un faible pourcentage de bactéries survivantes : 0.01% de survivants après 24 h de culture. Dans la norme européenne ISO 20776-1, l'inoculum recommandé pour la mesure de la CMI par la méthode de microdilution est de  $5.10^5$  UFC/ml (entre 40 à 160 %, soit  $2.10^5$  à  $8.10^5$  UFC/ml, ce qui correspond à 10  $\mu$ L de chaque puit) (**Anne-sofie, 2017**).

**A1**

**CMI :** Six dilutions acétoniques en série de chaque extrait (0,25, 0,5, 1, 1,5, 2 et 2,5 mg/ml) ont été préparées. Chaque concentration a été mélangée avec de la gélose nutritive pour les bactéries et de la gélose au dextrose de pomme de terre pour les champignons.

Toutes les boîtes de Pétri, y compris celles contenant les antibiotiques standard (témoin positif) et le véhicule solvant seul (témoin négatif), ont été inoculées avec l'organisme test en striant le milieu avec une anse calibrée (0,05 ml).

Après incubation pendant 18 h (à  $30 \pm 2$  °C) pour les bactéries et 72h (à  $27 \pm 2$  °C) pour les champignons et les levures, les boîtes de Pétri ont été examinées pour la croissance microbienne et les concentrations minimales inhibitrices (la concentration minimale de chaque traitement qui inhibent la croissance microbienne après la période d'incubation) ont été mesurés (**Courvalin et al., 1985**).

### A3

#### CMI et MBC

La CMI et MBC des extraits méthanoliques des parties les plus efficaces de *P. harmala* ont été déterminés contre des bactéries sensibles.

La CMI a été déterminée par la méthode d'analyse de macro dilution en bouillon (**NCCLS, 2008 ; Motamedi et al., 2010**). Dans le test de dilution en tube, une suspension bactérienne standard et différentes concentrations d'extrait (0,312, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 et 200 mg/ml) ont été ajoutées à des tubes contenant 1 ml de Muller- Bouillon Hinton (MHB, Merck). Ces tubes ont été incubés à 37°C pendant 24h. Le premier tube de la série ci-dessus sans signe de croissance visible a été considéré comme le CMI.

Le MBC a été déterminé en cultivant une boucle standard des tubes sans croissance apparente sur MHA et en incubation ultérieure à 37°C pendant 24h. La moindre concentration inhibant la formation de colonies sur gélose a été considérée comme MBC pour l'extrait.

### A5

Les tests de diffusion sur disque de **Lenette (1985)** ont été utilisés avec quelques modifications pour déterminer l'inhibition de la croissance de l'extrait sur toutes les bactéries testées.

La gélose Muller Hinton a été utilisée pour préparer le milieu de culture et autoclavée à 121°C pendant 15 min.

Brièvement, des boîtes (diamètre 8 cm) ont été préparées avec 10 mL de gélose MH ensemencés avec 1 mL de suspension bactérienne (107UFC ml<sup>-1</sup>).

Les extraits ont été dissous dans DMSO avant d'être testés pour l'activité antimicrobienne.

Des disques de papier stériles (5mm de diamètre) ont été imprégnés de 20 µL de différentes concentrations d'extrait (50, 100, 200, 300 et 400 mg mL<sup>-1</sup>) placés sur de la gélose nutritive.

Les plaques ont été incubées à 35°C pendant 18h. Des contrôles négatifs qui ont été préparés en utilisant le même solvant utilisé pour dissoudre l'extrait de plante.

La tétracycline et le chloramphénicol (30 µg) ont été testés dans les mêmes conditions que les témoins positifs.

Les zones d'inhibition en mm (sans le diamètre du papier du disque) autour des disques ont été mesurées.

L'activité antibactérienne a été caractérisée par le diamètre des zones d'inhibition produites par l'extrait contre les micro-organismes testés. L'expérience a été répétée en triple et la moyenne des diamètres des zones d'inhibition a été calculée.

Pour déterminer les concentrations minimales inhibitrice des agents antimicrobiens des dilutions en série et des dosages sur microplaque ont été utilisés a CMI a été définie comme la concentration la plus faible de l'extrait inhibant la croissance du micro-organisme à 50 %.

- Les CMI ont été déterminées par la méthode de dilution en bouillon (**Jorgensen, Turnidge Washington 1999**) dans des tubes de culture avec quelques modifications.

L'extrait a été initialement testé à 2 mg mL<sup>-1</sup> et dilué en série de 2 à 0,04 mg mL<sup>-1</sup>.

Ensuite, chaque tube a été ensemencé avec 1 ml de suspension contenant 107UFC ml<sup>-1</sup> de chaque bactérie et incubé à 25 °C pendant 24 h.

L'érythromycine a été incluse comme témoin positif dans chaque dosage. Une solution sans extrait a été utilisée comme contrôle négatif. Les tubes témoins ont été incubés dans les mêmes conditions.

Les tubes ont été examinés pour la croissance visible ou l'absence de croissance pour chaque dilution de bactéries testées.

La turbidité indiquait la croissance du micro-organisme et la CMI était la concentration la plus faible dans laquelle aucune croissance n'était visuellement observée (**Jorgensen *et al.* 1999**).

La concentration minimale bactéricide MBC a été également déterminé par la méthode de la plaque de goutte à partir des tubes, qu'aucune croissance visible n'a apparemment trouvée selon (**Kowser & Fatema (2009)**). Quelques modifications ont été apportées à la méthode. comme suit :

Le test de MBC a été réalisé en complément de la CMI et a été utilisé pour déterminer la concentration d'extrait qui était létale pour les bactéries cibles *in vitro*. À partir de chaque tube de bouillon CMI sans croissance visible, un volume de 25 µl de bouillon a été aliquoté sur de la gélose nutritive et étalé sur toute la surface de la boîte.

Ensuite, la dilution du tube CMI sous-cultivé a été enregistrée sur chaque boîte et incubée à 25 °C pendant 24h.

Les boîtes MBC ont été analysées pour la croissance ou l'absence de croissance des colonies pour chaque dilution sous-cultivée. Aucune croissance n'a indiqué que l'extrait était bactéricide à cette dilution ; La croissance a révélé que l'extrait était bactériostatique mais pas bactéricide à cette dilution.

- **Test sur microplaque**

Ainsi la méthode de **Stubbings, Bostock, Ingham & Chopra (2004)** avec quelques modifications a été utilisée pour déterminer la CMI de l'extrait contre toutes les bactéries testées.

Des microplaques stériles à 96 puits ont été utilisées pour le dosage. L'extrait a été dissous dans du DMSO (pas plus de 5 %).

Tous les puits (deux rangées pour chaque micro-organisme) ont été remplis de TSB (1 ml). L'extrait de test (1 ml) a été ajouté au premier puits de chaque rangée et des dilutions en série de deux fois (0,019 à 10 mg ml<sup>-1</sup>) ont été réduites à la concentration minimale souhaitée et ont été inoculés avec la suspension de chaque bactérie test (0,1 mL de 0,5 McFarland Standard) et incubés à 37°C du jour au lendemain.



La croissance de chaque microorganisme dans les différentes dilutions d'extrait a été déterminée en mesurant la densité optique à 600 nm avec un spectrophotomètre.

Le puits rempli de milieu TSB et la suspension de chaque bactérie testée ont été inclus comme contrôle positif dans chaque essai.

Le puits rempli de milieu TSB et d'extrait a été utilisé comme contrôle négatif. Tous les dosages ont été effectués en triple exemplaire.

L'inhibition démontrée par l'extrait est exprimée par l'équation suivante (Zampini, Vattuone et Isla 2005) :  $\% \text{ d'inhibition} = [(DO_c - DO_t) / DO_c] \times 100$

où :  $DO_c$  : est la DO 600 pour le contrôle négatif (ne contenant pas extrait)

$DO_t$  : est la DO 600 pour l'échantillon traité avec les composés antimicrobiens.

### 3.2.4. Analyses statistiques

#### A1

Chaque expérience de l'activité antimicrobienne a été évaluée avec six dilutions en série pour chaque composé, puis répliquée trois fois. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SE et analysés statistiquement à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) selon le test de Schiffee via un logiciel SPSS 15.0 dans le système d'exploitation Microsoft Windows 7. Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $P < 0,05$ .

#### A5

Les expériences ont été menées en triple et les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type (SD). Une comparaison de l'activité antibactérienne de l'extrait contre toutes les bactéries testées avec des antibiotiques standard a été évaluée en appliquant un test t non apparié à deux queues. La comparaison et la différence entre toutes les bactéries testées ont été évaluées en utilisant respectivement une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) et un test de comparaisons multiples de Duncan. Les souches bactériennes étaient considérées comme significativement différentes si  $P < 0,05$ . Toutes les statistiques ont été réalisées à l'aide de SPSS pour Windows version 16.

### Définition de SPSS

SPSS est un logiciel spécialement conçu pour les analyses « Statistical Package for social sciences »

### **L'objectif de SPSS**

Son objectif est d'offrir un logiciel permettant de réaliser la totalité des analyses statistiques.

**CHAPITRE 4.  
RESULTATS ET  
DISCUSSIONS**

## 4. Résultats et discussion

### 4.1. Extraits obtenus

Les extraits obtenus pour **A1** et leurs rendements sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 7.** Le rendement d'extraction p/p de l'extrait total d'alcaloïdes de *P.harmala*.

Extrait	Rendement d'extraction (%)
Hexane	4.28
Dichlorométhane	2.76
Harmaline	2.6
Harmine	1.16
Harmalol	0.22
Harman	0.16

Sur la base du poids sec des graines, le rendement d'extraction de l'extrait total d'alcaloïdes de *P.harmala* était de 4,28 et 2,76 % pour les fractions d'hexane et de dichlorométhane, respectivement. Cette différence est expliquée par l'efficacité du solvant utilisée aux cours du processus d'extraction (**Behidj-benyounes et al., 2015**). Ces résultats sont cependant en désaccord avec **Behidj-benyounes et al. (2015)** qui trouve que les extraits au méthanol sont les plus actifs, suivis par ceux à l'éthanol. Ceci s'explique par le fait que le méthanol est un solvant plus polaire que l'éthanol.

Il a été constaté que l'harmaline était le principal alcaloïde (2,6 %) (p/p) et que sa teneur était supérieure à celle des autres (harmine, 1,16 % ; harmalol, 0,22 % et harman, 0,16 %).

### 4.2. Les tests préliminaires

La bio-activité des produits naturels est due aux composés phytochimiques ayant des propriétés thérapeutiques, prophylactiques, nutritionnelles et antibactériennes. Le criblage phytochimique des matières végétales est donc primordial dans la connaissance de leurs propriétés thérapeutiques. Il a été constaté qu'ils confèrent par inadvertance des protections antimicrobiennes aux humains en raison de composés synthétisés dans le métabolisme secondaire et qu'ils sont immun modulateurs (**Al-Bayati et Al-Mola, 2008**).

Les tableaux suivants présentent les résultats des tests préliminaires pour **A2** et **A4** respectivement :

**Tableau 8.** Résultats des tests phytochimique préliminaires de l'extrait méthanolique et n-hexanoïque de plante *P.harmala*.

Tests	Extrait méthanolique	Extrait n-hexanique
Alcaloïdes	+	-
Saponines	+	-
Flavonoïdes	+	+
Tanins	/	-
Sucre réducteurs	+	/
Composés phénoliques	+	/
Acides aminés	+	+
Terpénoïdes	+	/
Glycosides	+	/
Groupes chimique (OH / carboxylique / phénolique)	+	/
Groupe aldéhyde ou cétone	-	-
Anthraquinones	/	-
Mucilage	/	/
Huiles	/	/
Stéroïdes	+	+

(+) : Présence

(-) : absence

(/) : Non utiliser

**Tableau 9.** Résultats du dépistage phytochimique de l'extrait méthanolique des parties de la plante *P.harmala*.

Tests / Partie de plante	Cyanogène glycosides	Saponines	Tanins	Flavonoïde	Alcaloïde
Fleurs et feuilles	-	+	-	-	++++
Fruits mûrs et feuilles	-	+++	-	-	++++

Selon les deux tableaux, les extraits de *P.harmala* obtenus en A2 et A4 ont révélé la présence forte d'alcaloïdes et de saponines, par contre les tanins étaient absente dans les

extraits, ces résultats sont similaires avec ceux **Behidj-Benyouness et al., (2015)** qui déclarent que 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, suivis par les coumarines et les saponosides. Par contre **Maitham et al., (2019)**, par leurs études de criblage phytochimique des graines de *P.harmala*, ont montré l'absence de flavonoïdes, coumarine et résines et la présence d'alcaloïdes, de saponines, de tanins glycosides, anthraquinons, terpénoïdes et stéroïdes.

**A2** a montré l'absence des glycosides et des flavonoïdes, contre l'article **4** où ils étaient présents, l'article **4** a aussi montré la présence des sucres réducteurs, des acides aminés, des stéroïdes, des composés phénoliques et terpénoïdes dans l'extrait méthanolique et l'absence de groupe aldéhyde ou cétone.

**A2** a montré que l'extrait n-hexane de *P.harmala* a révélé la présence des flavonoides, des acides aminés et des stéroïdes et l'absence des alcaloides, des saponines, des tanins, de groupe aldéhyde ou cétone et anthraquinones.

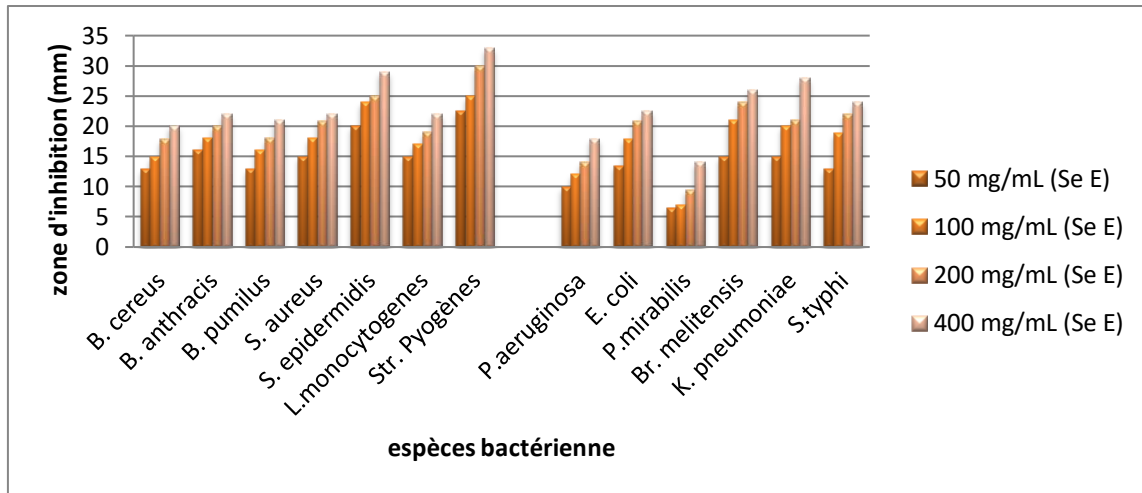
Dans le genre *Peganum*, on trouve des composés tels que des alcaloïdes, des triterpénoïdes, des anthraquinones, des flavonoïdes, glucides, acides aminés, huiles volatiles, stérols, vitamines entre autres (**Aroujo et al., 2019**)

### 4.3. Activité antimicrobienne

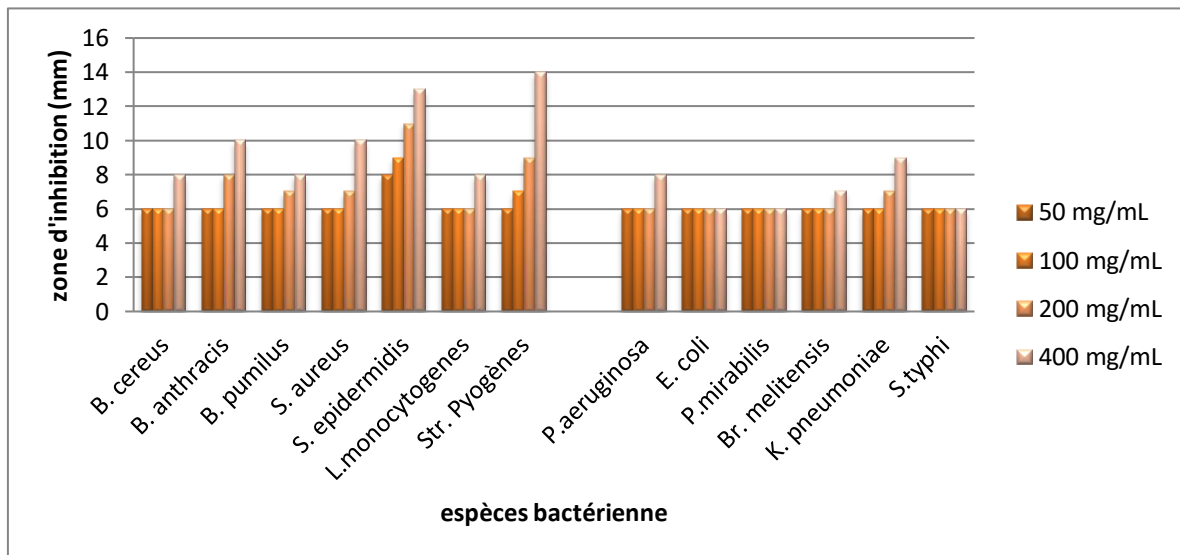
La résistance aux antibiotiques augmente dans le monde entier, tant chez les patients ambulatoires que chez les patients hospitalisés. Au cours des deux dernières décennies, le problème s'est aggravé à mesure que la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques a augmenté et que des souches multi-résistantes sont apparues chez de nombreuses espèces qui causent des maladies chez l'homme (**Hayet et al., 2010**).

**A3 :**

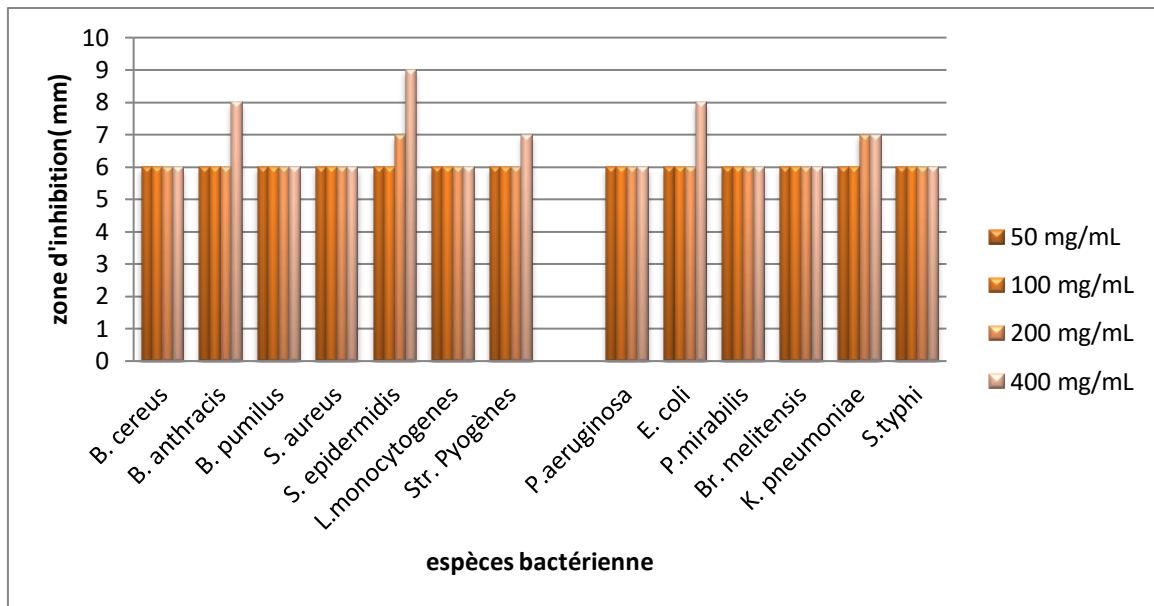
Les résultats de l'activité antimicrobienne des différents extraits réalisés par les auteurs d'**A3** sont présentés dans les figures de 6 à 10 :



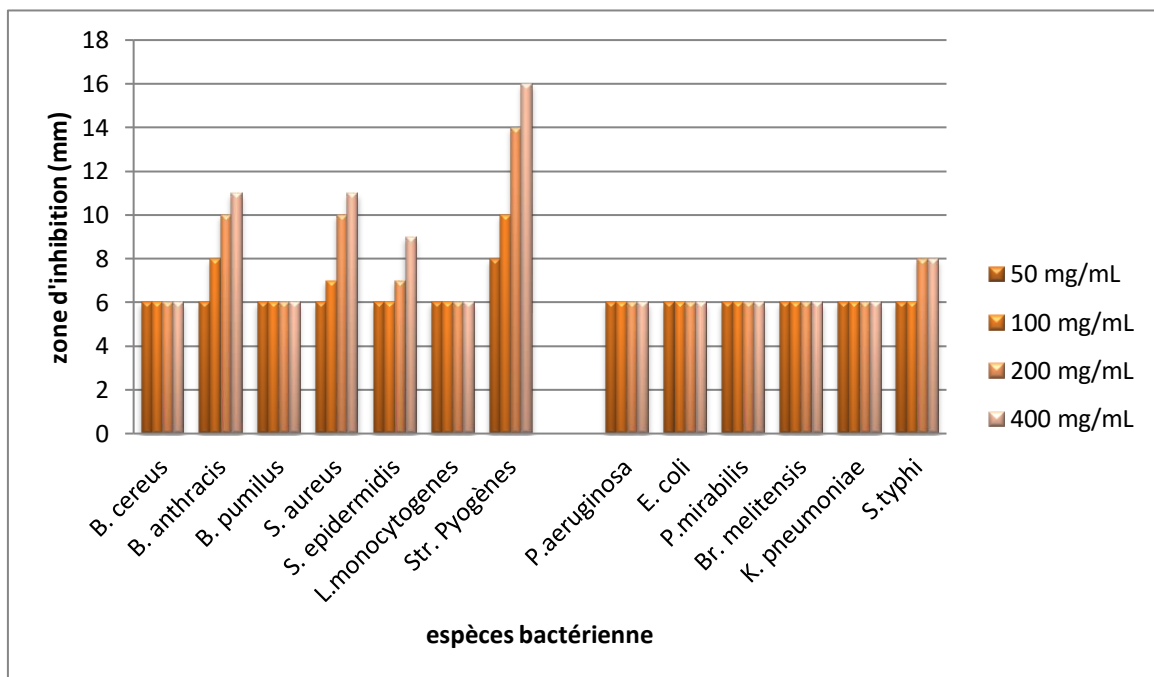
**Figure 6.** Activité antibactérienne de l'extrait de graines de *P. harmala*(Se E) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.



**Figure 7.** Activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de *P. harmala*(LE) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.

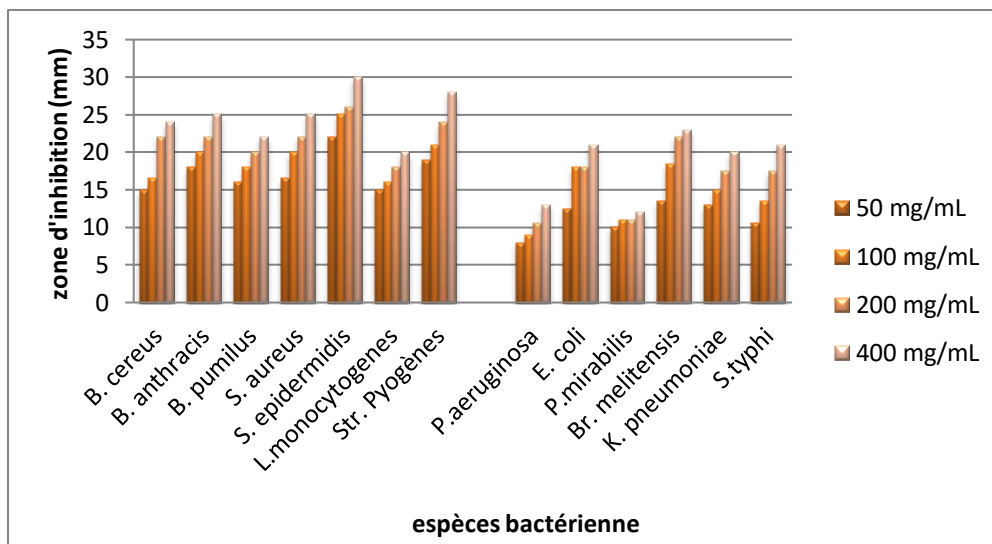


**Figure 8.** Activité antibactérienne de l'extrait de fleurs de *P.harmala* contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.



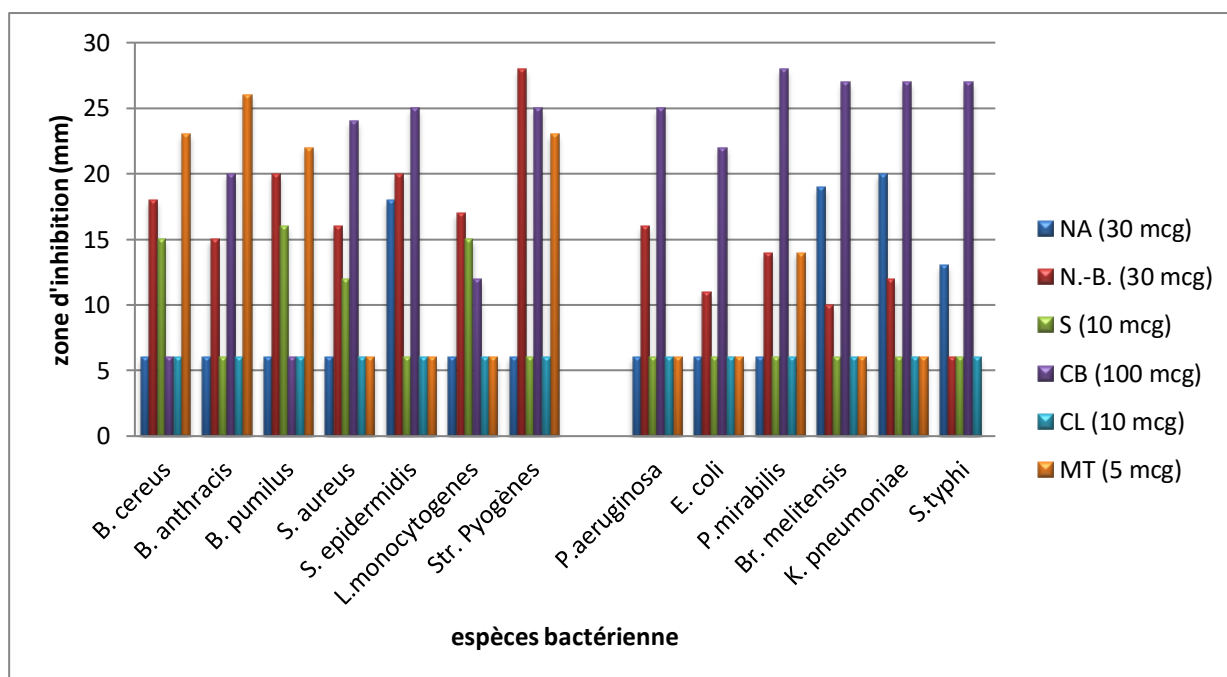
**Figure 9.** Activité antibactérienne de l'extrait de tige de *P.harmala* (St E) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.





**Figure 10.** Activité antibactérienne de l'extrait de racine de *P.harmala* (RE) contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm.

Pour les antibiotiques synthétiques utilisés comme contrôles positifs, leurs diamètres d'inhibition sont les suivants :



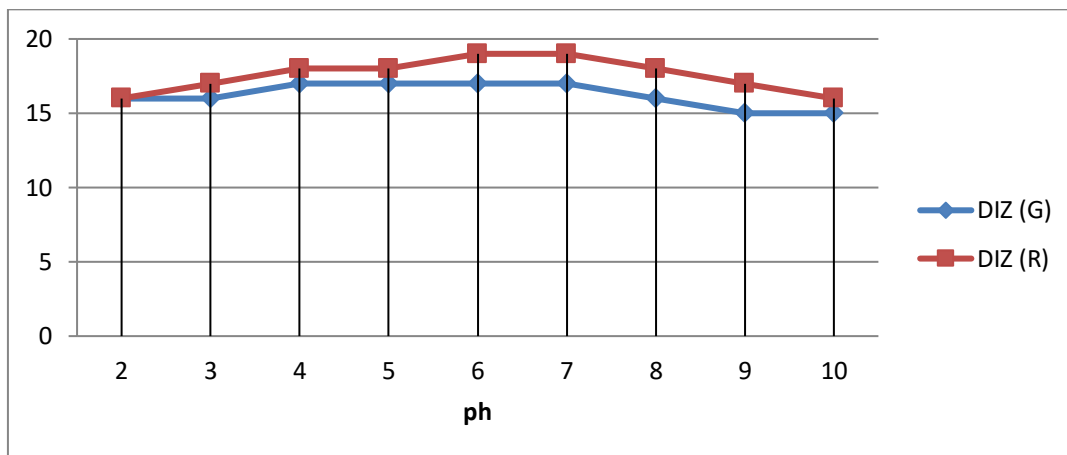
**Figure 11.** Activité antibactérienne des antibiotiques synthétiques contre certaines pathogènes bactériennes cliniques. Le diamètre du disque est de 6 mm

L'A3 a utilisé les extraits des parties de plante (graine, racine, tige, feuille, fleur et avec les antibiotiques synthétiques).

Sur la base des résultats obtenus qui sont présentés dans les figures 7 à 12, les extraits de graines et de racines de *P.harmala* ont une large activité antibactérienne de sorte que toutes les bactéries cliniques testées étaient sensibles à ces deux extraits tandis que les extraits des fleurs, feuilles et tige présentaient une action antibactérienne relativement médiocre.

## Résultats de Traitement physico-chimique des extraits

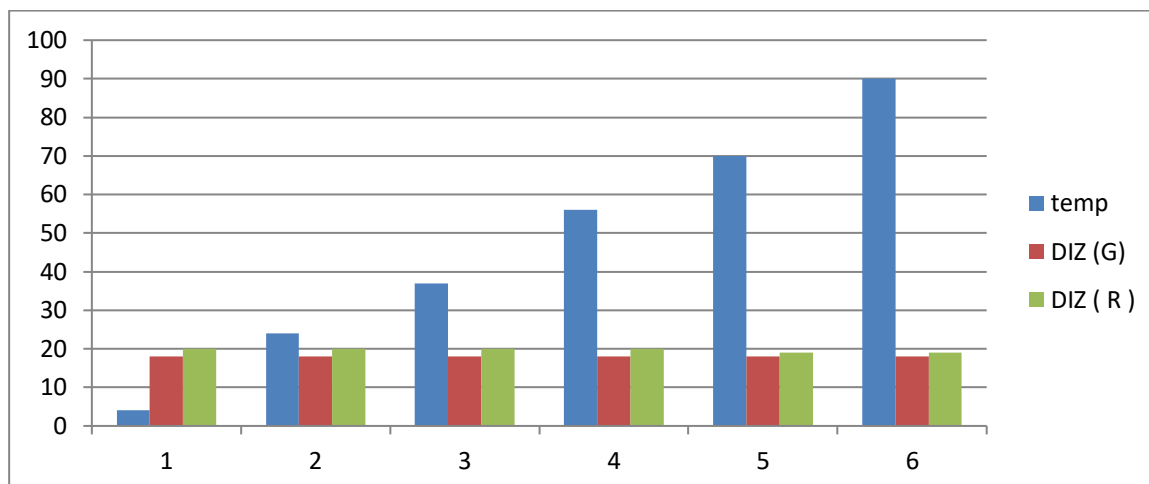
### Résultats de traitement de pH



**Figure 12.** Résultats de stabilité des extraits de graines et racines de *P.harmala* dans les différents pH. DIZ (S) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de graine contre le SARM. DIZ (R) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de racine contre le SARM

Au terme de cette étude, les auteurs ont étudié le traitement physico-chimique des extraits actifs, dont le traitement au pH, la meilleure activité de l'extrait de graine a été observée dans les gammes de pH de 4 à 7 tandis que pour l'extrait de racine était à pH 6 et 7.

### Résultat de Traitement thermique



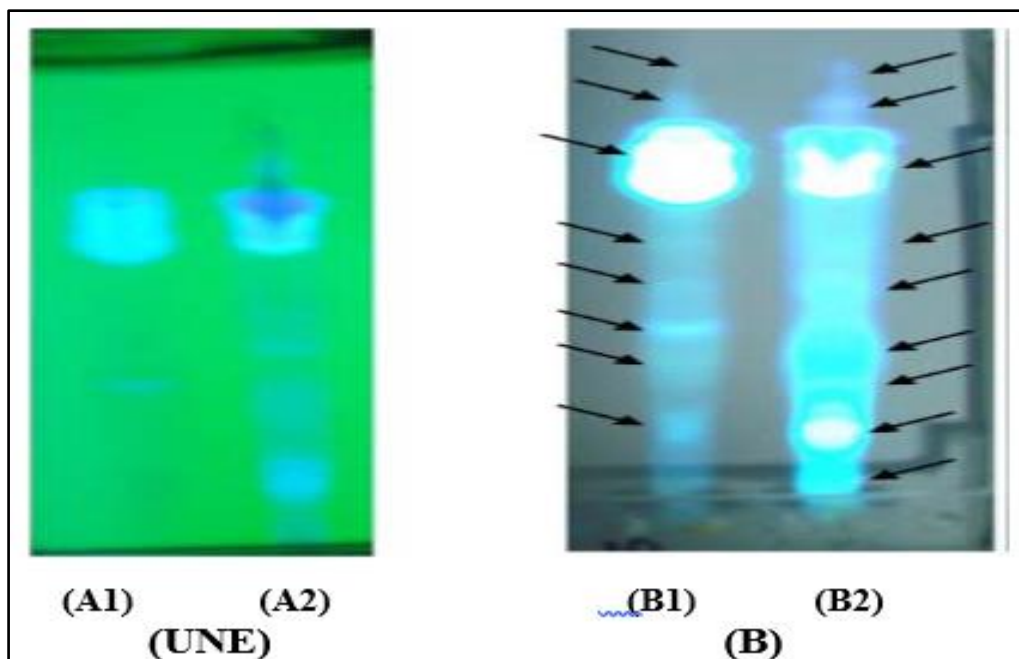
**Figure 13.** Résultats du traitement thermique sur *P. harmala* extraits de graines et de racines.  
 DIZ (S) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de graine contre le SARM  
 DIZ (R) : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de racine contre le SARM

Sur la base des résultats de traitement thermique on observe que les zones d'inhibition de l'extrait des graines n'ont pas presque changé, mais l'activité antibactérienne de l'extrait de racine était partiellement affectée lorsqu'il était traité à 70 et 90°C.

En général, l'activité antibactérienne de ces deux extraits n'a pas été considérablement affectée après traitement à la température et au pH.

### Résultat de Fractionnement des extraits de graines et racines par CCM

Les plaques CCM sont les suivantes et les RF calculé sont au niveau de tableau 10 :



**Figure 14.** Analyse CCM des extraits de graines et de racines de *P.harmala*.

**UNE:** Plaque CCM visualisée à 254 nm. **B:** Plaque CCM visualisée à 366 nm. **A1 et B1 :** Extrait de graines. **A2 et B2:** Extrait de racine.

**Tableau 10.** Les valeurs RF de places obtenues (à 336 nm) : Du haut poids moléculaire au bas poids.

Place	RF	Place	RF
B1b1	0/19	B2b1	0/14
B1b2	0/34	B2b2	0/17
B1b3	0/45	B2b3	0/31
B1b4	0/53	B2b4	0/38
B1b5	0/59	B2b5	0/51
B1b6	0/72	B2b6	0/59
B1b7	0/88	B2b7	0/74
B1b8	0/93	B2b8	0/88
-	-	B2b9	0/93

Selon ces résultats, figure 14 et le tableau 10, il existe des places (à 254 et 336 nm) avec différents valeurs RF ou poids moléculaire dans les extraits de graines et de racines de *P.harmala*. Certaines tâches sont plus intenses dans un extrait par rapport à un autre extrait.

En général, les résultats obtenus par CCM ont révélé que ces deux parties de *P.harmala* ont plusieurs constituants différents, par autre cote **Bouabedelli et al., (2016)** qu'ils utilisent la CCM pour la conformation des alcaloïdes sur des plaques analytiques. Dans ces résultats ont trouvé que les principaux alcaloïdes détectés et quantifiés à partir de l'intensité de leur fluorescence sont l'harmine, l'harmaline, l'harmalol et l'harmol.

### Effet synergique des extraits

Les résultats de la combinaison d'extraits de graines et de racines de *P.harmala* avec la novobiocine, la colistine et la carbénicilline contre les bactéries testées sont présentés dans le tableau 9 suivant :

**Tableau 11.1.** Résultats des effets synergiques des extraits de graines et de racines de *P. harmala* avec disques antibiotiques.

Espèce bactérienne	NB	NB+R	NB+G	résultat	CL	CL+R	CL+G	Résultat
<i>E. coli</i>	11*	22	24	syn	R	26	24	Syn
<i>L. monocytogenes</i>	17	24	24	syn	R	26	23	Syn
<i>S.typhi</i>	R	25	27	syn	-	-	-	-
<i>B.anthraxis</i>	15	28	22	syn	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	R	20	30	syn	-	-	-	-
SARM	16	28	25	syn	-	-	-	-

**Tableau 12.2.** Résultats des effets synergiques des extraits de graines et de racines de *P. harmala* avec disques antibiotiques

Espèce bactérienne	CB	CB+R	CB+G	Résultat
<i>E. coli</i>	-**	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-
<i>S.typhi</i>	28	34	34	Syn
<i>B.anthraxis</i>	20	30	26	Syn
<i>K. pneumoniae</i>	R	24	32	Syn
SARM	24	29	26	Syn

\* : Diamètre de la zone d'inhibition, \*\* : Non utilisé , R : résistant , syn : synergique

Les combinaisons des extraits de graines et de racines de *P. harmala* avec la novobiocine, la colistine et la carbénicilline ont montré que ces combinaisons ont un effet synergique contre les bactéries testées (tab.9). La combinaison d'extrait de graines et de racines avec de la novobiocine contre *E.coli*, *B.anthraxis*, *K.pneumoniae* et le SARM a montré un effet synergique remarquable. Bien que *E.Coli* et *L. monocytogenes* étaient résistantes à la colistine, l'association de cet antibiotique de synthèse avec des extraits de graines et de racines a montré une excellente activité antibactérienne contre ces deux bactéries.

L'effet synergique de l'extrait de graines en association avec la novobiocine contre *E. coli*, *S.typhi* et *K.pneumoniae* était meilleur que l'extrait de racine cependant contre *B.anthraxis* et *S.aureus*, l'efficacité de l'extrait de racine était meilleure que celle de l'extrait de graines.

De plus, la synergie observée de l'extrait de racine avec la colistine contre *E. coli* et *L. monocytogenes* était meilleur que l'extrait de graines. La combinaison de l'extrait de racine de *P.harmala* avec la carbénicilline a présenté une meilleure activité antibactérienne contre *B.anthraxis* et SARM par rapport à l'extrait de graines. Alors que, l'extrait de graines et de racines en combinaison avec la carbénicilline a montré une activité synergique relativement faible contre le SARM.

## A1

Les résultats des effets antimicrobiens des alcaloïdes  $\beta$ -carboline isolés de *P. harmala* contre tous les micro-organismes testés sont montrés le tableau suivant :

**Tableau 13.** Activités antimicrobiennes de mélanges individuels et binaires d'alcaloïdes de *P. harmala* contre les micro-organismes testés.

Composé	% Zone d'inhibition(signifie ± SE)					
	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.doré</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>A.niger</i>	<i>C.albicans</i>
Harmane(A)	17,9±1,2	21,6 ± 2,4	12,9±1,8	15,4±1,2	15,8 ± 1,6	19,9 ± 1,1
Harmine (B)	16,4±1,1	24,7 ± 2,2	14,7 ± 1,2	21,1 ± 2,2	12,9 ± 1,0	22,2±2,0
Harmaline(C)	14,6 ± 1,3	22,6 ± 1,5	10,5±0,6	19.1±1.4e	11,8 ± 0,8	21,3 ± 1,9
Harmalol(D)	12,8 ± 0,7	18,3 ± 1,1	12,0 ± 1,1	13,3 ± 0,8	10,2±1,1	17,6 ± 2,4
(A+B)	26,8 ± 2,2	25,6 ± 2,0	16,7 ± 2,0	23,3 ± 2,4	20,4 ± 1,9	25,6±2,7
(A+C)	22,4 ± 1,8	28,9 ± 2,4	18,6 ± 1,9	26,1 ± 2,4	23,3 ± 2,4	29,0 ± 2,8
(A+D)	18,8±0,9	22,0 ± 2,0	16,0±0,5	21,2 ± 2,0	21,6 ± 2,2	25.0±1,9
(B+C)	21,7 ± 1,0	27,7 ± 1,8	16,9 ± 1,7	23,9 ± 1,8	21.0±2.3	22,9 ± 2,0
(D+D)	22,4 ± 2,1	26,2 ± 2,0	18,8 ± 1,5	20,6 ± 1,6	21,2 ± 2,9	27,8 ± 2,2
(C+D)	16,4±1,3	26,8 ± 3,0	15,9 ± 1,0	23,0 ± 2,4	21,9 ± 2,2	23,5 ± 3,0
Alcaloïdes T	28,4 ± 1,6	29,7 ± 1,9	24,1±1,2	26,4 ± 2,0	23,7 ± 2,1	31,5 ± 3,0
CIP	32,2 ± 0,2	30,9 ± 0,1	22,8±0,2	31,6 ± 0,0	NT	NT
NAL	24,2 ± 1,1	26,5 ± 0,6	36,8 ± 0,4	32,6 ± 0,3	NT	NT
STR	18.8±0.4	9.6±0.2e	16,8 ± 0,4	11,2±0,1	NT	NT
AUTO	NT	NT	NT	NT	18,2 ± 0,6	17,9 ± 0,5
Contrôle S	NT	NT	NT	NT	NT	NT

Alcaloïdes T : alcaloïdes totaux

contrôle S : contrôle des solvants

**A2**

Les extraits méthanoliques et n-hexanoïques de plante *Peganum harmala* ont été testés contre des microbes pathogènes à savoir *S.typhi*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* et *K. pneumoni*. Les résultats de l'activité antibactérienne de ces extraits sont présentés dans le tableau 11 :

**Tableau 14.** Activité antibactérienne des extraits de *Peganum harmala*.

Extrait de plante	Bactéries	Zone d'inhibition d'échantillon (mm)	Pourcentage d'inhibition (%)	Signifier (nombre d'échantillons = 5)
<b>Extrait méthanolique</b>	<i>S.typhi</i>	15	54.5	(39,36) N.-É.
	<i>P.aeruginosa</i>	16	51.5	
	<i>E.coli</i>	24	27.2	
	<i>S.aureus</i>	30	9.09	
	<i>K.pneumoni</i>	15	54.5	
<b>Extrait n-hexanoïque</b>	<i>Salmonella typhi</i>	18	45.4	(44,80) N.-É.
	<i>P.aeruginosa</i>	13	60.6	
	<i>E.coli</i>	21	36.3	
	<i>S.aureus</i>	29	12.1	
	<i>K.pneumoni</i>	10	69.6	

**A5**

Les résultats des zones d'inhibition exercées par les différentes concentrations d'extrait et des deux standards (tétracycline et chloramphénicol) vis-à-vis des microorganismes testés sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 15.** Les zones d'inhibition autour des disques (mm) produites par l'activité antibactérienne de différentes concentrations de *P. harmala* et des antibiotiques standards contre les souches bactériennes isolées de la truite arc-en-ciel.

Souches bactériennes	Concentration (mg mL <sup>-1</sup> )						Tétracycline	Chloramphénicol
	50	100	200	300	400	500		
<i>A. hydrophila</i>	25±3.13	16±1.78	18±3.10	21±4.12	21±3.80	21±2.95	18±3.11	29±2.25
<i>P. putida</i>	ND	ND	8±1.11	11±3.23	12±3.76	13±1.20	12±3.74	ND
<i>L.garvieae</i>	13±1,78	17±2.12	18±2,54	20±1.12	20±1.33	20±1,23	14±1.88	19±4.12
<i>Y.ruckeri</i>	16±2.25	18±2.21	19±3.34	19±3.98	19±4.21	19±4.12	18±2,74	23±3.91

Chaque donnée représente la moyenne (± SD) des triplicatas.



Comme représenté les tableaux précédents, les alcaloïdes  $\beta$ -carboline isolés de *P. harmala* ont montré des effets antimicrobiens contre tous les micro-organismes testés. Il y avait des différences significatives dans leurs activités selon le micro-organisme testé.

Les diamètres des zones d'inhibition variaient entre 10,5 et 31,5 mm. Lorsque les alcaloïdes ont été examinés individuellement, *P.vulgaris*, *B.subtilis* et *C.Albicans* étaient les plus sensibles à l'harmine avec des zones d'inhibition de 24,7, 21,2 et 22,2 mm, respectivement, tandis que l'harman était le plus actif contre *E.coli* et *A.niger* avec des zones d'inhibition atteignant 20,8 mm. L'harmaline était plus efficace contre *P.vulgaris* et *C.albicans* (diamètres des zones d'inhibition étaient de 22,6 et 21,3 mm, respectivement), tandis que l'harmalol a montré des activités modérées. Les mélanges d'alcaloïdes formulés ont montré une spécificité d'espèce dans leur action. Une combinaison d'harman et d'harmine était la plus efficace contre *E.coli* (zone d'inhibition = 26,8 mm), alors qu'un mélange d'harman et d'harmaline était efficace contre *P.vulgaris* et *C.albicans* (les zones d'inhibition étaient de 28,9 et 29,0 mm, respectivement). Parmi les mélanges également étudiés, le plus actif était la fraction alcaloïde  $\beta$ -carboline totale avec des zones d'inhibition comprises entre 23,7 et 31,5 mm. Ces résultats appuient les résultats de **Maitham et al., (2019)** qui confirment l'activité antibactérienne de *Peganum harmala* et de ses alcaloïdes où les alcaloïdes ont montré des zones d'inhibition élevées contre (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *E.coli*). Alors que *P.harmala* a montré une bonne zone d'inhibition contre *Acinetobacter*.

Le test contre *Klebsiella* n'a montré aucune activité ni de *Pegnum harmala* ni de ses alcaloïdes.

Les données des tableaux ont aussi dévoilé que *E.coli*, *P.vulgaris*, *C.albicans* et *A.niger* étaient plus sensibles aux alcaloïdes testés, alors que *S. aureus* étaient moins. Concernant les antibiotiques standards utilisés comme contrôle positif dans cette étude, la ciprofloxacine a été la plus efficace contre *E.coli*, *P.vulgaris* et *B.subtilis*, tandis que l'acide nalidixique était actif contre *S. Aureus* et *B.subtilis*.

Pour **A2** : les 2 extraits de *P.harmala* ont montré des zones d'inhibition contre *S. aureus* maximales (30 mm, 29 mm), cette inhibition peut être due à la solubilité de certains principes actifs dans le méthanol et n-hexane. Les 2 extrait ont aussi montré une forte inhibition de croissance de *E.coli* (24, 21 mm), par contre *Salmonella typhi* et *P.aeruginosa* les zones d'inhibition étaient faible (13, 15 mm). L'extrait n-hexane a montré la plus faible zone d'inhibition contre *K.pneumoni* (10 mm). Ces déférences des résultats du test antibactérien ont révélé que ces extraits possédaient divers molécules (**Fawzi et al., 2014**).

L'extrait n-hexanique de *P.harmala* a montré le pourcentage le plus élevé d'inhibition contre *K.pneumoni* et *P.aeruginosa* (69.6, 60.6%) et le pourcentage le plus fort d'inhibition contre *Salmonell atyphi*, *K.pneumoni* et *P.aeruginosa* ont été chez l'extrait de méthanolique (51, 54 %). Les 2 extraits ont présenté un pourcentage faible contre *E.coli* (27.2, 36.3%) et *S.aureus* (9.09, 12.1%).

Les variations des résultats ont clairement montré que l'activité antibactérienne variait selon les espèces végétales et les extraits utilisés.

Pour **A5**, selon les diamètres des zones d'inhibition exercées par les différentes concentrations d'extrait et les deux standards (tétracycline et chloramphénicol) vis-à-vis des microorganismes testés, l'extrait de graines de *P.harmala* était efficace contre toutes les souches bactériennes testées. Une inhibition plus élevée a été détectée contre *A. hydrophile*, *Y. ruckeri* et *L. Garvieae* comparé à *P. putida* ( $P < 0,05$ ). L'activité de l'extrait de graine était supérieure à celle de la tétracycline pour tous les micro-organismes testés. Dans le cas de *A. Hydrophile* et *Y. ruckeri*, l'activité de l'extrait de graines ( $21 \pm 2,95$ ,  $19 \pm 4,12$  respectivement) était inférieure à celle du chloramphénicol ( $29 \pm 2,25$ ,  $23 \pm 3,91$  respectivement).

### Détermination de CMI et MBC

Les valeurs de différentes CMI et MBC pour les différents articles sont :

## A1

**Tableau 16.** Concentration minimale inhibitrice d'alcaloïdes de *P. harmala* contre les micro-organismes testés.

Composé	CMI (mg/ml)					
	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. niger</i>	<i>C.albicans</i>
Harmane (A)	0,500±0,007	0,666±0,006	1.000±0.02	0,500±0,008	0,750±0,01	0583±0,009
Harmine (B)	0,750±0,009	0,833±0,008	1.000±0.01	0,750±0,01	0,666±0,02	0,500±0,01
harmaline (C)	1.000±0.01	0,750±0,007	0,750±0,02	0,833±0,02	1.000±0.07	0,666±0,01
Harmalol (D)	0,833±0,01	1.000±0.01	1.500±0.03	1.000±0.05	1.500±0.06	0,750±0,02
(A+B)	0,333±0,007	0,416±0,004	0,833±0,02	1.000±0.03	0,833±0,01	0,333±0,008
(A+C)	0,666±0,009	0,416±0,003	1.500±0.03	0,333±0,009	0,666±0,01	0,333±0,006
(A+D)	1.000±0.009	0,833±0,007	0,833±0,008	1.500±0.06	0,583±0,02	0,666±0,02
(B+C)	0,750±0,008	0,666±0,009	0,666±0,009	0,500±0,009	0,666±0,009	0,833±0,02
(D+D)	0,833±0,009	0,666±0,005	0,833±0,01	0,833±0,01	0,833±0,01	0,583±0,009
(C+D)	1.000±0.02	0,583±0,005	1.000±0.04	0,833±0,03	0,750±0,009	0,666±0,008
Alcaloïdes T	0,333±0,006	0,333±0,004	0,500±0,007	0,583±0,009	0,333±0,007	0,333±0,007
CIP	0,250±0,00	0,250±0,00	0,333±0,001	0,250±0,00	NT	NT
NAL	0,250±0,00	0,333±0,001	0,333±0,002	0,250±0,00	NT	NT
STR	0,250±0,00	0,416±0,002	0,583±0,001	0,333±0,005	NT	NT
AUTO	NT	NT	NT	NT	0,416±0,009	0,333±0,001
Contrôle S	NT	NT	NT	NT	NT	NT

## A3

**Tableau 17.** Les valeurs CMI et MBC des extraits de graines et de racines de *P.harmala* contre certains pathogènes bactériens importants.

Partie utilisé	Bactérien espèce	CMI (mg/ml)	MBC (mg/ml)
Graine	SARM	0,625	0,625
Racine	SARM	0,625	0,625
Graine	<i>B.anthraxis</i>	2.5	5
Racine	<i>B.anthraxis</i>	1.25	2.5
Graine	<i>E. coli</i>	0,625	0,625
Racine	<i>E. coli</i>	0,625	1.25
Graine	<i>S.typhi</i>	0,625	0,625
Racine	<i>S.typhi</i>	0,625	1.25

## A 4

**Tableau 18.** CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de l'extrait total d'alcaloïdes, du clotrimazole et de l'amikacine contre les micro-organismes standards et pathogènes.

Micro-organisme	Standard (alcaloïde total) $\mu\text{g/ml}$	Agent pathogène (alcaloïde total) $\mu\text{g/ml}$	Standard et pathogène (clotrimazole)	Standard (Amikacine)	Agent pathogène (Amikacine)
<i>S. aureus</i>	$125 \pm 2,04$	$150 \pm 4,08$	–	$8 \pm 0.163$	$15 \pm 0.408$
<i>E.coli</i>	$500 \pm 81,60$	$1500 \pm 16,32$	–	$4 \pm 0.408$	$10 \pm 0.816$
<i>P. aeruginosa</i>	$1500 \pm 40,82$	$2000 \pm 40,82$	–	$4 \pm 0.408$	$50 \pm 1.632$
<i>C.albicans</i>	$62,5 \pm 2$	$62.5 \pm 2.04$	$8 \pm 0.204$	–	–
<i>Microcoque jaune</i>	$31,25 \pm 1,65$		–	$4 \pm 0.408$	–

**Tableau 19.** Activité antimicrobienne de la fumée contre les micro-organismes standards et pathogènes.

Micro-organisme (standard)	Standard (fumée)	Agent pathogène (fumée)	Standard (Comprimés de formol)	Agent pathogène (Comprimés de formol)
<i>S.aureus</i>	4 ± 0,082	5 ± 0,163	2 ± 0,204	2 ± 0,204
<i>E.coli</i>	1 ± 0,082	2 ± 0,224	0,5 ± 0,144	1,5 ± 0,204
<i>P.aeruginosa</i>	6 ± 0,122	8 ± 0,408	0,5 ± 0,144	2 ± 0,204
<i>C. albicans</i>	1 ± 0,04	1 ± 0,04	1 ± 0,163	1 ± 0,163
<i>Microcoque jaune</i>	2,25 ± 0,04		0,5 ± 0,144	–

## A5

**Tableau 20.** Détermination de la CMI (par dosage de dilution en série) et du MBC à différentes concentrations de *P.harmala* contre les souches bactériennes isolées de la truite arc-en-ciel.

souches bactériennes	Concentration (mg mL <sup>-1</sup> )															
	2	1.5	1.1	0.8	0.6	0.47	0,35	0.26	0,20	0.15	0.10	0.08			0.06	0.04
	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC	CMI/ MBC			CMI/ MBC	CMI/ MBC
<i>A.hydrophila</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+		
<i>P. putida</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+		
<i>L.garvieae</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+		
<i>Y.ruckeri</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+		

(+) croissance visible de chaque micro-organisme (-) Pas de croissance de chaque micro-organisme.

Pour **A1** Les valeurs CMI (tab.15) variait entre 0,250 et 1.500 mg/ml. La valeur minimale la plus basse de 0,333 mg/ml a été enregistrée avec les alcaloïdes *harmala* totaux (bruts) et les mélanges d'harman avec l'harmane ou l'harmaline.

L'A3 a calculé CMI et MBC à la fois, les résultats de la détermination de la CMI et de la MBC (tab.14) ont montré que leurs valeurs pour l'extrait de graines et de racines de *P.harmala* contre le SARM sont égaux (0,625 mg/ ml). En outre, ces valeurs pour l'extrait de graines par rapport à *E. Coli* et *S .typhi* étaient les mêmes (0,625 mg/ml) alors que pour l'extrait de racine elles étaient différentes. Les résultats sont comparable avec les conclusions de **Bouabedelli et al., (2016)** qui ont rapporté que les valeurs CMI et MBC des extraits des graines contre *E. coli* et *Salmonella typhi* étaient égaux.

De plus, les valeurs CMI pour les extraits de graines et de racines contre *B.anthraxis* étaient de 2,5 et 1,25 mg/ml, respectivement, tandis que les valeurs de MBC étaient de 5 et 2,5 mg/ml respectivement.

L'A4 a examiné l'activité des alcaloïdes totaux et la fumée d'extraits des graines de *P.harmala* contre cinq microorganismes différents (standards et souches hospitalières).

L'amikacine était le contrôle positif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des alcaloïdes totaux et de sa CMI contre les microorganismes standards.

Les alcaloïdes totaux à une concentration de 31.25, 500 et 1500 µg/ml ont montré une activité équivalente à 4 µg/ml de l'amikacine contre *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Microcoque jaune*, et à une concentration de 125 µg/ml ont montré une bonne activité qui équivalente à 8 µg/ml de l'amikacine contre *Staphylococcus aureus*. Même l'activité des alcaloïdes totaux à une concentration de 62.5 µg/ml contre *C.albicans* est équivalent 8 µg/ml de clotrimazole.

Ces résultats ont montré que les alcaloïdes totaux de *P.harmala* ont une activité remarquablement plus élevée contre les bactéries Gram-positives que les bactéries Gram-négatives et que la CMI contre les bactéries Gram-positives était inférieure à la CMI contre les bactéries Gram-négatives. Cette différence de CMI pourrait être due à la membrane externe des bactéries Gram-négatives qui empêche les molécules de pénétrer dans la cellule. Par comparaison avec les résultats de **Jayaprakash et veeran. (2021)** qui convient de noter que la concentration des extraits de feuilles de *P. harmala* s'est avérée très efficace pour inhiber la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *pneumonie à Klebsiella*. Ces auteurs trouvent que l'extrait aqueux a montré une activité très efficace par rapport à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol. Nous également rapporté des résultats différents de confirmation par l'étude de **Abdulmutalib et al. 2021** qui conclurent que leur étude révéla

l'efficacité antibactérienne de l'extrait éthanolique brut de *P.harmala* sur les bactéries pathogènes.

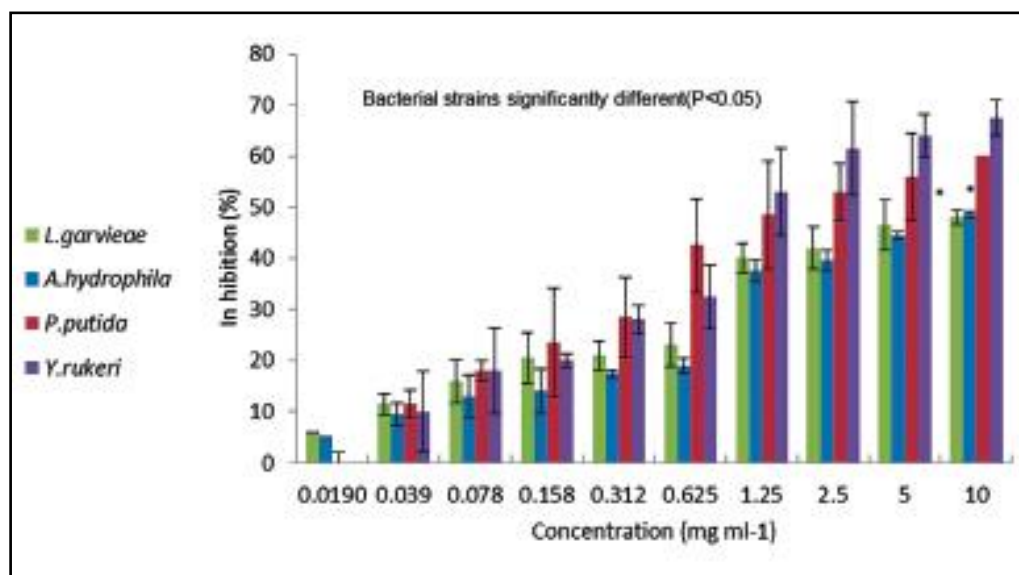
Le formol a été utilisé comme contrôle positif pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de la fumée et de sa CMI contre les microorganismes standards.

La fumée de *P harmala* a également montré une activité plus élevée contre *E.coli* par rapport aux autres micro-organismes testés, à l'exception de *C. albicans*.

L'étude de **Shahverdia et al., (2005)** sur les effets antimicrobiens des extraits de fumée à différentes concentrations, a trouvé que le composé le plus répandu détecté dans la préparation de fumée de dichlorométhane était l'harmine. Des extraits de graines de *P. harmala* ont montré une activité antibactérienne (**Prashanth et John, 1999**). Cette étude démontre l'activité antimicrobienne à l'utilisation traditionnelle de la fumée de *P. harmala* comme agent désinfectant.

Et pour l'**A5**, On peut le voir dans le tab. 17, le test MBC effectué en complément de la CMI montre que pour *P.putida* et *Y.ruckeri*, le MBC de l'extrait a été observé dans 0,8 mg ml-1 et pour *L.garvieae* et *A. hydrophila* a été trouvé dans 1,1 mg ml-1.

### Test sur microplaque



**Figure 15** . Les valeurs d'inhibition de la croissance (%) et la détermination de la CMI de différentes concentrations d'extrait de méthanol de *P.harmala* (mg mL<sup>-1</sup>) pour toutes les bactéries testées à l'aide d'un test sur microplaque. Chaque point de données représente la moyenne ( $\pm$  SE) des triplets. Les données sont identifiées par le test de Duncan.

Les valeurs d'inhibition de croissance qui sont similaires parmi les souches bactériennes sont identifiées par le symbole \*

L'extrait de méthanol de *P.harmala* a montré une forte activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées et les valeurs de CMI de l'extrait. Ce résultat est confirmé par **Hayet et al., (2010)** qu'ils ont trouvé que Les extraits chloroformiques et méthanoliques ont montré une activité antibactérienne importante contre les bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives.

En utilisant la dilution en série et la méthode de la microplaque qui étaient de 0,6 mg /ml et 0,312 à 0,625 mg /ml contre *P. Putida* et 0,8 mg ml<sup>-1</sup> et 0,625 à 1,25 mg /ml contre *L.garvieae*, *A.hydrophile* et *Y.ruckeri*, respectivement. Il y avait des différences significatives dans les activités antibactériennes de différentes concentrations de l'extrait de *P.harmala* sur *L.garvieae*, *hydrophile*, *Y. ruckeri* et *P.putida* ( $P < 0,05$ ). Comme l'illustre parmi les souches bactériennes testées, *Y.ruckeri* et *P.putida* ont révélé la croissance la plus faible à différentes concentrations d'extrait de méthanol des graines de *P.harmala*.

De plus, l'extrait de méthanol à différentes doses avait un potentiel différent qui augmente avec la dose. Ceci est en accord avec **Gvlkanwal et al., (2016)** qui ont également rapporté l'activité antibactérienne des fractions brutes déterminée par la méthode du lecteur de microplaques à 96 puits.



# CONCLUSION

## Conclusion et perspectives

Les systèmes de médecine traditionnelle sont toujours des sources précieuses d'informations pour trouver des plantes biologiquement actives et des composés phares pour le traitement de différentes maladies (Milad *et al.*, 2019). D'après la recherche bibliographique, la plante *Peganum harmala*, appartient à la famille de zygophyllacées, est l'une des plantes la plus importante dans la flore algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels.

Les métabolites secondaires sont à l'origine des effets pharmacologiques intéressants et des différentes activités biologiques ; antioxydantes, antibactériennes et antifongiques (Hassina, 2018). Malgré ces propriétés thérapeutiques, elle est considérée comme une plante toxique, en cas de surdosage donne des effets indésirables et altérations au niveau des organes (hépatotoxicité, néphrotoxicité), ces effets pouvant entraîner la mort, que ce soit pour l'homme ou l'animal.

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des tanins, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des stéroïdes et saponines dans les différentes parties de la plante.

Dans cette étude 5 articles ont été analysés. Ils ont examiné l'activité antimicrobienne de différents extraits des différentes parties de *Peganum harmala* et de plus la fumée de leur graines.

L'étude phytochimique de cette plante a révélé la présence forte d'alcaloïdes ya compris l'harmaline qui est la principale.

La présente étude montre que la plante possède une activité antimicrobienne :

L'article 1 a prouvé que les alcaloïdes  $\beta$ - carboline de *P.harmala* ont des activités antimicrobiennes contre les souches bactériennes et fongiques testées même résultats ont été trouvés par les auteurs des articles 5 et 3 où ils ont montré que l'extrait méthanolique des graines de *P.harmala* ont une forte activité antibactérienne contre ces bactéries Gram négatives et positives. Quant à l'article 4, il a rapporté que la meilleure activité antibactérienne était contre les espèces bactériennes Gram positives pour l'extrait méthanolique. L'article 2 a montré que l'extrait de n-hexane ont présenté l'activité antibactérienne maximale par rapport au méthanol.

Donc selon ces résultats, *Peganum harmala* à des doses bien définies, peut être utilisée avec succès pour traiter les maladies infectieuses et protéger l'hôte des infections microbiennes, mais d'autres études sont nécessaires pour déterminer ces doses.

De plus, les résultats de cette étude proposent la fumée de graines de *P.harmala* comme désinfectant possible qui peut être utilisé en toute sécurité à des fins sanitaires. La composition chimique de la fumée de graines de *P.harmala* est un autre sujet intéressant qui reste à élucider à l'avenir.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## Liste des références

**Abdulmutalib Alabeed Allaq, Norrizah Jaafar Sidik1, Aziyah Abdul-Aziz and Idris Adewale Ahmed. 2021.** Antioxidant, Antibacterial, and Phytochemical Screening of Ethanolic Crude Extracts of Libyan *Peganum harmala* Seeds. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 33(13): 74-82, 2021; Article no.JPRI.66424.

**Ahmad R. Shahverdia, Hamid R. Monsef-Esfahanib, Bahman Nickavarc, Lila Bitarafanb, Samira Khodaeaa, and Narges Khoshakhlaghb. 2005.** Antimicrobial Activity and Main Chemical Composition of Two Smoke Condensates from *Peganum harmala* Seeds. *Naturforsch*, 707-710.

**Akula R., Gokare A. R., 2011.** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6:11,1720-1731.

**Al-Bayati FA, Al-Mola HF (2008).** Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq J Zhejiang Univ. Sci. B 9(2):154-159

**Alyaa Majid. 2018.** A REVIEW STUDY OF THE CHEMICAL CONSTITUENTS AND THERAPEUTIC EFFECTS OF PEGANUM HARMALA L. *Global Journal of Pure and Applied Chemistry Research*. Vol.6, No.2, pp.12-19.

**Amin M, Kalantar E, Mohammad-Saeid N, Ahsan B.** Effet antibactérien et propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de *Zataria multiflora* Boiss. *Asie Pac J Trop Med* 2010; 3:439-42.

**Anne-Sophie M., 2017.** Fosfomycine et lincomycine sur *Staphylococcus aureus* et non *aureus*. Proposition de diamètres critiques. Concentrations minimales bactéricides de la lincomycine. Thèse de doctorat d'état, Université d'Aix, Marseille, p. 129.

**BASHIGE V.C., Amuri S.B., Philippe N.O., Emery M.K., Jean B.S.L. 2020.** Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 14(4): 1367-1380.

**Behidj-Benyounes, N., T. Dahmene, N. Allouche and A. Laddad. 2014.** Phytochemical, Antibacterial and Antifungal Activities of Alkaloids Extracted from *Peganum harmala* (Linn.) Seeds of South of Algeria. *Asian J. of Ournal of Chemistry*, 26(10): 2960-2964

**BENMEDDOUR T. 2010.** Etude du pouvoir allélopatique d l'Harmel (*Peganum harmala* L.), Le laurier rose (*Nerium oleander* L.) et l'ailante (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swing.) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales. Magister en biologie et physiologie végétale. Université Ferhat Abbas. Sétif

**Berrougui H, CorderoM, Khalil A,HamamouchiaM, EttiabA,Marhuenda E, Herrera M. Pharmacol Res 2006 ;54:150-7.**

**Bhekumthetho N., Johannes V. S., 2015.** Tilting Plant Metabolism for Improved Metabolite Biosynthesis and Enhanced Human Benefit. *Molecules* 20 : 12698-12731.

**Bouabedelli Fatma, Missoun Fatiha, Benhamimed El attafia, Djebli Nouredine. 2016.** Phytochemical and antimicrobial study of the seeds and leaves of *Peganum harmala* L. against urinary tract infection pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 6(10): 822-826.

**Carron R, Maran A, Montero JM, Fernandezlago, Derminguez A. 1987.** Plantes. Méd. *Phytother.* 21:195

**Cermelli C, Fabio A, Fabio G, Quaglio P.** Effet de l'huile essentielle d'eucalyptus sur les bactéries et les virus respiratoires. *Curr Microbiol* 2008; 56:89-92.

**Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W.** Effets antimicrobiens des plantes médicinales thaïlandaises contre les bactéries induisant l'acné. *J Ethnopharmacol* 2005; 101:330-3.

**Darabpour E, Motamedi H, Seyyed Nejad SM.** Propriétés antimicrobiennes de *Teucrium polium* contre certains agents pathogènes cliniques. *Asie Pac J Trop Med* 2010 ;3:124-7.

**Edeoga et al., 2005** citer par A2

**Edziri Hayet, Mastouri Maha, Matieu Mata, Zine Mighri, Gutman Laurent and Aouni Mahjoub. 2010.** Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(48), pp. 8199-8205.

**Edziri, H. Mastouri, M, Mahjoub, MA, Patrich, G. Matieu, M, Ammar, S. Ali, SM, , Laurent, G. , Zine, M. et Aouni, M. 2010.** Activités antibactériennes, antivirales et

antioxydantes des extraits de parties aériennes de *Péganum harmala* L cultivé en Tunisie. Toxicological and Environmental Chemistry, 92 : 7, 1283 — 1292

**Esmaeil Darabpour., Aniseh Poshtkouhian Bavi., Hossein Motamedi., Seyyed Mansour Seyyed Nejad. 2011.** activité antibactérienne de différentes parties de *peganum harmala*. Croître en Iran contre bactéries multi résistantes aux médicaments. Biologie 10:252-263 – ISSN 1611-2156 .

**Farnsworth NR. 1996.** Biologie et criblage phytochimique des plantes. J Pharm Sei, 55:225-276.

**Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A.J Ethnopharmacol 2008 ;** 115:449-54.

**Fasla B. 2009.** Evaluation du potentiel antimittotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimiques. Pour de l'obtention de diplôme de Magister. Université d'Oran Es-Sénia, 120 p.

**Fawzi I. Irchaid, Khalid A.Tarawneh, Jacob H. Jacob and Aicha M.Alshdefat. 2014.** Pakistan Journal of Biological Sciences 17(3): 372-379.

**Ghulam Dastagir., Farrukh Hussain., Abid Ali Khan. 2012.** Activité antibactérienne de certaines plantes sélectionnées de la famille Zygophyllacées et Euphorbiacées. Journal de recherche sur les plantes médicinales Vol. 6(40), pp. 5360-5368.

**Gomah Nenaah. 2010.** Activités antibactériennes et antifongiques des alcaloïdes (bêta)-carboline de *Péganum harmala* (L) les graines et leurs effets combinés. Zoologie. Fitoterapia 81 : 779–782.

**Harborne JB (1973).** Méthodes phytochimiques, Chapman and Hall Ltd., Londres, p. 49-188.

**Hassina G., 2018.** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala*. Thèse de doctorat en science, Université Ferhat Abbas, Sétif 1, p.155.

**Ida Apostolico, Luigi Aliberti, Lucia Caputo , Vincenzo De Feo , Florinda Fratianni , Filomena Nazzaro , Lucèia Fàtima Souza and Maroua Khadhr. 2016.** Chemical

Composition, Antibacterial and Phytotoxic Activities of *Peganum harmala* Seed Essential Oils from Five Different Localities in Northern Africa. Academic Editor: Luca Forti.

**Isabela Araujo e Amariz, Jacyara Pereira da Silva, Emanuella Chiara Valença Pereira, Nathália Andrezza Carvalho de Souza, José Marcos Teixeira de Alencar Filho, Renan Nunes Pereira, Ana Paula de Oliveira and Larissa Araújo Rolim. 2019.** Chemical study of *Peganum harmala* seeds. African journal of biotechnology. Vol. 18(21), pp. 462-471.

**Jayaprakash Chinnappan, and Veeran Mohanraj. 2021.** Antibacterial and Antifungal Activity from Seed Extracts of *Peganum harmala*. *International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology*. Vol2, Issue6.

**Jean J. M., Annie F., Chrystian J. A., 2005 :** les composés phénoliques des végétaux. P. 192.

**Jinous Asgarpanah and Fereshteh Ramezanloo. 2012.** Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 6(22), pp. 1573-1580.

**Jorgensen JH, Turnidge JD et Washington JA (1999).** Tests de sensibilité aux antibactériens : dilution et diffusion sur disque méthodes de sion. Dans : Manuel de microbiologie clinique (éd. par PR Murray, EJ Barron, MA Praller, FCTenover & RHYolken), pp. 1526-1562. Washington DC

**Kaskoos R. 2014.** Physico-chimique paramètres, criblage phytochimique et activité antioxydante des graines de *Peganum harmalarecueillis* en Irak. *Asiatique J Biomed Pharm Sci*, 4:20-24.

**Khan FA, Hussain I, Farooq S, Ahmad M, Arif M, Inayat Ur R (2011).** Criblage phytochimique de quelques plantes médicinales pakistanaïses. *Moyen-Orient J. Sci. Rés.* 8(3):575-578.

**Kowser MM & Fatema N. (2009).** Détermination de la CMI et de la MBC d'une capsule d'azithromycine sélectionnée disponible dans le commerce au Bangladesh. *La revue médicale ORION* 32, 619-620.

**Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Hasser M, Zemzami M, Arif N, Nadori EB, Zaid A, Lyoussi B. 2000.** *In vitro* cell toxicity of *Peganum harmala* alkaloids on cancerous cell lines. *Fitoterapia*, 71: 50-54.

**Mahdia A., Mounira H., 2015.** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L



(Région d'Oued Souf). Memoire de fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de master académique, Université Echahid Hamma Lakhdar, El-oued, p.106.

**Maitham M. Abdulridha<sup>1</sup>, Haider S. Abdulhussein, Firas Fadhil Alyaseen and Bassam A.Hassan. 2019.** PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE *PEGNUM HARMALA* SEEDS AND ITS ALKALOIDS. *Plant Archives* Vol. 19 No. 1, 2019 PP

**Mariam TG, Murthy PN, Ranganathan P, Hymete A, Daka K (1993).** Dépistage antimicrobien de *Rumex abyssiricus* et *Rumex nerveux*. *Est. Pharm.* 36(33):131-133.

**Mbuni, Y.M., Wang, S., Mwangi, B.N., Mbari, N.J., Musili, P.M., Walter, N.O., Hu, G., Zhou, Y., Wang, Q.2020.** Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Local Communities around Cherangani Hills, Western Kenya. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 331

**M. Courvalin, F. Goldstein, A. Philippon, JM Sirot. L'Antibiogramme. 1985;** Bruxelles (Ed.) MPC/Vigot.

**Milad Moloudizargari, Peyman Mikaili, Shahin Aghajanshakeri, Mohammad Hossein Asghari and Jalal Shayegh. 2013.** Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids, *Pharmacogn Rev* : 3-7(14); Jul-Dec.

**Milad Iranchahy., Sedigheh Fazly Bazzaz., Giti Haririzadeh., Bibi Zahra Abootorabi., Ali Mohammad Mohamadi., Zahra Khashyarmansh. 2019.** Composition chimique et propriétés antibactériennes de *Péganum harmala.*, pharmacie 530-537.

**Mokkadem, A. 1999.** Cause dégradations des plantes médicinales aromatique d'Algérie. *Revue vie et Nature* n°7, 24, 26.

**Monsef HR, Ghobadi A, Iranshahi M, Abdollahi M. J Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2004 ; 7:65-9.**

**Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, Seyyed Nejad SM.** Test *in vitro* de l'activité anti-brucella des plantes médicinales contre les résistants à la tétracycline *Br. melitensis*. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2010; 11:506-11.

**Nissar Ahmad Khan, Aamir Raina, Nasir Aziz Wagay, Younas Rasheed Tantray. 2017.** Distribution, Status, Pharmacological, and Traditional importance of *Peganum harmala* L. *International journal of advance research in science and engineering*. Vol. No.6.

- Ngoci SN, Mwendia CM, Mwaniki CG (2011).** Phytochimique et test de cytotoxicité dendigofera lupatana Boulanger FJ Anim. Usine Sci. 11(1):1364-1373.
- Njoku VO, Obi C (2007).** Constituants phytochimiques de certains plantes médicinales. J.Application pure. Chimie.3(11):228-233.
- Nour el houda. CH., Hanane. A. 2015.** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* de la région de Bordj Bou Arreridj. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, p.55.
- Owen RJ, Palombo EA.** Activité anti-listérienne des extraits éthanoliques de plantes médicinales, *Eremophila alternifolia* et *Eremophila duttonii*, dans les homogénats alimentaires et le lait. Food Cont **2007**;18:387-90.
- Ozenda, P. 1991.** Flore et végétation du Sahara 3ème édition, augmentée. Ed CNRS, Paris, 662.
- P Akbary., MS Fereidouni., M Akhlaghi. 2014.** In vitro activité antibactérienne de *Péganum harmala* (L) extrait de certaines bactéries pathogènes des poissons. Médecine vétérinaire des sciences marines 1 (1) 7-16.
- Prashanth D and John S. 1999.** Antibacterial activity of *Peganum harmala*. Fitoterapia 70, 438-439.
- Pursell, J.J. (2015).** The Herbal Apothecary: 100 Medicinal Herbs and How to Use Them (1re éd.): Timber Press
- Salama HMH, Marraiki N.** Activité antimicrobienne et analyse phytochimique de *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), poussant naturellement en Egypte. Aust J Basic Appl Sci **2009**; 3:2008-15.
- Saliha A., Zineb Manel B., 2020.** Screening phytochimique et activité antioxydante de *Peganum harmala* L. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master, Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen, p.73.
- Shih M.L., Morgan J.A., (2020).** Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. *Metabolic Engineering Communications*, 10: e00123.

**Siddiqui S, Khan OY, Siddiqui BS et Faizi S. 1987.** Harmalidine, un alcaloïde  $\beta$ - carboline de *Péganum harmala*. *Phytochimie*, 26:1548-1550.

**Sofowora, A., Cepleanu, F., Hostettmann, K. 2010.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique (ECONOMIE ET DEV) (KARTHALA éd.). France: KARTHALA.

**Sofowora A (1993).** Plantes médicinales et médecines traditionnelles en Afrique. Chichester John Wiley & Sons New York, pp 97-145. Spooner DF, Sykes GJ (1972). *Méthodes en microbiologie*. Académique Presse, Londres. P. 69

**Stubbings WJ, Bostock JM, Ingham E. & Chopra I. (2004).** Evaluation d'une méthode de microplaque pour déterminer l'effet post-antibiotique dans *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. *Journal de la chimiothérapie antimicrobienne* 54,139-143.

**Tadeusz A., 2007.** Alkaloids - Secrets of Life : Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. P. 334.

**Trease GE, Evans WC (1989).** *Pharmacognosie*. 13<sup>e</sup>éd., anglais livre de langue, société, Baillere Tindall, Oxford Univ. Presse. P. 546.

**Wahiba R., 2018.** Les antioxydants naturels : Identification et Applications. Thèse de doctorat en science, Université Ahmed Ben Bella, Oran, p.187.

**Zainab Gul Kanwall, Abdul Hafeez, Ihsan Uhaq, Tofeeq-Ur-Rehman, Syed Aun Muhammad, Irum Shazadi, Nighat Fatima, Nisar Ur Rehman. 2016.** Antioxidant, Antimicrobial and Antileishmanial Study of Different Parts of *Peganum harmala*. *International Journal of Biosciences*. Vol. 9, No. 1, p. 45-58

**Zampini IC, Vattuone MA & Isla, MI (2005).** Activité antibactérienne de *Zuccagnia punctata* Cav. Extraits éthanoliques. *Journal d'ethnopharmacologie* 102,450-456.

#### Site web :

##### Site1:

<http://www.freenatureimages.eu/Plants/Flora%20-R/Peganum%20harmala/index.html>

##### Site 2 :

<https://dspace.univ-bba.dz/bitstream/handle/123456789/93/m411.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

# **ANNEXES**



# RESUME

## الملخص

*Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) هو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في مختلف البلدان وخاصة في الجزائر. كان الغرض من هذه الدراسة إجراء تحليل للمقالات المحيطة بالدراسة الكيميائية النباتية والنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات مختلفة من *P.harmala* ضد بعض البكتيريا المسببة للأمراض البشرية ومسببات الأمراض الأخرى للأسماك. وأدت الدراسة الكيميائية لمستخلص الفاكهة والأزهار الناضجة إلى تحديد ثلاثة قلويدات ؛ هارمين وبيجانين (فازيسين) وهارمالين. كشف الفحص الكيميائي النباتي لمستخلص *P.harmala* عن methanol قلويدات قوية تليها الفلافونويد والصابونين والجليكوسيدات والترينويد والأحماض الفينولية. زادت فعالية النشاط المضاد للبكتيريا للقلويدات عند تطبيقه كمخاليط ثنائية تشير إلى تفاعل تآزري، مع مناطق تثبيط تصل إلى 31.5 ملم مع إجمالي مستخلص القلويد. أظهر مستخلص الميثانول ومستخلص n-hexanoic ومستخلصات جذر ونبؤ *P. harmala*. القدرة على تثبيط نمو البكتيريا المختلفة.

**الكلمات الرئيسية** *Peganum harmala* L., النشاط المضاد للميكروبات، القلويدات، الكائنات الحية الدقيقة، السلالة البكتيري

## Résumé

*Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans divers pays et en particulier en Algérie. La présente étude visait à réaliser un analyse d'articles qui alentour sur l'étude phytochimique et l'activité antimicrobiennes de différents extraits de *P.harmala* contre certaines bactéries pathogènes pour l'homme et autre pathogènes des poissons. L'étude chimique de l'extrait de fruits mûrs et de fleurs conduit à l'identification de trois alcaloïdes ; étaient l'harmine, la péganine (vasicine) et l'harmaline. Le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de *P.harmala* a révélé la présence forte d'alcaloïdes suivie de flavonoïdes, des saponines, des glycosides, des terpénoïdes et des acides phénoliques. La potentialité de l'activité antibactérienne des alcaloïdes a été augmentée lorsqu'ils sont appliqués sous forme de mélanges binaires suggérant une interaction synergique, avec des zones d'inhibition atteignant 31,5 mm avec l'extrait d'alcaloïdes totaux. L'extrait méthanolique, n-hexanoïque et les extraits de racines et de graines de *P. harmala* ont montré la capacité d'inhiber la croissance de différentes bactéries.

**Mots clés** : *Peganum harmala* L., activité antimicrobiennes, alcaloïdes, microorganisme, souche bactérienne.

## Abstract

*Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) is a plant widely used in traditional medicine in various countries and in particular in Algeria. The aim of the present study was to carry out an analysis of articles on the phytochemical study and the antimicrobial activity of different extracts of *P.harmala* against certain bacteria pathogenic to humans and other pathogens of fish. The chemical study of the extract of ripe fruits and flowers led to the identification of three alkaloids; were harmine, peganine (vasicin) and harmaline. Phytochemical screening of the methanolic extract of *P.harmala* revealed the strong presence of alkaloids followed by flavonoids, saponins, glycosides, terpenoids and phenolic acids. The potentiality of the antibacterial activity of the alkaloids was increased when they were applied in the form of binary mixtures suggesting a synergistic interaction, with inhibition zones reaching 31.5 mm with the total alkaloid extract. The methanolic, n-hexanoic extract and the root and seed extracts of *P. harmala* have shown the ability to inhibit the growth of different bacteria.

**Key: words** *Peganum harmala* L., antimicrobial activity, alkaloids, microorganism, bacterial strain.