

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

**Etude comparative de l'effet biologique des extraits
bruts des fruits et des feuilles de *Peganum harmala*
*L.(zygophyllaceae).***

Par :

BEN SAHA Wahiba .

LASGAA Fatima Zohra .

MOULAY OMAR Yasmine .

Jury :

M^{me}.HAMIDOUDJANA Aicha Maître Assistant B

Univ. Ghardaïa **Encadreur**

M^f.BELGHIT Saïd Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Examineur**

Année universitaire : 2013/2014

DÉDICACE

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

Tout d'abord je tiens à remercier le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour arriver à ce stade afin de réaliser ce travail que je dédie :

*A mes très chers parents : a celle qui m'a noyée avec ses sentiments et le cœur qui m'a réchauffe avec son amour a la personne la plus chère au monde : à ma mère : **MENSOURA** et aussi mon chère père : **BELKHEIR** que dieu protège et qu'Allah vous garde longtemps parmi nous.*

*A mes chers frères : **MOHAMMED, MOURAD, ABDELMADJID***

*Surtout ma chers frère **KHALED** pour son soutien aux moments difficiles de mon travail par sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude.*

*A ma précieuse sœur : **SOUHILA**, je souhaite son près retour et le bonheur dans sa vie.*

*A toute la famille: **BENSAHA**.*

*A toute mes amis partout et en particuliers et surtout les étudiants de promotion 3^{ème} biochimie et merci beaucoup à tout les enseignants de l'Université de Ghardaïa, surtout **M^{ME} .HAMID OUJANA AICHA**.*

*A tous mes amis : **MORDIA, MEHDIA, HALIMA, HADJER, REBHA** et surtout **FATIMA** et **YASMINE**.*

*A ma chère amie : **GHERIDA NASSIMA**.*

ET a tout qui ma aider pour obtenir ce diplôme, et a tout ceux qui j'aime.

Wahiba

Dédicace

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

Tout d'abord je tiens à remercier le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour arriver à ce stade afin de réaliser ce travail que je dédie :

*A mes très chers parents : à celle qui m'a noyée avec ses sentiments et le cœur qui m'a réchauffe avec son amour à la personne la plus chère au monde : à ma mère : **FATMA** et aussi mon chère père : **CHIEKH** que dieu protège et qu'Allah vous garde longtemps parmi nous.*

*A mes chers frères : **MOHAME LAMINE** et **ABD ELLHADI**.*

*A mes précieuses sœurs : **MARWA** et **SAFAA** je souhaite son près retour et le bonheur dans sa vie.*

*A toute la famille: **LASGAA** et **KOUAL**.*

*ET sans doute, à mon fiancé **YAZID**, pour son soutien aux moments difficiles de mon travail par sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude.*

*A tous mes amis : **HALIMA, SOMIA, SOUAD, MERIEM, KHALIDA, HAKIMA, FOUZIA , MARWA ET A TOUS MES COUSINS ET COUSINES** et à tous mes tantes et mes oncles .*

A toute mes amis partout et en particuliers et surtout étudiantes de promotion 3^{ème} biochimie.

*A mes chères amis : **YASMINE ET WAHIBA**.*

FATIMA ZOHRA HANOONA

DÉDICACE

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

Tout d'abord je tiens à remercier le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour arriver à ce stade afin de réaliser ce travail que je dédie :

*A mes très chers parents : a celle qui m'a noyée avec ses sentiments et le cœur qui m'a réchauffe avec son amour a la personne la plus chère au monde : à ma mère : **NAIMA** et aussi mon chère père : **ABD ERRAZAK** que dieu protège et qu'Allah vous garde longtemps parmi nous.*

*A mes chers frères : **MOHAMED AMINE ET SAIF EDDINE.***

*A ma précieuse sœur : **FATIMA ZOÛRA**, je souhaite son près retour et le bonheur dans sa vie.*

*A toute la famille: **MOULAY OMAR ET BELHADJ AISSA.***

*A toute mes amis partout et en particuliers et surtout les étudiants de promotion 3^{ème} biochimie et merci beaucoup à tout les enseignants de l'Université de Ghardaia, surtout **M^{me}.HAMID OUJANA Aïcha.***

*A tous mes amis : **MORDIA, MEHDIA, HALIMA** et surtout **FATIMA** et **WAHIBA.***

*A ma chère amie : **FILI DHIBA.***

ET a tout qui ma aider pour obtenir ce diplôme, et a tout ceux qui j'aime et qui m'aiment.

YASMINE

Remerciements

*Nous remercions *DIEU *avoir offerts les capacités d'apprendre les sciences qui sont effectivement la lumière de la vie des hommes dans son ensemble.*

Nos professeurs ont appris ces sciences et nous l'ont appris à leur tour et particulièrement la science de la biochimie sujet des thèmes que nous avons l'honneur de présenter à nos encadreurs M^{me} HAMID OUDJANA Aïcha.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice M^{me} HAMID OUDJANA Aïcha, L'enseignante à l'Université du GHARDAÏA pour avoir accepté la charge d'être rapporteuse de ce mémoire .Nous les remercier pour sa disponibilité, ses nombreux et pertinents conseils, son aide précieuse, ses orientations, sa compréhension et pour les efforts qu'elle avait consentis durant la rédaction de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à tous nos enseignants des différents niveaux d'étude qui nous ont formés, surtout M^r BENSAMOUNE .Y ET M^r BELGHIT.S

Nos remerciements aussi pour les membres et les techniciens du laboratoire du l'Université du Ghardaïa.

Nos remerciements à tout et particulièrement aux étudiants et étudiantes de notre promotion 3^{ème} biochimie.

De même nous ne devons pas oublier nos parents pour leurs sens de responsabilité dans notre éducation et leur sagesse, soutiens moral et matériel de depuis la scolarisation jusqu'aux les études supérieurs.

A toutes celles et à tous ceux qui ont participé de pré ou loin à l'élaboration de ce travail.

Fatima, Yasmine, Wahiba

Résumé :

Afin de la contribution à la valorisation des plantes médicinales réputées pour leurs vertus thérapeutiques ; le but de notre étude est de déterminer l'effet antimicrobienne des extraits aqueux des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L. sur quatre souches bactériennes : *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aerogenosa*, et deux champignons : *Penicillium glabrum*, *Aspergillus ochreus*, et une espèce de levure : *Candida albicans*. Le rendement d'extraction des feuilles est de 17.41% et le rendement des fruits est de 8.54%. Les résultats obtenus montrent un maximum d'inhibition chez *Aspergillus ochraceus*, un minimum d'inhibition chez *Klebsiella pneumoniae*, et une inhibition moyenne pour les autres souches microbiennes.

Mots clés : Plantes médicinales, l'effet antimicrobien, *Peganum harmala* L., inhibition.

المخلص :

من اجل المساهمة في تقييم النباتات الطبية, المعروفة بفعاليتها العلاجية , قمنا بهذه الدراسة التي تهدف الى تحديد التأثير المضاد للمكروبات لمستخلصات اوراق وثمار نبات الحرمل على اربع سلالات بكتيرية : (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*,) , (*Pseudomonas aerogenosa*, *E. coli*) ونوعين من الفطريات : (*Penicillium glabrum*, *Aspergillus ochraceus*,) بالإضافة الى نوع من الخميرة (*Candida albicans*). مردود الاستخلاص بالنسبة للأوراق حدد ب 17.41 % , اما بالنسبة للثمار فقد حدد ب 8.54 % . النتائج المحصل عليها كشفت مقاومة جيدة بالنسبة ل (*Aspergillus ochraceus*) , مقاومة متوسطة بالنسبة الى (*Klebsiella pneumoniae*) ومقاومة ضعيفة بالنسبة الى الانواع الأخرى .

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية , التأثير المضاد للمكروبات , *Peganum harmala* L. , مقاومة .

Summary :

To the contribution to the valuation of medicinale plants considered as therapeutic ; the purpose of our studies is to determine the effect antimicrobial of the quereous extracts of cheets and fruits of *Peganum harmala* L. ou four bacterial strains : (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aerogenosa*), two mushnours: (*Penicillium glabrum*, *Aspergillus ochreus*) and a sort of yeast (*Candida albicans*). The yield of extraction sheets is 17.41% and the yield of extraction on fruits is 8.54%. The obtained results show a maximum of inhibition at (*Aspergillus ochraceus*), a minimum of inhibition at (*Klebsiella pneumoniae*) and an average inhibition for other strains.

Key words : Medicinal plants, effect antimicrobial, *Peganum harmala* L., inhibition.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page
01	Principaux produits du métabolisme secondaires.	05
02	Principales classes de composés phénoliques.	11
03	Principales classes de composés phénoliques.	12
04	Composition chimique des graines de <i>Peganum harmala</i> L.	38
05	Présentation des caractères principaux de <i>Staphylococcus aureus</i> .	50
06	Rendements moyennes des extraits aqueux des feuilles et des fruits.	63
07	Activité antimicrobiennes des feuilles et des fruits de <i>Peganum harmala</i> L.	65

LISTES DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	Les poly phénols.	08
02	Structure brute de catéchine.	10
03	Acides hydroxybenzoïques.	13
04	Acides hydroxycinnamiques « phénylpropanoïdes ».	14
05	Structure de base du flavonoïde.	15
06	Les flavonoïdes de structure C6 – C3 – C6.	15
07	Structure des chalcones.	15
08	Structure des flavonones.	16
09	Structure des flavones.	16
10	Structure des flavonols.	16
11	Structure des isoflavones.	17
12	Structure des anthocyanidines.	17
13	Les grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques.	18
14	Réaction de réduction d'un radical libre par un poly phénol.	21
15	. Structures chimiques d'un stilbène.	22
16	Structure chimique d'un lignane.	24
17	Structure chimique d'une lignine.	25
18	Exemple de structure de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrées dans les huiles essentielles.	27
19	Exemples de structure de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles.	28
20	Exemple de structure de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles.	29
21	Principaux produits de glucoserie.	30
22	La juglone.	32
23	La cellule procaryote (bactérie).	32
24	La cellule eucaryote (champignon).	33
25	Le resvératrol (vigne).	33
26	Arbuste <i>Peganum harmala</i> L.	34
27	Différents parties de l'espèce <i>Peganum harmala</i> L.	34
28	Structure chimique des alcaloïdes de type b-carbolin.	35
29	Synthèse des β -carboline de <i>Peganum harmala</i> L. et de la sérotonine à partir du Tryptophane.	36
30	Structure générale des quinazolines de <i>Peganum harmala</i> L.	36

31	Le piégeage des ERO par les indoles.	37
32	La Carte de l'oasis de Sebseb.	42
33	Rendement d'extraction des feuilles et des fruits de <i>Peganum harmala</i> L.	63
34	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions (mm).	66
35	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>E.coli</i> .	67
36	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	68
37	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	69
38	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	70
39	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Penicillium glabrum</i> .	71
40	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Candidat albicans</i> .	72
41	Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>peganum harmala</i> L. sur <i>Aspergillus ochraseus</i> .	73

LISTE DES PHOTOS

Photos	Titre	Page
01	<i>Peganum harmala</i> L.	41
02	bactérie d' <i>E .coli</i> .	43
03	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	46
04	<i>Staphylococcus aureus</i> .	48
05	<i>Klebsiella pneumonie</i> .	51
06	<i>Candida albicans</i> .	53
07	Tête conidienne d' <i>A. ochraceus</i> .	56
08	<i>Penicillium glabrum</i> .	57
09	Montage d'extraction à reflux.	58
10	Montage d'évaporation rotative.	58
11	Etapes de préparation de milieu de culture.	59
12	Etapes de préparation de l'inoculum.	60
13	Etapes d'ensemencement.	61
14	Etapes de préparation et de dépôt des disques.	61
15	Aromatogramme <i>E. coli</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	66
16	Aromatogramme <i>E. coli</i> (l'extrait aqueux des fruits).	66
17	Arotogramme <i>Staphylococcus aureus</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	67
18	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	67
19	Aromatogramme <i>Klebsiella pneumonie</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	68
20	Aromatogramme <i>Klebsiella pneumonie</i> (l'extrait aqueux des fruits).	68
21	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	69
22	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (l'extrait aqueux des fruits).	69
23	Aromatogramme <i>Penicillium glabrum</i> (L'extrait aqueux des feuilles).	70
24	Aromatogramme <i>Penicillium glabrum</i> (l'extrait aqueux des fruits).	70
25	Aromatogramme <i>Candida albicans</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	71
26	Aromatogramme <i>Candida albicans</i> (l'extrait aqueux des fruits).	71
27	Aromatogramme <i>Aspergillus ochraseus</i> (l'extrait aqueux des feuilles).	72
28	Aromatogramme <i>Aspergillus ochraseus</i> (l'extrait aqueux des fruits).	72

LISTE DES ABREVIATIONS

AChE : L'acétylcholinestérase.

ATB : Antibiotiques.

ATCC : American type cultur collection.

CAT : Catalase.

CHS : La chalcone synthase.

CIP : Collection de l'Institut Pasteur.

COAG : Coagulase.

DNASE : Désoxyribonucléase.

IST : Les infections sexuellement transmissibles.

LBSM : Laboratoire de biologie des systèmes microbiologiques.

LPV : Leucocidine de panton Valentine.

MAN : Mannose.

MAO-A : Monoamines Oxydases de type A.

ND : Non déterminer.

NI : Non identifie.

ONPG: Ortho-nitro-Phényl-galactopyranoside.

OTA : O chratoxine A.

OX : Oxydase.

PAL : La phosphatase alcaline.

PYRA : Pyrrolldonyl arylamidases

RMN : La résonance magnétique nucléaire.

SARM : *Stapylococcus aureus* résistances à la méticilline.

SNC : Système nerveux central.

SNP : Système nerveux périphérique.

THH : Tetrahydroxyharmine.

VP : réaction de Voges-Prokauer.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction	01
---------------------------	----

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.	Généralités sur l'effet biologiques des métabolites secondaires.....	03
I.1.1.	Les métabolites secondaires.....	03
I.1.1.1.	Définition.....	03
I.1.1.2.	Les différentes classes des métabolites secondaires.....	05
I.1.1.2.1.	Les saponines.....	05
I.1.1.2.2.	Les alcaloïde.....	06
I.1.1.2.2.1.	Définition.....	06
I.1.1.2.2.2.	Les alcaloïdes pyrrolizidiniques.....	06
I.1.1.2.2.3.	Les alcaloïdes tropaniques.....	07
I.1.1.2.2.4.	Les alcaloïdes quinoléiques.....	07
I.1.1.2.2.5.	Rôle des alcaloïdes.....	07
I.1.1.2.3.	Les composés phénoliques.....	08
I.1.1.2.3.1.	Localisation.....	09
I.1.1.2.3.2.	Structure.....	09
I.1.1.2.3.3.	Biosynthèse des composés phénoliques.....	10
I.1.1.2.3.3.1.	Voie de l'acide shikimique.....	10
I.1.1.2.3.3.2.	Voie d'acétate malonate.....	10
I.1.1.2.3.4.	Classification.....	10
I.1.1.2.3.5.	Principales classes de composés phénoliques.....	11
I.1.1.2.3.5.1.	Les acides phénoliques.....	13
I.1.1.2.3.5.1.1.	Acides hydroxybenzoïques.....	13
I.1.1.2.3.5.1.2.	Acides hydroxycinnamiques.....	13
I.1.1.2.3.5.2.	Flavonoïdes.....	14
I.1.1.2.3.5.2.1.	Structure.....	15
I.1.1.2.3.5.2.2.	Les différentes classes de flavonoïdes.....	15
I.1.1.2.3.5.2.2.1.	Les flavonoïdes de structure C6 – C3 – C6.....	15
I.1.1.2.3.5.2.2.2.	Les chalcones et aurones.....	15
I.1.1.2.3.5.2.2.3.	Les flavanones.....	16
I.1.1.2.3.5.2.2.4.	Les flavones.....	16
I.1.1.2.3.5.2.2.5.	Les flavonols.....	16
I.1.1.2.3.5.2.2.6.	Les isoflavones.....	17
I.1.1.2.3.5.2.2.7.	Les anthocyanes.....	17
I.1.1.2.3.5.2.3.	Biosynthèse, accumulation et classification.....	17
I.1.1.2.3.6.	Rôles, intérêts et propriétés des poly phénols.....	18
I.1.1.2.3.7.	L'activité antioxydante des polyphénols.....	20
I.1.1.2.4.	Les tanins.....	21
I.1.1.2.4.1.	Les tanins hydrolysables.....	22
I.1.1.2.4.2.	Les tanins condensés.....	22
I.1.1.2.5.	Les Stilbènes.....	22
I.1.1.2.6.	Les coumarines.....	23
I.1.1.2.6.1.	Définition.....	23
I.1.1.2.6.2.	Propriétés physico-chimique des coumarines.....	23
I.1.1.2.7.	Les lignanes et les lignines.....	23
I.1.1.2.7.1.	Les lignanes.....	23
I.1.1.2.7.2.	La lignine.....	24

I.1.1.2.8.	Les huiles essentielles.....	25
I.1.1.2.8.1.	Définition	25
I.1.1.2.8.2.	Caractéristiques physico-chimiques.....	25
I.1.1.2.8.2.1.	Propriétés physiques.....	25
I.1.1.2.8.2.2.	Composition chimique	26
I.1.1.2.8.2.2.1.	Terpénoides	26
I.1.1.2.8.2.2.1.1.	Les monoterpènes	26
I.1.1.2.8.2.2.1.1.1.	Propriétés physiques et isomérie.....	27
I.1.1.2.8.2.2.1.1.2.	Les propriétés chimiques	28
I.1.1.2.8.2.2.1.2.	Les sesquiterpènes.....	28
I.1.1.2.8.2.2.2.	Les composés aromatiques.....	29
I.1.1.2.8.3.	Biosynthèse des huiles essentielles.....	29
I.1.1.3.	Rôle biologique des métabolites secondaires.....	30
I.1.1.3.1.	Accumulation et évolution dans la plante.....	30
I.1.1.3.2.	Interaction entre plantes et vertébrés.....	31
I.1.1.3.3.	Interaction entre plantes et insectes.....	31
I.1.1.3.4.	Interactions entre Plante	31
I.1.1.3.5.	Interaction entre plantes et microorganismes.....	32
I.2.	<i>Peganum harmala</i> L.....	34
I.2.1.	Présentation et description de la plante.....	34
I.2.2.	Distribution géographique (habitat).....	35
I.2.3.	Composition Chimique.....	35
I.2.4.	Les métabolites secondaires de <i>Peganum harmala</i> L.....	36
I.2.4.1.	Activités biologiques des alcaloïdes.....	37
I.2.4.2.	Etude phytochimique	38
I.2.5.	Utilisation de la plante.....	38
I.2.5.1.	Usage traditionnelle	38
I.2.5.2.	Utilisation thérapeutique	39
I.2.6.	Toxicité.....	39

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1.	Principe adopté.....	41
II.2.	Choix de la matière végétale.....	41
II.2.1.	Présentation de la région d'étude.....	41
II.2.2.	Classification botanique	42
II.3.	Choix de la matière microbienne.....	43
II.3.1	Les bactéries.....	43
II.3.1.1.	<i>Escherichia coli</i>	43
II.3.1.1.1.	Définition.....	43
II.3.1.1.2.	Habitat	43
II.3.1.1.3.	Position systématiques.....	44
II.3.1.1.4.	Pouvoir pathogène chez l'homme.....	44
II.3.1.1.5.	Caractères principaux.....	44
II.3.1.1.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	45
II.3.1.2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
II.3.1.2.1.	Définition.....	45
II.3.1.2.2.	Habitat	46
II.3.1.2.3.	position systématique	46
II.3.1.2.4.	Pouvoir Pathogène chez l'homme.....	47
II.3.1.2.5.	Caractéristique principaux.....	47
II.3.1.2.6.	Sensibilité aux antibiotiques	48

II .3.1.3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	48
II.3.1.3.1.	Définition.....	48
II .3.1.3.2.	Habitat	48
II .3.1.3.3.	Position systématique	49
II .3.1.3.4.	Pouvoir pathogène.....	49
II.3.1.3.5.	Caractères principaux.....	50
II .3.1.3.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	50
II .3.1.4.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
II .3.1.4.1.	Définition.....	50
II .3.1.4.2.	Habitat.....	51
II .3.1.4.3.	Position systématique	51
II .3.1.4.4.	Pouvoir pathogène	52
II .3.1.4.5.	Caractères principaux	52
II .3.1.4.6.	Sensibilité aux antibiotiques	52
II .3.2.	La levure.....	53
II.3.2.1	<i>Candida albicans</i>	53
II .3.2.1.1.	Définition	53
II.3.2.1.2.	Habitat	53
II.3.2.1.3.	Position systématique.....	54
II .3.2.1.4.	Pouvoir pathogène	54
II .3.1.1.5.	Caractéristiques principaux	54
II .3.1.1.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	54
II .3.3.	Les champignons.....	55
II.3.3.1.	<i>Aspergillus ochraceus</i>	55
II.3.3.1.1.	Définition	55
II.3.3.1.2.	Habitat	55
II.3.3.1.3.	Position systématique.....	55
II.3.3.1.4.	Pouvoir pathogène	56
II .3.3.1.5.	Caractères principaux	56
II .3.3.2.	<i>Penicillium glabrum</i>	56
II .3.3.2.1.	Définition	56
II .3.3.2.2.	Position systématique	57
II.4.	Préparation des extraits végétaux	57
II.4.1.	Extraction à reflux	57
II.4.2.	Tests biologiques	58
II.4.2.1.	Etude qualitative de l'effet antimicrobien de l'extrait brut par la méthode de diffusion sur milieu solide	58
II.4.2.1.1.	Principe	59
II.5.	Suivie de l'activité des extraits.....	59
II.5.1.	Préparation de milieu.....	59
II.5.2.	Préparation de l'inoculum	60
II .5.3.	Ensemencement	60
II.5.4.	Dépôt des disques	61
II.5.5.	Analyse d'antibiogramme (Lecture).....	62
Chapitre III : Résultats et Discussions		
III.1.	Rendement d'extraction.....	63
III.2.	Activité antimicrobienne des extraits bruts des feuilles et des fruits	63

	de <i>Peganum harmala</i> L.....	
III.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	66
III.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	67
III.2.3.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	68
III.2.4.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	69
III.2.5.	<i>Penicillium glabrum</i>	70
III.2.6.	<i>Candida albicans</i>	71
III.2.7.	<i>Aspergillus ochraseus</i>	72
Conclusion		75

Références bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

INTRODUCTION :

Les micro-organismes peuvent dans certains cas être la cause de maladies. Dans le cas des infections sexuellement transmissibles (IST) : les bactéries sont responsables des condylomes génitaux, de la chlamydie, de la syphilis et de la blennorragie. Les champignons microscopiques (levures) provoquent des mycoses génitales et des infections à mycoplasmes. Les protozoaires déclenchent des trichomonases. Les virus transmettent l'herpès génital et l'hépatite B. Dans certains cas, les personnes sont infectées par un micro-organisme pathogène mais ne présentent pas de signe clinique de cette infection bien qu'elles puissent la transmettre : ce sont des porteurs sains ou porteurs asymptomatiques (BRELIERE et *al.*, 2009).

L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. Aujourd'hui, et lorsqu'on commence à prendre conscience de nos corps, on rejette certains médicaments modernes à cause de leurs effets secondaires puissants, et on les remplace par la médecine traditionnelle, qui est répandue partout dans le monde, non seulement chez les populations en développement, mais aussi des pays très développés. Les plantes médicinales forment une source riche d'une variété de composés biologiquement actifs. Ces composés possèdent des activités biologiques diverses, notamment ceux de l'activité antioxydante envers les radicaux libres. Ceci, vient du fait que le stress oxydant est impliqué dans un grand nombre de maladies humaines et que l'idée derrière l'utilisation de plusieurs recettes traditionnelles est non seulement le traitement des maladies, mais encore leur prévention face au vieillissement (REZZAGUI, 2012).

La lutte biologique est une discipline scientifique basée sur les connaissances de la biologie de chacun des organismes impliqués mais aussi sur la prise en compte des relations complexes qui s'instaurent entre ces organismes. Pour mettre en place des programmes de lutte biologique, il est donc nécessaire de comprendre et évaluer les interactions entre organismes vivants ainsi que les interactions environnementales. Il faut aussi améliorer la connaissance de la biodiversité et des spécificités d'hôte et apprendre à gérer les diverses populations en présence (LYDIE, 2012).

C'est dans ce contexte, que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est de rechercher une éventuelle activité biologiques à partir des différents extraits des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L., et d'évaluer l'effet toxique provoqué par l'extrait brut de cette plante .

Ce travail comprend trois grands chapitres, le premier est consacré à une étude bibliographique sur les plantes et l'effet biologique des métabolites secondaires, le deuxième chapitre regroupe le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction des principes actifs et des testes biologiques. Enfin, le troisième chapitre est consacré aux présentations et interprétations des résultats obtenus qui sont clôturées par une conclusion générale.

CHAPITRE I

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.- Généralités sur l'effet biologiques des métabolites secondaires :

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense, rôle de résistance.

Les métabolismes secondaires sont classés en trois grandes classes :

- Les composés aromatiques ou poly phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins), et les quinones.
- Les terpenoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes.

Ces molécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique des plantes supérieures. C'est cette richesse en molécules très diversifiées qui permet les tentatives d'une classification chimique des végétaux ou chimio –taxonomie. Cette classification consiste à établir des corrélations entre la présence de certains types de métabolites secondaires et les entités taxonomiques (MERGHAM, 2009).

I.1.1.- Les métabolites secondaires :

I.1.1.1.- Définition :

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du

métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques.

Les métabolites secondaires prénylés, du point de vue pharmacologique sont généralement plus efficaces que leurs analogues. La prénylation, fixation d'une chaîne latérale (pentenyle, geranyle et farnesyle) à une molécule acceptante occupe une place importante dans la biosynthèse d'un spectre des métabolites secondaires aromatiques à propriétés pharmacologiques reconnues à travers les différentes classes de ces composés. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

L'usage et le développement des techniques spectrales : la résonance magnétique nucléaire (RMN) à une ou à plusieurs dimensions, la spectroscopie de masse (SM), la spectroscopie UV-Visible et la chromatographie liquide haute performance (HPLC) permettent de préciser et de quantifier un plus grand nombre de structures des métabolites secondaires.

Dans ce chapitre, nous présenterons à travers des exemples de molécules parmi lesquelles figurent les prénylées, l'aspect structural et biosynthétique des saponines, des alcaloïdes et des composés phénoliques qui constituent les catégories les plus importantes des métabolites secondaires (DONATIEN, 2009).

Tableau 01 : Principaux produits du métabolisme secondaire (MERGHAM, 2009).

Classe	Nombre de structure	Distribution
Composés azotés		
Alcaloïdes	5500	Angiospermes, feuille, fruit, racine
Amines	100	Angiospermes, fleurs
Aminoacides non protéines	400	Graines
Glucosides cyanogéniques	30	Fruits et feuilles
Glucosinolates	75	Crucifères
Terpenoïdes		
Monoterpènes	1000	Huiles essentielles
Sesquiterpènes	600	Composéé, angiospermes,
Diterpènes	1000	Latex, résines
Saponines	500	Feuille, fleur, fruit.
Caroténoïdes	500	Apoginacées.
Composés phénoliques		
Phénols simples	200	Feuilles et tissus
Flavonoïdes	1000	Angiosperme
Proanthocyanidines		Gymnospermes
Quinones	500	Rhamnacées

I.1.1.2.- Les différentes classes des métabolites secondaires :

I.1.1.2.1.- Les saponines :

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de tri terpène, ainsi on distingue

fondamentalement, les saponines stéroïdiques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux, biosynthétiquement de l'oxydosqualène. Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides, anti-inflammatoires et antalgiques. Les balanines (B1, B2) isolées des écorces de tronc de *Balanites aegyptiaca* L. Delile (Zygophyllaceae) sont des exemples de saponines stéroïdiques à propriétés anti-inflammatoires et antalgiques (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.2.- Les alcaloïde :

I.1.1.2.2.1.- Définition :

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème}. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose. Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures. Ci-dessous se trouvent représentées les molécules d'alcaloïdes les plus courantes (DONATIEN, 2009). Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale dont le rôle dans le métabolisme est mal compris, ou d'origine animale où ils peuvent agir comme des neurotransmetteurs dans le système nerveux central (SNC) ou périphérique (SNP) comme la sérotonine et la dopamine (REZZAGUI, 2012).

I.1.1.2.2.2.- Les alcaloïdes pyrrolizidiniques :

Les alcaloïdes pyrrolizidiniques représentent un excellent système pour étudier non seulement l'aspect photochimique et biochimique des métabolites secondaires des plantes mais également leur évolution moléculaire. Plus de 400 structures d'alcaloïdes pyrrolizidiniques sont connues. On estime que le nombre d'espèces contenant ces alcaloïdes est supérieur à 6000 ou 3% des plantes à fleur dans le monde entier. Les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont caractéristiques des Asteraceae, des Boraginaceae, des Leguminaceae et des Orchidaceae; 95% des espèces qui contiennent ces alcaloïdes appartiennent à une de ces quatre familles. Ces alcaloïdes sont des toxines qui manifestent des propriétés hépatotoxique, pneumotoxique, mutagène, cancérigène et embryotoxique. Dans certains cas, leur hémisynthèse a permis d'améliorer quelques propriétés

telles que : virostatique, anti leucémique, anesthésique, hypotensive, antispasmodique, neuromusculaire et d'assurer le blocage ganglionique (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.2.3.- Les alcaloïdes tropaniques :

Plus de 200 structures d'alcaloïdes tropaniques isolés de différentes familles de plantes seraient connus. L'ornithine et l'arginine sont les précurseurs du noyau tropanique. Ceux-ci, par décarboxylation, conduisent à la putrescine qui par putrescine méthyltransférase (PMT) aboutit à la formation de la N-méthylputrescine. L'étape suivante est une désamination oxydative transformant la N-méthylputrescine en N méthylaminobutanal qui, spontanément se cyclise pour donner le sel de N-méthylpyrrolillium. A ce stade, l'acétate apporte les carbones supplémentaires nécessaires à l'élaboration du cycle pipéridinique du tropane (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.2.4.- Les alcaloïdes quinoléiques :

La condensation de la tryptamine avec la secologanine forme la strictosidine, intermédiaire central dans la formation de plusieurs alcaloïdes avec comme enzyme clé la strictosidine synthase. La strictosidine par déshydrogénase conduit à la didéhydrostrictosidine dont la biotransformation en plusieurs étapes aboutit à la formation de la camptothecine, qui est un alcaloïde quinoléique. Des alcaloïdes quinoléiques se trouvent dans les écorces de *Cinchona*. Les alcaloïdes furoquinoléiques constituent un sous groupe des alcaloïdes quinoléiques ; ils sont caractéristiques des rutaceae (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.2.5.- Rôle des alcaloïdes :

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme :

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothecine.
- Antalgiques : morphine, codéine.
- Spasmodolytiques : tubocurarine et papaverine.
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine.
- Emétiques : émétine.
- Antitussifs : codéine.
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline.
- Antipaludiques : quinine.

– Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine. (DONATIEN, 2009). Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés en médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine), anesthésiques (atropine), ou comme agents anticancéreux (taxol, vinblastine) (REZZAGUI, 2012).

I.1.1.2.3.- Les composés phénoliques :

Les poly phénols sont des molécules synthétisées par les végétaux et appartenant à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales. Nommés phytomicronutriments, ils sont regroupés en une classe constituée d'environ 8000 composés. Ces composés sont divisés en plusieurs catégories dont celle des flavonoïdes. 4000 flavonoïdes sont recensés dans le règne végétal. Les flavonoïdes sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation. Les poly phénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Figure01) (www.agrobio-rennes.com).

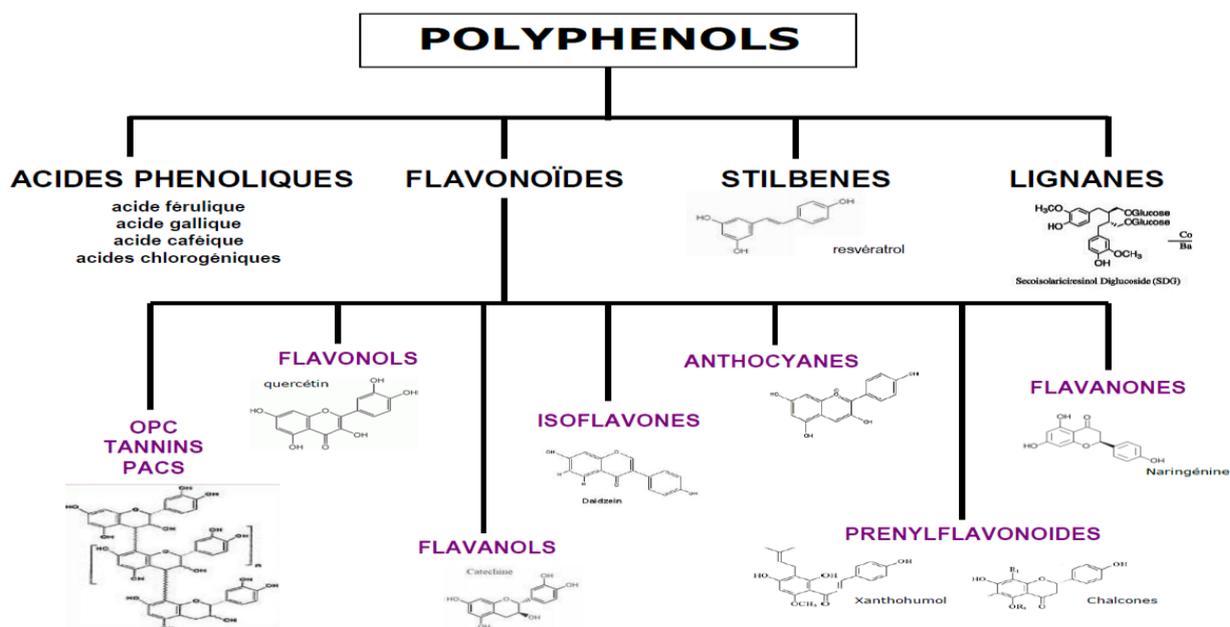


Figure 01 : Poly phénols (www.agrobio-rennes.com).

Les polyphénols constituent un des groupes les plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (OH alcoolique, carboxyle,...). Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances : les noyaux simples en C6-C1 et C6-C3, les noyaux dérivant de l'extension du phényl propane, en C6-C3-C6 (MIDOUN, 2010).

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono- di- et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (MIDOUN, 2010). Pour le chimiste, un composé phénolique est caractérisé par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Et pour le phytochimiste, un composé phénolique est un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide chikimique et/ou de celui d'un poly acétate (BELGUIDOM, 2012).

I.1.1.2.3.1.- Localisation :

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) .Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisinetc. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (BELGUIDOUM, 2012).

I.1.1.2.3.2.- Structure :

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques L'élément fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique (aromatique), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, ou hétéroside. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides

phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (MIDOUN, 2010).

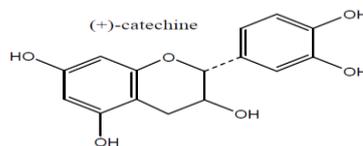


Figure 02: Structure brute de catéchine (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.3.3.- Biosynthèse des composés phénoliques :

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues.

I.1.1.2.3.3.1.- Voie de l'acide shikimique :

Elle conduit à la formation du précurseur immédiat des phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques.

I.1.1.2.3.3.2.- Voie d'acétate malonate:

Elle conduit par condensations répétées à des systèmes aromatiques ex : les chromons, les isocoumarines, et les quinones. La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration des composés mixtes comme les flavonoïdes, les stilbènes et les xanthones (BELGUIDOUM, 2012) (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.3.4.- Classification :

Ils constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthones et de nouveaux composés sont identifiés continuellement Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Alors les composés phénoliques sont une classe qui constitue 8000 composés.

Ils sont divisés en plusieurs catégories: les acides phénoliques; les flavonoïdes; les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes; les lignanes avec les isoflavones sont nommés phyto-oestrogènes (BELLEBCIR, 2008).

Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Parmi les composés phénoliques, dont 8000 sont connus : les flavonoïdes, les quinones phénoliques, ligands, les xanthones, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable (MIDOUN, 2010). Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille; ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyl. Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols (DONTIEN, 2009).

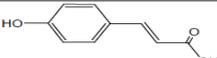
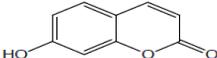
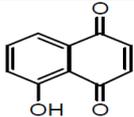
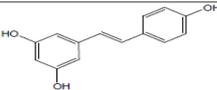
I.1.1.2.3.5.- Principales classes de composés phénoliques :

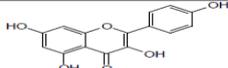
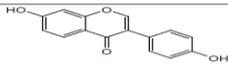
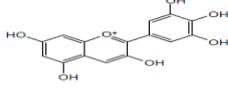
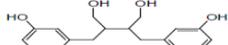
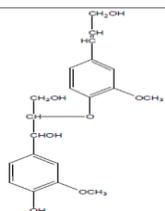
Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau 02) (tableau 03) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches (BELLEBCIR, 2008).

Tableau 02 : Les principales classes de composés phénoliques (BELLEBCIR, 2008).

Squelette carboné	Classe	Exemple	origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ - C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C ₆ - C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélagonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C ₆ - C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ - C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, Kaki

Tableau 03 : Les principales classes de composés phénoliques (MIDOUN, 2010).

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïque	Acides p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Napthoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-Resvératrol		Raisin

C6-C3-C6	Flavonoides	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoides	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3) ₂	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) _n	Lignines	Ether B-coniférylique du gaiacylglycérol		Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Procyanidol		Raisins, kaki

I.1.1.2.3.5.1.- Les acides phénoliques :

Ils sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, comme exemple: acide chlorogénique, acide caféique, acide protocatéchique, acide vanillique, acide férulique, acide sinapique et acide gallique. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et ils sont considérés non toxiques. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique, cet acide et l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris, l'acide gallique inhibe la formation du cancer oesophagien chez les rats (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.3.5.1.1.- Acides hydroxybenzoïques :

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆ - C₁. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes. Les acides hydroxybenzoïques (Figure 03), (p- hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicyclique, gentisique, etc). Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (BELLEBCIR, 2008).

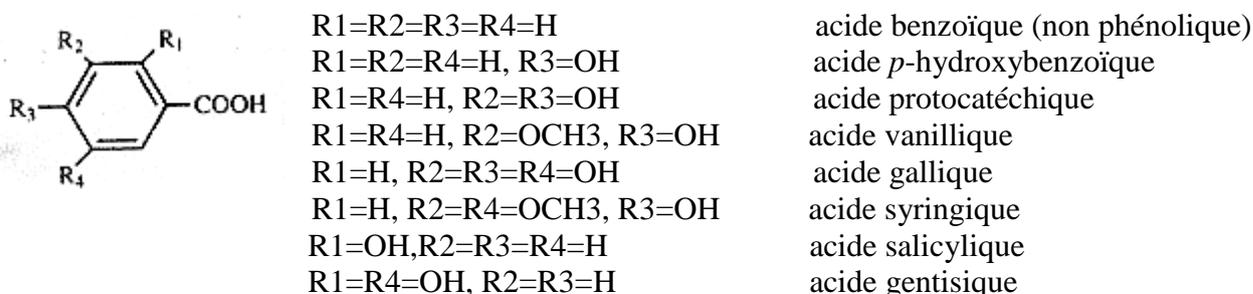


Figure 03 : Acides hydroxybenzoïques (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.1.2.- Acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆ - C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques l'acide *p*-coumarique (et ses isomères, les acides *o*- et *m*-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique (Figure 04) (BELLEBCIR, 2008).

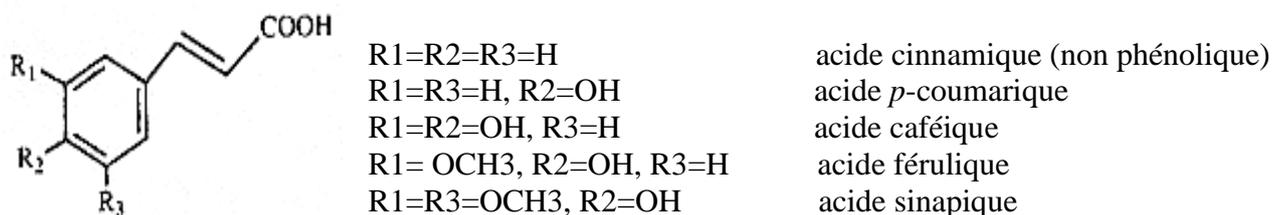


Figure 04 : Acides hydroxycinnamiques « phénylpropanoïdes » (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.- flavonoïdes :

Le nom flavonoïde est dérivé du mot grec «FLAVUS» qui veut dire jaune. Les flavonoïdes sont des constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien, à l'exception des algues. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ces substances peuvent également se trouver dans le règne animal: Les glandes à sécrétion odoriférante propolis (abeille) et dans les ailes des papillons. Les flavonoïdes sont présentés la plus grande classe de polyphénols, On estime que 2% de l'ensemble du carbone photo-synthétisé par les plantes est transformé en flavonoïdes. Plusieurs études ont souligné que les flavonoïdes de différentes sources botaniques agissent comme antioxydants puissants encore plus que la vitamine C. Ces produits phénoliques sont des métabolites secondaires parce qu'ils n'exercent aucune fonction directe sur les activités fondamentales d'un organisme végétal; comme la croissance ou la production, aussi du fait de leurs petits poids moléculaires et de leur accumulation en quantité extrêmement faible (MIDOUN, 2010).

- **Le concept phytochimique :**

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmacologiques et la liste s'élargit constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques. Les flavonoïdes furent leur apparition chez les mousses, chez les fougères et les conifères, leur variété structurale est encore faible, elle est maximale dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, grains, bois. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties extrêmes des fruits, fleurs et feuilles. Les Chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaune et orangé). Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capable de produire une

vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.1.- Structure :

Structuralement les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C) (Figure 05) (MIDOUN, 2010).

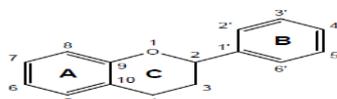


Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.3.5.2.2.- Les différentes classes de flavonoïdes :

I.1.1.2.3.5.2.2.1.- Les flavonoïdes de structure C6 – C3 – C6 :

L'ensemble des flavonoïdes de structure générale en C15 (C6-C3-C6) comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes. Ces composés existent sous forme d'hétérosides, dont certains ont une très grande importance biologique et technologique: les anthocyanes pigments rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tanins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (Figure 06).

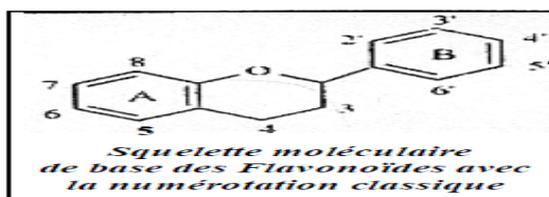


Figure 06 : Les flavonoïdes de structure C6 – C3 – C6 (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.2.- Les chalcones et aurones:

Gardent la structure du tétra ou trihydroxychalcone, le noyau central de la molécule n'est pas totalement cyclisé ou se présente sous forme d'un cycle ne présentant que cinq sommets. Les aurones sont caractérisés par une structure de 2- benzylidène coumarone (Figure 07).

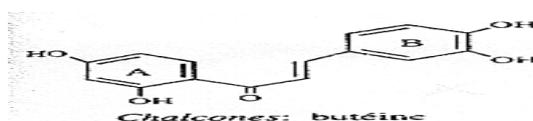


Figure 07 : Structure des chalcones (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.3.- Les flavanones :

Dérivent des précédentes par une cyclisation au centre du squelette, d'où un hétérocycle. Ils se caractérisent par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 par la présence des centres d'asymétrie (Figure 08).

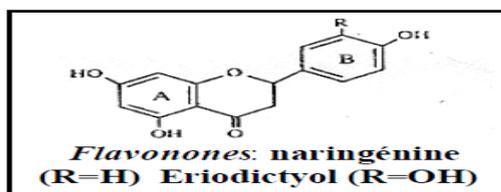


Figure 08 : Structure des flavanones (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.4.- Les flavones :

Dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle. Dans plus de 90%, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et C7. Par exemple : Glucoside d'apigénine chez le blé et la tricine chez le blé (Figure 09).

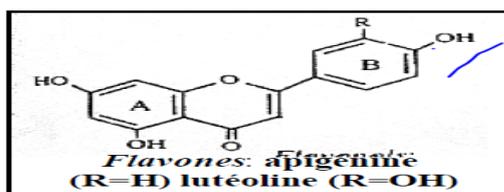


Figure 09 : Structure des flavones (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.5.- Les flavonols :

Se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3. Chez les flavonols la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée, fréquemment la position 7 mais jamais la position 5 du cycle A. Exemple : chez l'orge Chrysoeriol (Figure 10).

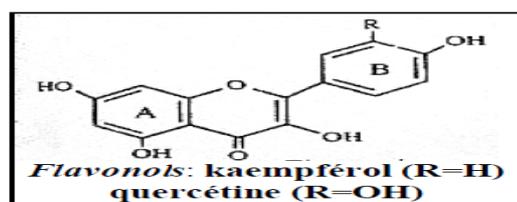


Figure 10 : Structure des flavonols (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.6.- Les isoflavones :

Dérivent aussi des flavanones mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C2 au C4 de l'hétérocycle (Figure 11).

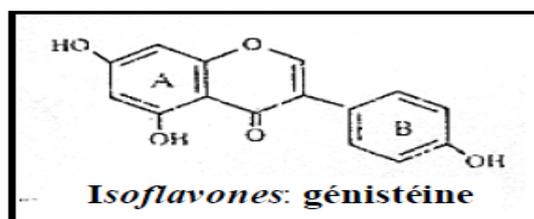


Figure 11: Structure des isoflavones (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.2.7.- Les anthocyanes:

Le terme anthocyanes a une valeur générale désignant, soit les formes naturelles glycosylées, soit les molécules non glycosylées. Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a aussi préférentiellement la position 5 est glycosylée. La partie phénolique seule est désigné sous le nom d'anthocyanidine, alors que l'hétéroside (molécule phénolique + sucre associé) est appelé anthocyanine (Figure 12).

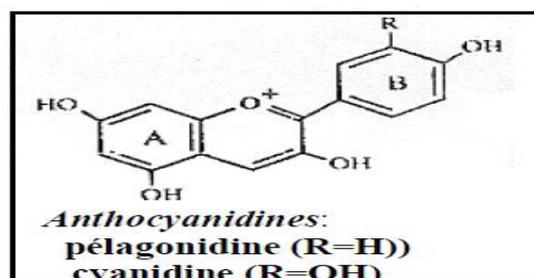


Figure 12 : Structure des anthocyanidines (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.5.2.3.- Biosynthèse, accumulation et classification :

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de 15 atomes du carbone C constitués de deux cycles en C6 A et B reliés par une chaîne enC3. Leur biosynthèse se fait à partir d'un squelette moléculaire de base la chalcone qui a une origine biosynthétique mixte: d'une part 3 molécule d'acétyl CoA (apporté sous forme de malonyl CoA) pour le cycle A et d'autre pour une molécule de p-coumaryl CoA pour le cycle B et l'hétérocycle C. l'enzyme clé est la chalcone synthase CHS qui provoque la condensation séquentielle en formant la naringénine –chalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisé sous l'action de l'enzyme chalcone isomérase en flavanone:

naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la flavanone 3-hydroxylase pour donner les flavones: apigénine, dihydroflvonol, et (2R-3R)-dihydrokaempférol respectivement. Les deux enzymes citées fonctionnent différemment; la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C3. Le dihydroflavonol-4-reductase, se métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3, 4-diol, leucoanthocyanidols. Le pelargonidol, sous l'action de la 3-O-glycosyl-transférase se transforme en anthocyanosides: pelargonidol-3-glucoside. Les composés de chaque groupe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupement hydroxyles, méthoxyles...) sur les deux cycles aromatiques et la chaîne en C3 intermédiaire. A l'état naturel, on trouve souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est dite : aglycone (Figure 13) (BELLEBCIR, 2008).

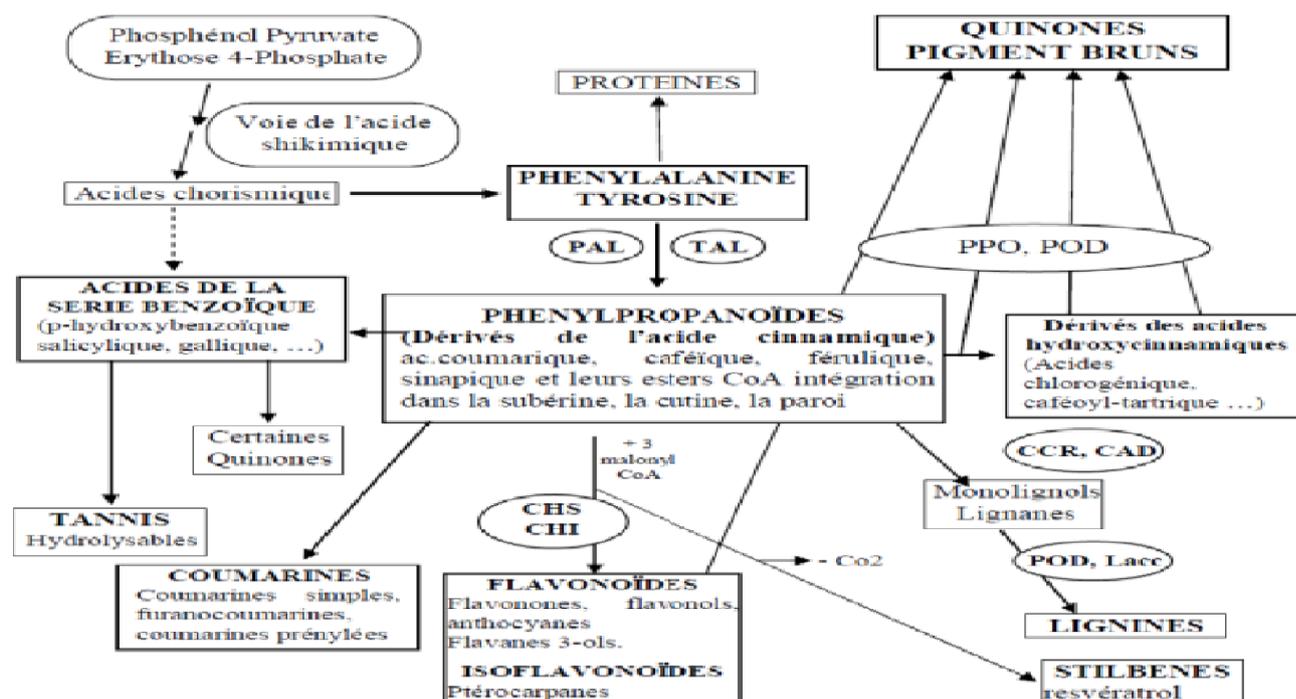


Figure 13 : Grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.3.6.- Rôles, intérêts et propriétés des poly phénols :

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation humaine des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir dans:

- les critères de qualité.

- certains aspects de la physiologie de la plante.
- les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (MIDOUN, 2010).

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir dans: La fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine. Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation. Les cellules végétales répondent au stimulus environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections. Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation. Les poly phénols exercent un effet majeur sur les caractères organoleptiques des produits. Dans la variation de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentés ...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (BELLEBCIR, 2008). D'autre part, les techniques modernes d'isolement de molécules et d'exploration médicales montrent que beaucoup de propriétés thérapeutiques reposent sur les produits du métabolisme secondaires, et qu'il existe une relation directe entre les propriétés physicochimiques de ces composés et leur activité biologique et/ou pharmacologique. De nos jours, les propriétés anti oxydantes ou anti-inflammatoires des poly phénols Participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives, l'ostéoporose (BOUFAGHES B, MHERIGUE M, 2010).

➤ **Chez les plantes :**

Les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes seraient impliqués dans un certain nombre de fonctions :

- ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graine.

- représentent un système de défense contre les organismes micro pathogènes.
- protègent les plantes contrent les radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées.
- interviendraient dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (DONATIEN, 2009).

➤ **Chez l'homme :**

Plusieurs propriétés biologiques ont été attribuées aux poly phénols :

- Anticancérigènes : flavonoïdes coumarines.
- anti-ulcéreuses : flavonoïdes et acides phénoliques.
- Vasodilatatoires : flavonoïdes, les lignanes.
- L'activité antivirale des flavonoïdes est connue.
- Ostéogène : flavonoïdes.
- anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergénique (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.3.7.- L'activité antioxydante des polyphénols :

Les études scientifiques actuelles ont permis de confirmer les propriétés médicinales, attribuées au polyphénols. Parmi ces derniers, il a été reconnu que les flavonoïdes possèdent des activités anti-inflammatoires, anti-allergiques, antivirales ...ect.

- Les polyphénols sont absorbés à travers les barrières intestinales et parviennent au niveau des tissus cibles, où ils peuvent exercer des effets protecteurs. Notre organisme étant soumis à un stress oxydant, il développe diverses pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, maladies neuro-dégénératives ...).
- Les effets protecteurs cardiovasculaires sont de mieux en mieux établis.
- Un antioxydant est une substance qui, quand elle se présente à une concentration basse par rapport à celle d'un substrat oxydable, elle empêche (prévient) considérablement l'oxydation de cette dernière.

Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres (l'effet scavenger) générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections), tel que O_2^- (superoxyd anion) HO_2^- (Perhydroxy radical) H_2O_2 (hydrogène peroxyd), OH (Hydroxy radical) $RO\cdot$ (Alkoxy radical), $ROO\cdot$ (peroxy radical), $O_2\cdot$ (singlet oxygen). Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans nos régimes alimentaires. Nous consommons chaque jour environ 1 g de poly phénols qui proviennent exclusivement des aliments d'origines végétales. Ils

renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant et préviendraient ainsi diverses maladies chroniques, telles que cancers et maladies cardiovasculaires.

- C'est admis que la capacité antioxydante de plusieurs fruits est due à la présence des flavonoïdes, en fait, la plus part des constituants polyphénoliques de la nourriture montre une plus grande efficacité dans ces systèmes, comme des antioxydants mieux que les éléments antioxydants nutritifs : vitamine C, vitamine E, et b - carotène. Des différences entre les capacités antioxydantes existent dans les composés sélectionnés, et qui peuvent être mesurées en utilisant différentes techniques (chimiluminescence). Parce que la plupart des produits phytochimiques sont multifonctionnels, donc un protocole fiable de l'antioxydant exige la mesure de plus qu'une propriété pertinente soit pour les nourritures ou les systèmes biologiques.

- Les activités antioxydantes totales des acides hydroxycinnamiques sont plus fortes que celles des acides hydroxybenzoïques correspondants. Cette activité peut être augmentée par certaines substitutions du méthylation, mais la glycosylation du groupe carboxylate n'a aucune influence sur cette propriété.

- L'efficacité anti-oxydative des monophénols est augmentée substantiellement par un ou deux substituants méthyloxy dans les O-positions par rapport à OH Au moins deux, ou même trois groupes d'hydroxyl phénoliques voisins à un groupe carbonyle montrent des traits moléculaires essentiels responsables d'une forte activité antioxydante (Figure 14) (MIDOUN, 2010).



Figure 14 : Réaction de réduction d'un radical libre par un poly phénol (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.4.- Les tanins :

On appelle communément « tanins » des substances d'origine végétale, non azotées, de structure poly phénoliques, soluble dans l'eau, l'alcool et l'acétate, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000 g /mol (MIDOUN ,2010). Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (BELLEBCIR, 2008).

I.1.1.2.4.1.- Les tanins hydrolysables :

Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide -l'acide éllagique.

I.1.1.2.4.2.- Les tanins condensés :

Appelés proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3-ol et/ou de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4 - C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A : ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (BELLEBCIR, 2008).

- **Emploi en thérapeutique :**

Les drogues à tanin sont employées contre les hémorroïdes, blessures superficielles. Les extraits tanniques sont anti-inflammatoires dans les cas de brûlures. Ils sont utilisés aussi comme antiseptiques. En solutions buvables, elles employées comme anti diarrhéiques (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.5.- Les Stilbènes :

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Il abondent dans les fruits sont le trans-Resvératrol et son dérivé glycolyse : le picéide, ainsi que les dimères (Figure 15) (MIDOUN, 2010).

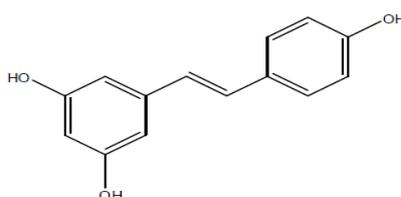


Figure 15 : Structures chimiques d'un Stilbène (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.6.- Les coumarines :

I.1.1.2.6.1.- Définition :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka d'où fut isolée, en 1820. Les coumarines sont des substances phénoliques, formées de l'union de noyau benzénique et pyrone (MIDOUN, 2010). Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2- pyrone. Isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes. Dans les plantes, on les rencontre dans les Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae et Solanaceae. Du point de vue structural, on les classe en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, ceux substitués en position 3 et ou 4 et le dernier groupe serait celui des dimères (DONATIEN, 2009). Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses : Les coumarines du méhiot et du marronnier d'Inde contribuent à fluidifier le sang comme le bergaptène, soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella est un puissant vasodilatateur coronarien (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.6.2.- Propriétés physico-chimique des coumarines :

- Les coumarines libres sont solubles dans les alcools, et dans les solvants organiques, tels que les dioxydes d'éthyles ou les solvants chlorés, avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau.
- Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants, profondément modifié en milieu alcalin (KOH, NaOCH₃).
- Examinées en lumière UV, les CCM de drogues à coumarines présentent des taches dont la coloration, exaltée en présence d'ammoniac, varie du bleu au jaune et au pourpre (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.7.- Les lignanes et les lignines :

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique et servent de précurseurs pour les composés de type phénylpropanoïde tels que les lignanes et les lignines (DONATIEN, 2009).

I.1.1.2.7.1.- Les lignanes :

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Les lignanes sont les dimères des unités de phénylpropane (C₆C₄). Les lignanes constituent une classe importante de métabolites

secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique des lignanes est large: plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tout les tissus, Ils ont été découverts dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (MIDOUN, 2010).

Ils répondent à une représentation structurale de type $(C_6C_3)_2$; l'unité C_6C_3 est considérée comme un propylbenzène. Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C-8 des chaînes latérales propényles de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison C8 –C8', les métabolites résultants portent le nom de lignane. Le termeneolignane est employé pour définir tous les autres types de liaison. Lorsqu'il n'y a pas de liaison directe C–C entre les unités C_6C_3 mais liés par un atome d'oxygène d'éther, le composé est appelé oxynéolignane. Il existe d'autres types de lignanes tels que les sesquinéolignanes (ayant trois unités de C_6C_3) et les dinéolignanes (contenant quatre unités de C_6C_3) (www.chem.qmul.ac.uk/iupac/lignan).

Les lignanes matairesinol, secoisolariciresinol et d'autres lignanes auraient été détectés dans le vin rouge donc dans les vitidaceae, les neolignanes biphenyles sont isolés de *Magnolia officinalis* et les oxynéolignanes, de *Bursera tonkinensis* Guillaum (Burseraceae) (Figure 16) (DONATIEN, 2009).

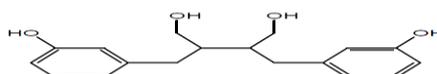


Figure 16 : Structure chimique d'un lignane (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.7.2.- La lignine :

La lignine est un polymère très complexe que l'on retrouve dans toutes les plantes vasculaires (Ptéridophytes, Angiospermes et Gymnospermes). Elle assure la rigidité des parois cellulaires végétales et l'imperméabilité des tissus conducteurs. Ce polymère tridimensionnel est synthétisé au niveau de la paroi (MIDOUN, 2010). Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formés par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique (Figure 17) (DONATIEN, 2009).

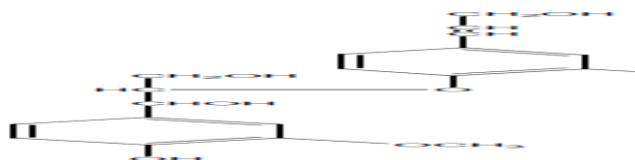


Figure 17: Structure chimique d'un Lignine (MIDOUN, 2010).

I.1.1.2.8.- Les huiles essentielles :

I.1.1.2.8.1.- Définition :

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une feuille, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée. Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélange de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présente sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois .Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

I.1.1.2.8.2.- Caractéristiques physico-chimiques :

I.1.1.2.8.2.1.- Propriétés physiques :

Selon (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010). Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre des propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peut solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie de 160C° à 240C°.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinolides, très odorantes et volatiles.

- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté.

I.1.1.2.8.2.2.- Composition chimique :

La détermination de la composition chimique a intéressée de nombreux chercheurs et les méthodes d'analyse chimique de plus en plus sophistiquées ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent du point de vue parfum des rôles d'inégale importance : les uns contribuent puissamment à l'arôme de l'essence, certains participent simplement à l'harmonie du mélange. D'autres sont complètement inodores ou peu odorants, ceux-ci ont un rôle tout à fait effacé. Les constituants des huiles essentielles appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants :

I.1.1.2.8.2.2.1.- Terpénoïdes :

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono- et sesquiterpènes.

I.1.1.2.8.2.2.1.1.- Les monoterpènes :

Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène) ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus...) (voir figure 08). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone, β -vetivone) esters (Acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéole) (Figure18) (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010) (RAHAL, 2009).

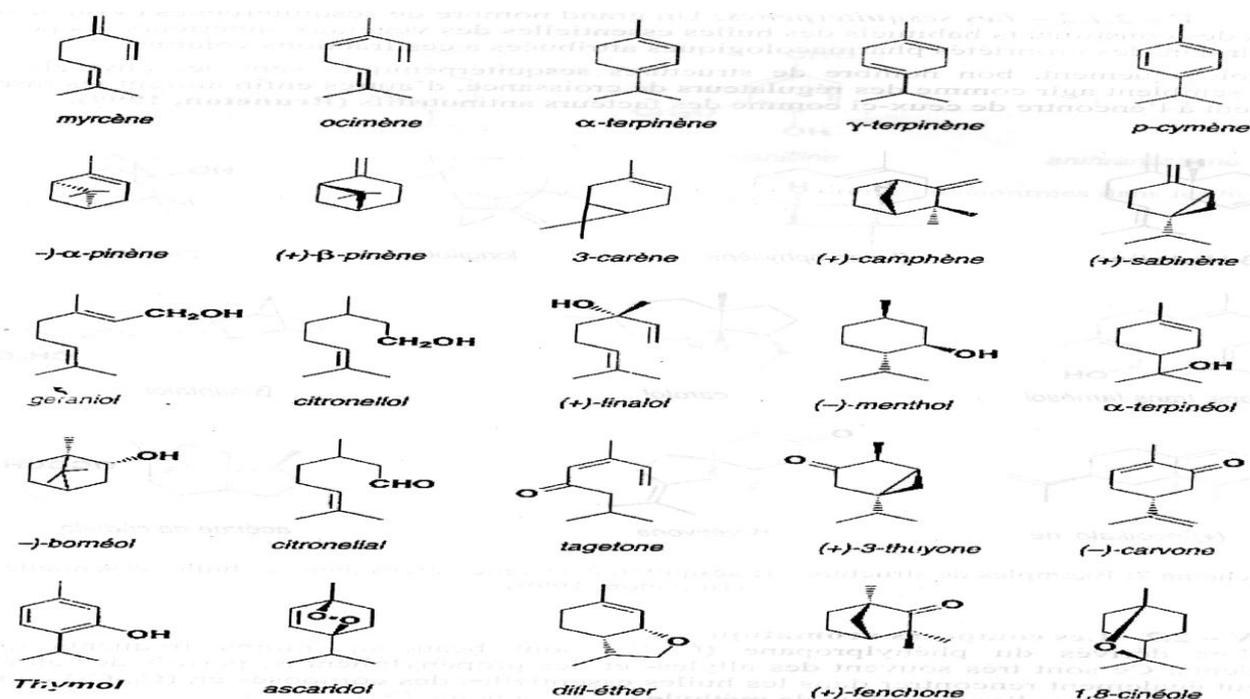


Figure 18 : Exemple de structure de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

Les monoterpènes oxygénée sont soit des alcools, soit des cétones ou aldéhydes .dans le cas des alcools, ils ont comme formule brute la plus courante $C_{10}H_{18}O$, ce qui correspond à une addition d'eau sur l'hydrocarbure monoterpénique correspondant .les dérivés carbonylés proviennent d'une oxydation des alcools et ont généralement la formule brute $C_{10}H_{16}O$. Dans ces deux derniers cas, il est possible de rencontrer ces molécules avec un degré d'insaturation plus faible (RAHAL, 2009).

I.1.1.2.8.2.2.1.1.1.- Propriétés physiques et isomérisation :

Les monoterpènes sont presque toujours des liquides : Une des exceptions est le camphre, que se présente sous forme d'un solide ($F= 178\text{ }^{\circ}C$). Les monoterpènes ont une structure souvent chirale. Par exemple, le citronellol existe sous forme dextrogyre dans l'essence dans citronnelle, lévogyre dans l'essence de rose, et racémique dans l'essence de géranium. Si on prend comme exemple le menthol, il possède trois carbones asymétriques, conduisant à 8 stéréo-isomères possibles. les monoterpènes oxygénée sont soit des alcools, soit des cétones ou aldéhydes .dans le cas des alcools, ils ont comme formule brute la plus courante $C_{10}H_{18}O$, ce qui correspond à une addition d'eau sur l'hydrocarbure monoterpénique correspondant .les dérivés carbonylés proviennent d'une oxydation

des alcools et ont généralement la formule brute $C_{10}H_{16}O$. Dans ces deux derniers cas, il est possible de rencontrer ces molécules avec un degré d'insaturation plus faible (RAHAL, 2009).

I.1.1.2.8.2.2.1.1.2.- Les propriétés chimiques :

Les monoterpènes sont très réactifs vu la présence de liaisons π isolées ou conjuguées dans leur structure ; on va alors rencontrer des réactions typiques de ce genre de système (addition, isomérisation, cyclisation, transposition). De même, l'autoxydation pourra concerner les positions allyliques, et cette réaction est courante ce qui explique la sensibilité des parfums à l'air. En ce qui concerne les alcools, ils pourront subir souvent des déshydratations en plus des réactions classiques de cette fonction (RAHAL, 2009).

I.1.1.2.8.2.2.1.2.- Les sesquiterpènes :

Un grand nombre de sesquiterpène (Figure 19) sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles. Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpènes sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux – ci comme des facteurs anti nutritifs (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

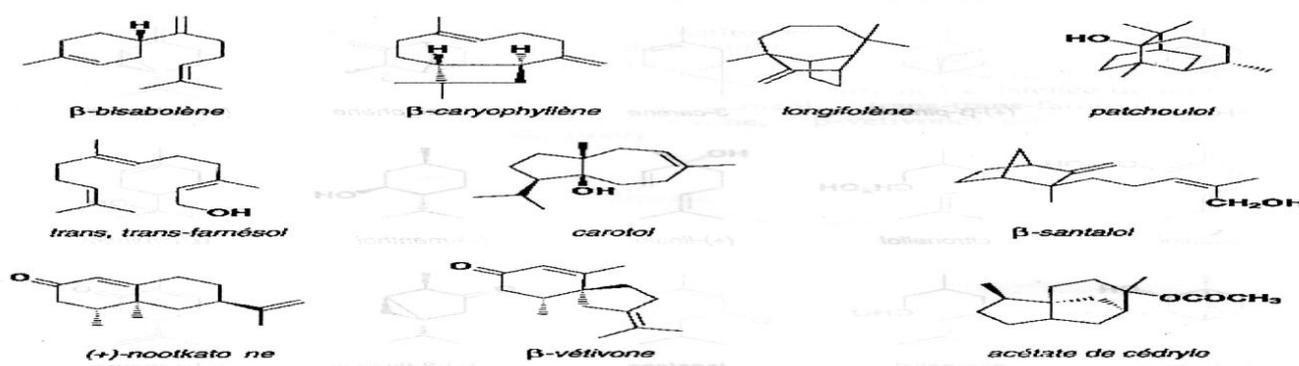


Figure 19 : Exemples de structure de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

Ils comportent trois motifs isoprène et peuvent présenter une grande variété dans les structures le nombre élevé de possibilités a retardé l'élucidation de leurs structure, surtout pour les composés qui ne sont pas transformables en dérivés naphthaléniques. L'un des plus connus parmi les sesquiterpènes acycliques est le farnésol, extrait du lys et qui présente la configuration E, E au niveau des doubles liaisons. Il peut être déshydraté en milieu acide pour donner le bisabolène (huile

de bergamotte) ou l' α -farnésène (huile de citronnelle), ce type de cyclisation joue un grand rôle dans la biosynthèse des terpènes (RAHAL, 2009).

I.1.1.2.8.2.2.2.- Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en ($C_6.C_1$) comme la vanilline ou comme l'anthranilate de méthyle (Figure 20) (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

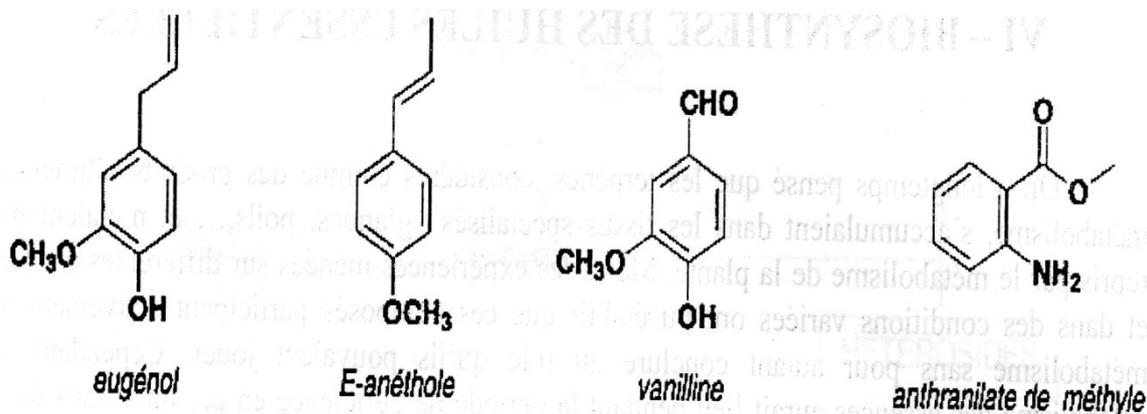


Figure 20 : Exemple de structure de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

I.1.1.2.8.3.- Biosynthèse des huiles essentielles :

On a longtemps pensée que les terpènes, considérés comme des produits ultimes du métabolisme, s'accumulaient dans les tissus spécialisée : glandes, poils,.....et n'étaient pas repris par le métabolisme de la plante .Mais, des expériences menées sur différentes espèces et dans des conditions variées ont pu établir que ces composés participent activement au métabolisme sans pour autant conclure au rôle qu'ils pouvaient jouer. Cependant, le catabolisme des essences aurait lieu pendant la période de déficience en produits issus de la photosynthèse. Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les trapézoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (Figure 21) (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

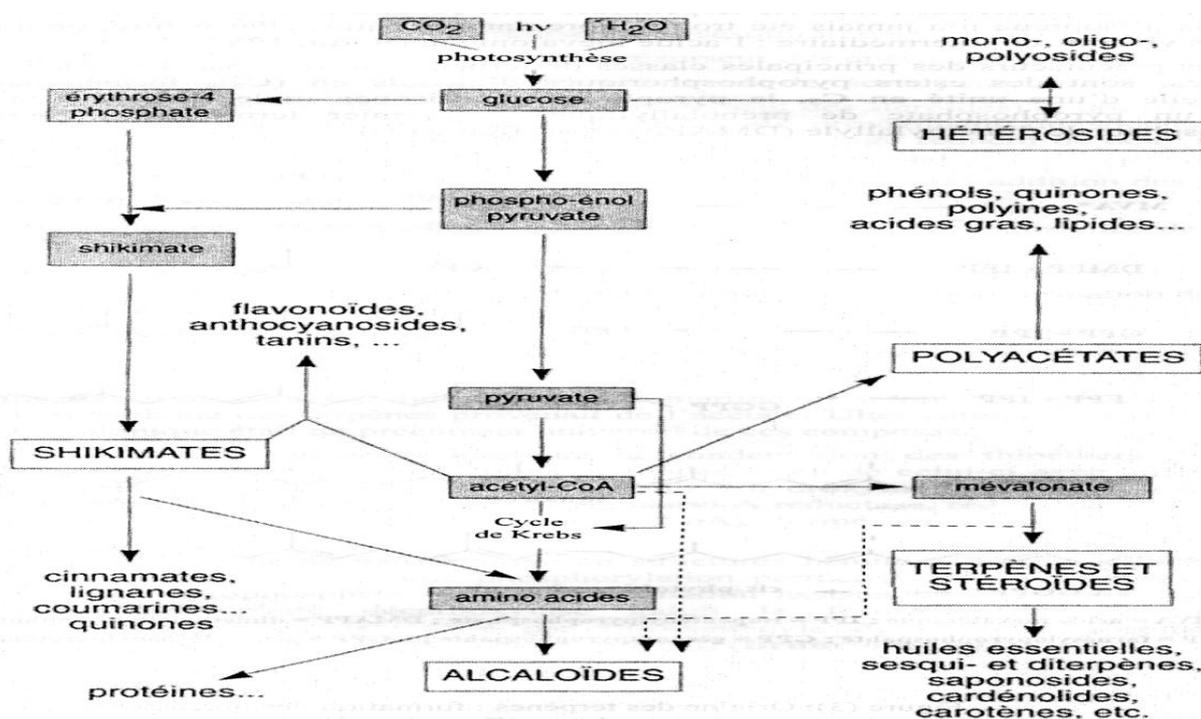


Figure 21 : Principaux produits de glucoserie (BEKHECHI, ABDELOUAHID, 2010).

I.1.1.3.- Rôle biologique des métabolites secondaires :

Il est impossible de montrer une fonction commune à l'ensemble de métabolites secondaires, mais on peut constater l'existence de nombreuses interactions entre les plantes qui les élaborent et les autres organismes vivants (MERGHAM, 2009).

I.1.1.3.1.- Accumulation et évolution dans la plante :

Il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires dans l'organisme végétal. Suivant les espèces et les diverses catégories de composés, on peut les trouver dans les différents organes ou au contraire, ne les rencontrer que dans les tissus très spécialisés (cas de la menthe : glande au niveau inférieur de la feuille). Leur taux, relevé par l'analyse d'une plante ou d'un fragment, varie grandement durant l'ontogenèse (croissance jusqu'à la floraison) et l'organogenèse (formation du fruit). Par ailleurs, il est certain que la quantité observée de métabolites secondaires, à un moment donnée, est la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques : biosynthèse, dégradation, transport, capacité

d'accumulation et de bioconversion (réponse à la pression de l'environnement) (MERGHAM, 2009).

I.1.1.3.2.- Interaction entre plantes et vertébrés :

Historiquement ,la très grande activité pharmacologique de très nombreuses substances sur l'organisme humain ou animal fut à l'origine de l'étude des métabolites secondaires .Depuis de nombreux siècles ,l'homme a su utiliser les plantes renfermant ces molécules pour se soigner, pour chasser , ou pour tuer ses semblables .citons à titre d'exemple les plantes renfermant des *curares* (à effet paralysant),utilisés d'abord comme poisons de flèche par certaines peuplades anciennes et ensuite en médecine contemporaine durant certaines interventions chirurgicales .citons également les alcaloïdes du pavot *papaver somniferum* Fam. Papavéracées (la morphine en médecine) et plus récemment, les alcaloïdes de structure indolique en chimiothérapie anticancéreuse (MERGHAM, 2009).

I.1.1.3.3.- Interaction entre plantes et insectes :

Certaines molécules du métabolisme secondaire sont connues pour leur action insecticide : c'est le cas, par exemple, de la nicotine du tabac *Nicotinia tabacum* Fam .solanacées à l'égard des pucerons. L'adaptation à des plantes toxiques de certains insectes est plus intéressante pour montrer le rôle des métabolites secondaires dans la coévolution de 2 règnes. Un exemple est fourni par l'adaptation de la piéride du chou (insecte – papillon) aux glucosinolates élaborés par les crucifères (glucosides de l'essence de moutarde). Ces composés sont tout à la fois répulsifs et toxiques pour de nombreux insectes ; au contraire, la femelle de la piéride est attirée par ces végétaux et, en particulier, par les choux sur lesquels elle dépose ses œufs ; par la suite, les larves se nourriront du végétal sans être intoxiqués par les glucosides soufrés (MERGHAM, 2009).

I.1.1.3.4.- Interactions entre Plante :

La lutte passe par empoisonnements à distance ou *Télétoxique*. Citons quelques exemples qui illustreront ces interactions : les racines de la piloselle émettent des substances qui inhibent la croissance des plantes voisines. Les techniques de chromatographie en phase gazeuse ont permis de montre que *salvia leucophylla* Fam. labiées libère dans l'atmosphère du cinèno, du camphre qui sont adsorbés par le sol et inhibent la germination des espèces prairiales .celles-ci ne peuvent germer et croître que lors de l'arrivée des pluies hivernales.

- le noyer (*Juglans regia* L. Fam Juglandacées) élabore dans ces feuilles le 4-O-glucosides de 1,5, tr hydro-naphtalène qui est entraîné par les pluies et hydrolyse au niveau du sol en juglone (Figure 22)

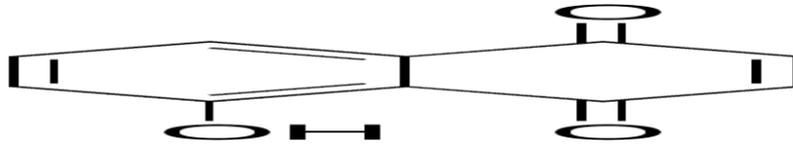


Figure 22 : la juglone (www.defant@science.unitn.it).

Cette hydroquinone inhibe la croissance de nombreuses plantes, certaines espèces cependant possèdent les moyens d'éviter cette toxicité : C'est le cas du paturin Pop qui est une graminée fourragère (MERGHAM, 2009).

I.1.1.3.5.- Interaction entre plantes et microorganismes :

Les microorganismes ou microbes sont des êtres vivants invisibles à l'œil nu. Ils font partie du règne des protistes (les bactéries, les champignons microscopiques, les algues microscopiques, les levures et les protozoaires) ou du règne des virus (BRIGITTE, 2009) (RAMDANI BOUGUESSA et al., 2010). Ces microorganismes sont des acteurs indispensables de notre environnement. Ils permettent aux cycles du carbone, de l'oxygène, de l'azote et du soufre de fonctionner dans les milieux terrestres et aquatiques ; ils sont à l'origine de toutes les chaînes alimentaires (RAMDANI BOUGUESSA et al., 2010).

Les protistes sont classés en deux catégories :

- ❖ les eucaryotes : ce sont des organismes vivants (algues microscopiques, champignons microscopiques, protozoaires) qui possèdent un noyau isolé du cytoplasme par une membrane qui contient deux chromosomes d'ADN (Figure 24).
- ❖ les procaryotes : ce sont des organismes vivants (bactéries) dont la cellule ne possède pas de noyau mais un seul chromosome d'ADN diffus dans le cytoplasme. (Figure 23).

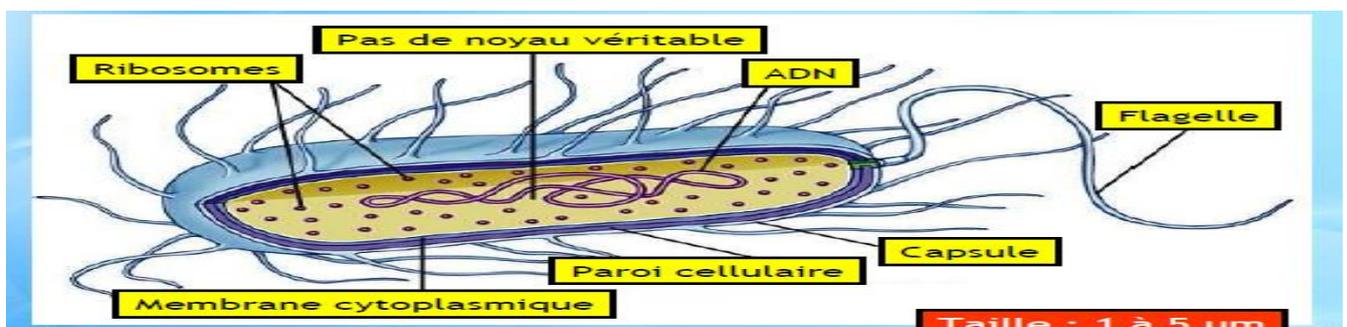


Figure 23 : la cellule procaryote (bactérie) (FIRMESSE, 2007).

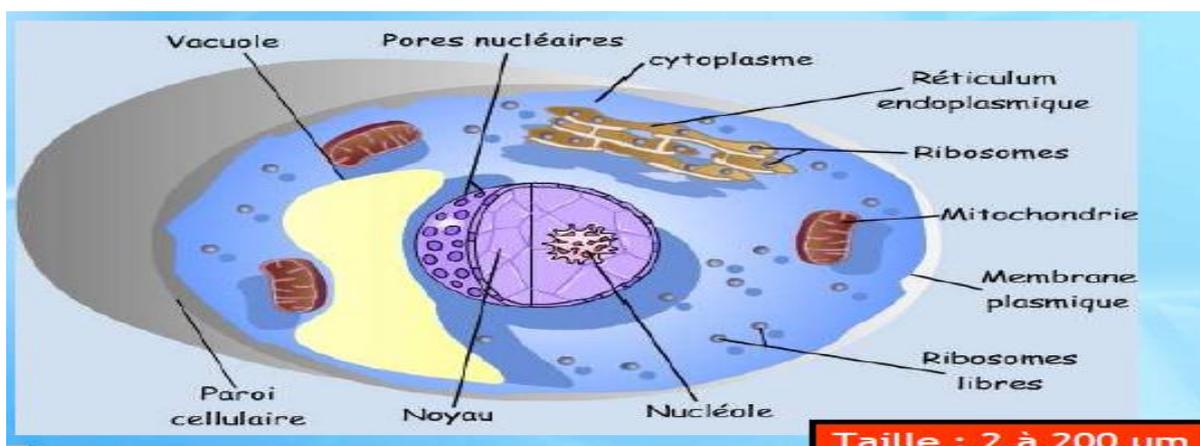


Figure 24 : la cellule eucaryote (champignon) (FIRMESSE, 2007).

La lutte contre les champignons parasites repose en grande partie sur les métabolites secondaires. Beaucoup de plantes répondent à une invasion fongique en produisant des substances inhibant la croissance du parasite. Ces produits peuvent déjà exister dans la plante et il y aura augmentation de leur synthèse : lignine, tanins, composés phénoliques au par la synthèse d'autres composés secondaires spécifiques. Ceux –ci peuvent contribuer à leur défense, c'est le cas des composés phénoliques et des tanins de *Phaseolus lunatus* à l'égard du mildiou (*Phytophthora phaseoli*) et également de la juglone du noyer qui est un puissant fongicide. Chez la luzerne et le haricot soumis à une attaque fongique, la PAL et la chalcone synthase sont rapidement transcrites : le taux d'iso flavonoïdes est ainsi multiplié par cent en quelques heures. De même, un tabac transgénique dans lequel a été (introduit) introgressé le gène de la stilbène synthase (proche de la chalcone synthase) synthétise le resvératrol, ce qui lui assure une résistance accrue vis-à-vis des *Botrytis cinerea*. L'expression de l'enzyme PAL est diminuée, synthétisent beaucoup moins de flavonoïdes et Inversement des tabac transgéniques, chez lesquels d'acides chlorogénique. Ces tabacs sont beaucoup plus sensibles aux infections fongiques .chez la vigne, le resvératrol (stilbène C₆C₂C₆) apparait en réponse à des attaques parasitaires (Figure 25) (MERGHAM, 2009).



Figure 25 : le resvératrol (vigne) (CHIBUIKE et al., 2008)

I.2.- *Peganum harmala* L :

I.2.1.- Présentation et description de la plante :

Peganum harmala L. est une plante herbacée glabre et pluriannuelle qui peut atteindre 70 cm d'hauteur. Elle est caractérisée par des tiges très rameuses et des feuilles divisées en étroite lanière (figure 26), (figure 27). Cette espèce à plusieurs noms vernaculaires. Comme ' Harmel, Harmel El saharien Algérie et en Afrique du nord 'Rue sauvage 'en France,'Africain rue ou syrien rue' en Etats unis et ' Espand ' en Iran. Il s'agit d'une espèce qui pousse spontanément dans les régions steppiques et semi-arides. Elle est native à l'Afrique du Nord, la région méditerranéenne, le Moyen Orient, l'Inde et Pakistan (REZZAGUI, 2012). L'Harmel est une plante vivace à tige ascendante, herbacée. Ses feuilles alternes, sessiles, disséquées irrégulièrement en lanière étroitement linéaire aigués. Ses grandes fleurs sont blanches avec 5 sépales linéaires, 5 pétales ovales ou elliptiques et fleurissent de février à juin. Le fruit capsulaire déprimé mesuré de 6 à 7 mm de longueur .Il contient des petites graines anguleuses, grisâtres. L'odeur de cette plante est forte et désagréables, sa saveur amère (DELILLE, 2010) (BOUZIANE, 2012).



Figure 26 : Arbuste *Peganum harmala* L. (REZZAGUI, 2012).



Figure 27: Différents parties de l'espèce *Peganum harmala* L. (REZZAGUI, 2012).

I.2.2.- Distribution géographique (habitat) :

Cette plante est largement distribuée à travers le monde. Elle est particulièrement rependue dans les zones arides et sèches méditerranéennes sur les sols sableux et légèrement nitrés ; en Europe (comme l'Espagne, la Russie, Hongrie), en Afrique (Maroc oriental, Sahara septentrional et hauts plateaux Algériens, Tunisie, steppes de la Lybie, déserts d'Egypte), et en Asie, elle est répandue dans les steppes de l'Iran, du Pakistan, du Turkestan jusqu'au Tibet et en Sibérie (AITFELLA, 2012) (DELILLE, 2010) (BOUZIANE, 2012).

I.2.3.- Composition Chimique :

Peganum harmala contient des acides aminés (valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique, l'aniline, N-phénylformamide, et N- acétylaniline phénylalanine), des carbohydrates, des flavonoïdes, des coumarines, des bases volatiles, des tanins, des stérols, et des triterpènes. Une recherche sur les qualités organoleptiques de l'huile des graines de *Peganum harmala* a montré qu'elle était comestible. Cette huile, composée majoritairement d'acide oléique, linoléique et palmitique constitue 10 à 12% des graines. Par ailleurs, la recherche sur les substances volatiles et les pigments anthraquinoniques reste très limitée. Cette plante est réputée pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes (particulièrement dans les graines et racines [2–7%] par rapport aux tiges [0,36 %] et feuilles [0,52 %]). Ces alcaloïdes (Figure19) sont de type b-carbolines [Harmaline ou harmidine ($C_{13} H_{14} N_2$), Harmine ou banistéline ($C_{13} H_{12} N_2$), Harmalol ($C_{12} H_{12} N_2$), et Harmane ($C_{12} H_{10} N_2$) (figure 19), et des dérivés quinazolines [vasicine $C_{13} H_{15} ON_2$ (peganine) et vasicinone $C_{11} H_{10} O_2 N_2$]. Leur teneur s'élève brusquement en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine. L'harmaline est un méthoxy-Harmalol et une dihydroharmine, elle constitue les 2/3 des alcaloïdes totaux de la graine (Figure 28) (AITFELLA, 2012).

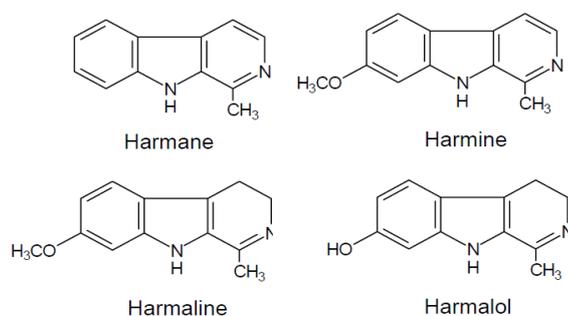


Figure 28 : Structure chimique des alcaloïdes de type b-carboline (AITFELLA, 2012).

I.2.4.- Les métabolites secondaires de *Peganum harmala* L :

L'espèce *Peganum harmala* est très riche en alcaloïdes indoliques (dérivés de l'acide aminé Tryptophane) de type β -carboliniques (Figure 29). Les plus importants sont l'Harmaline, l'Harmane, l'Harmine et le Tetrahydroxyharmine (THH).

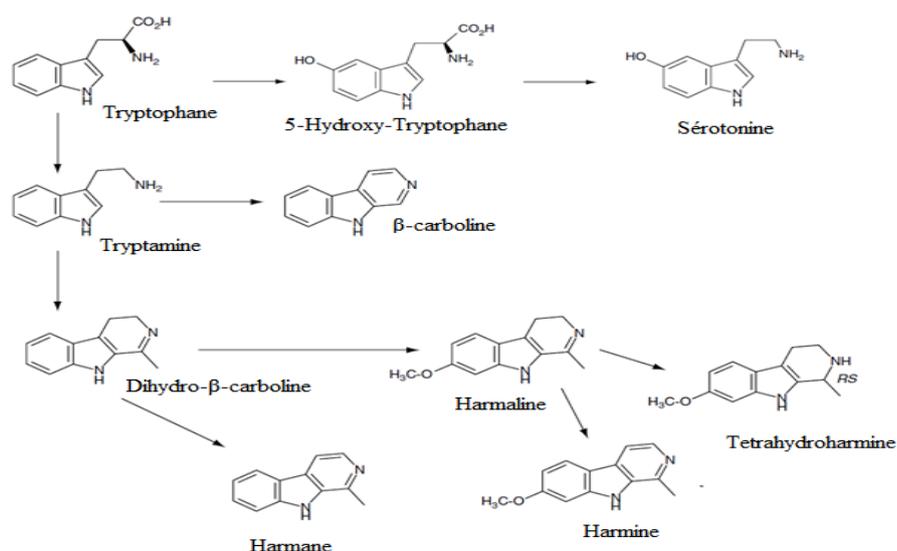


Figure 29 : Synthèse des β -carbolines de *Peganum harmala* L. et de la sérotonine à partir du Tryptophane (REZZAGUI, 2012).

Les graines de *Peganum harmala* contiennent également une autre classe d'alcaloïdes, les quinazolines, dont le précurseur est l'acide anthranilique et qui sont représentés par la Péganine, le Vasicinone (Figure 30), et la Desoxypéganine (REZZAGUI, 2012).

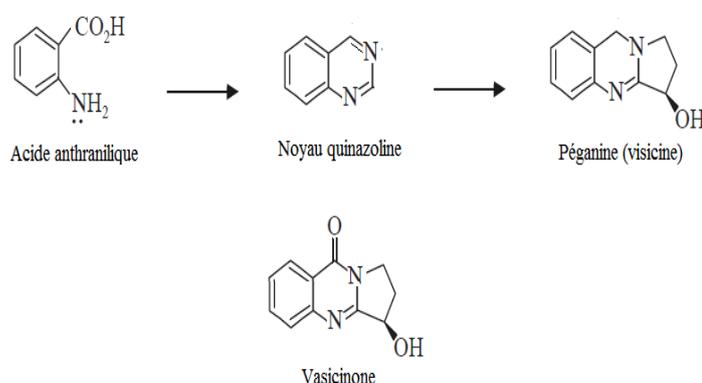


Figure 30 : Structure générale des quinazolines de *Peganum harmala* L. (REZZAGUI, 2012).

I.2.4.1.- Activités biologiques des alcaloïdes :

a) Activité neuropharmacologique :

Les β -carbolines sont très connus par leurs effets neuropharmacologiques et toxicologiques. L'Harmine, l'Harmaline et le THH sont des agents analgésiques, antidépresseurs, narcotiques et hallucinogènes très puissants, d'une part par la désactivation des Monoamines Oxydases de type A (MAO-A) responsables de la dégradation et de la régulation du taux de la sérotonine et des catécholamines dans les tissus, et d'autre part par l'inhibition de la recapture de la sérotonine par les neurones pré-synaptiques. Également, les alcaloïdes β -carboliniques de *Peganum harmala* peuvent agir comme des agonistes des récepteurs de la sérotonine et de la dopamine. Concernant les alcaloïdes quinazoliniques, la Peganine et la Désoxypéganine peuvent avoir un pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine, conduisant donc à l'arrêt de l'influx nerveux dans les neurones cholinergiques. Ces alcaloïdes agissent également comme des agents abortifs et broncho-dilatateurs.

b) Activité cytotoxique :

L'action des alcaloïdes β -carboliniques n'est pas restreinte aux effets neuropharmacologiques, ils peuvent aussi avoir une action cytotoxique en intercalant entre les bases azotées de l'ADN ce qui mène donc à l'inhibition d'ADN Topo isomérase I, et par conséquent, l'inhibition de la réplication de l'ADN et la division cellulaire.

c) Activité antioxydante :

De nombreuses études ont signalé l'activité antioxydante exercée par les alcaloïdes β -carboliniques. Une activité basée sur l'effet piègeur des radicaux libres par le noyau indolique en produisant un radical indolyle stable (Figure 31).

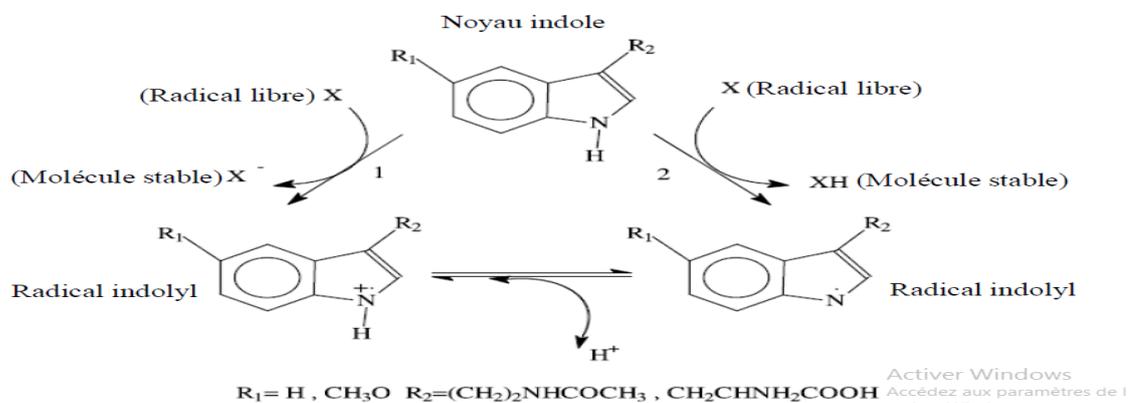


Figure 31: Piégeage des ERO par les indoles (REZZAGUI, 2012).

Concernant les alcaloïdes quinaziloniques, la Peganine et la Désoxypéganine peuvent avoir un pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine, conduisant donc à l'arrêt de l'influx nerveux dans les neurones cholinergiques. Ces alcaloïdes agissent également comme des agents abortifs et broncho-dilatateurs (REZZAGUI, 2012).

I.2.4.2.- Etude phytochimique :

Différentes classes de métabolites secondaires ont été mis en évidence dans les graines de *Peganum harmala* L. dont les alcaloïdes sont les plus importants. Ces métabolites secondaires sont consignés dans le tableau 04.

Tableau 04: Composition chimique des graines de *Peganum harmala* L.(REZZAGUI, 2012).

Métabolites secondaire	Composition %	Molécules identifiés
Alcaloiodes	5à10%	β -carbolique quinazoline
Polyphénols	4.6 %	Flavonoides, Quinones, Tanins, coumarines
Saponines	ND	NI
Huiles fixées	15.86%	Acide linoléique Acide linoléique , palmitique ,melissique , β -sitosteol ,etc
Caroténoides	0.7%	α -carotène , σ -carotène , β -carotène .

I.2.5.- Utilisation de la plante :

I.2.5.1.- Usage traditionnelle :

La plante *Peganum harmala* est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine pour traiter différents troubles tel que :

- Gynécologiques: emménagogue, abortif, stérilité féminine.
- Généraux: hypnotique, antipyrétique, antalgique, et antitussif.
- Digestifs: coliques, troubles digestifs.
- Cutanés: antiseptique, cicatrisant, contre les dermatoses (eczémas), brûlures, conjonctivites purulentes, blépharites, et alopécie.
- Infectieux: tétanos néonatal; anthelminthique (ascaris, ténia).
- Autres: sudorifique, dépuratif...etc.

Le harmel peut être utilisé soit en usage externe, soit "per os". Quelques formes en usage au Maghreb sont rapportées ci-dessous.

➤ **Usage externe :**

Plante fraîche soit hachée et employée en cataplasmes, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton ; plante sèche ou graines sous forme de fumigations ; huile de graines obtenue par décoction de graines dans l'huile d'olive.

➤ **Usage interne :**

Une cuillère à café, soit environ 2.5 g de graines est employée en médecine traditionnelle nord-africaine : avalées telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive. La plante fraîche hachée est bouillie dans l'huile, et les feuilles sèches sont utilisées en décoction.

I.2.5.2.- Utilisation thérapeutique :

Les extraits de cette plante sont utilisés pour le traitement du diabète et l'hypertension artérielle. Ils possèdent une activité ant-inflammatoire, antioxydante, hypothermique, analgésique, antitumorale, vasodilatatrice, antispasmodiques, abortive, antidépressive, et surtout des effets hallucinogènes. Les alcaloïdes sont connus pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, et antivirales. Ils possèdent également une activité anti-protazoaire notamment contre la leishmaniose, la theileriose méditerranéenne et tropicale, le paludisme, ainsi qu'un pouvoir insecticide sur *Schistocerca Gregaria* et nématocide contre *Meloidogyne ssp.*, nématodes à galles (AITFELLA, 2012). Elle est surtout réputée pour ses vertus médicinales :

- Pharmacopée : En fumigation, elle sert à dissiper les troubles provoqués par le mauvais œil et traite les convulsions des enfants. En décoction et pommade elle est utilisée pour le traitement des fièvres et en frictions pour soigner les rhumatismes.
- Intérêt pastoral : C'est une plante non broutée par les animaux (CHEHMA, 2006).

I.2.6.- Toxicité :

Malgré les nombreux rapports d'intoxication humaine et animale enregistrés suite à l'ingestion de *Peganum harmala*, 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. Les alcaloïdes de *Peganum harmala* sont doués de propriétés toxiques. Ils provoquent des problèmes d'empoisonnement chez l'homme ainsi que chez les animaux, notamment les chameaux et les brebis, qui mangent cette plante en grande quantité

comme un fourrage dans les périodes de sécheresse. Les alcaloïdes peuvent provoquer une hypothermie permanente, des troubles respiratoires, des vomissements, des maux de ventre, des hallucinations et des convulsions, en inhibant la MAO-A et l'AChE. Dans la plus part des cas, les animaux intoxiqués meurent, généralement, 36-38 heures après l'apparition des premiers signes d'intoxication du SNC et SNP (REZZAGUI, 2012).

CHAPITRE II
MATÉRIELS ET
MÉTHODES

II.1. - Principe adopté :

Notre étude à pour but de déterminer les effets biologiques des métabolites secondaires des feuilles et des fruits de *peganum harmala* L. qui est abondant dans la wilaya de Ghardaïa sur quelque souche microbienne.

II.2.- Choix de la matière végétale :

On fait la récolte de *peganum harmala* L. dans la région de chaab el Nasser (Sebseb) à la cour de la période entre Mars et Avril 2014 (photos 01).



Photos 01 : *Peganum harmala* L. (Originale, 22 /04/2014 à Chaab el Nasser de Sebseb).

II.2.1.- Présentation de la région d'étude :

La ville de Sebseb appartient a la wilaya de Ghardaïa, elle se situé loin de 60 km du locale de la wilaya, loin de la capital d'Algérie de 663km ; délimitée par la ville de Metlili au Nord, la ville de Mansoura au Sud, la ville de Brezina (wilaya d'ELBAYED) a l'ouste et la ville de Ain EL BAIDA (wilaya de Ouargla) en Est.

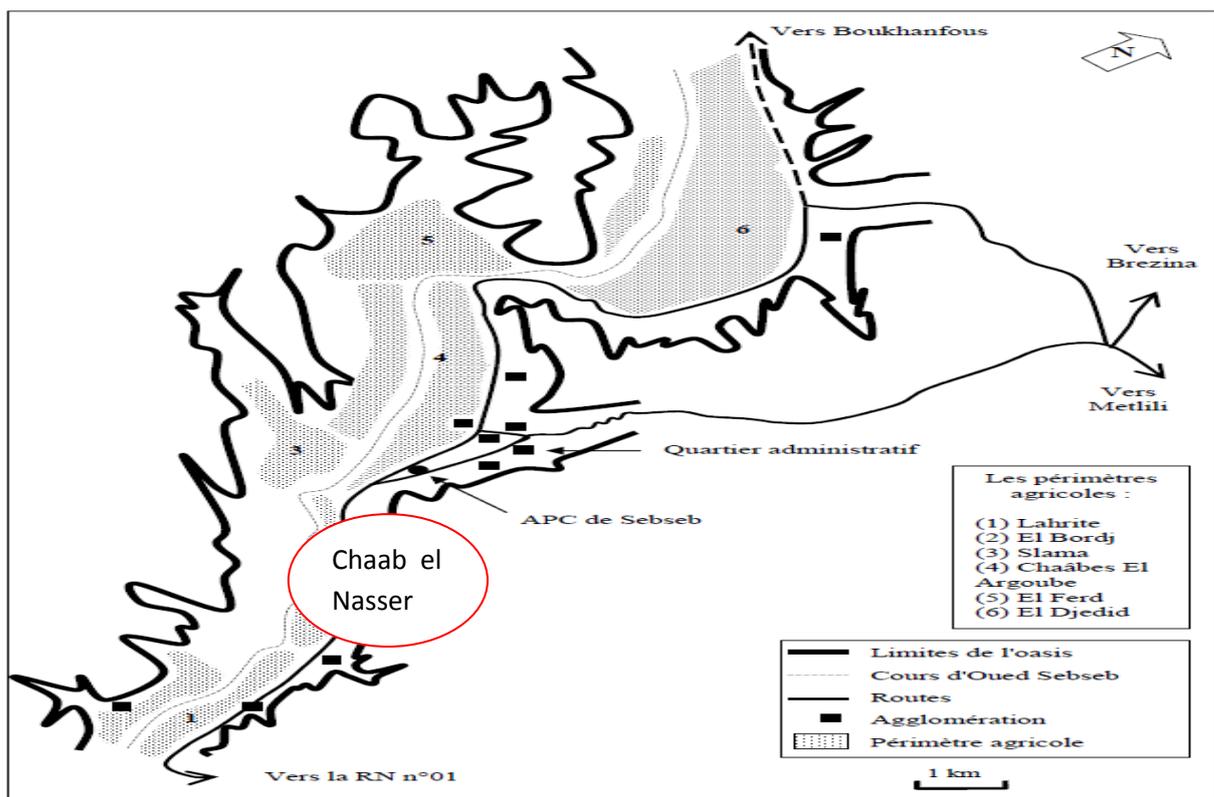


Figure 32 : Carte de l'oasis de Sebseb (HOUICHITI, 2009).

II.2.2.- Classification botanique :

Règne :	Plante
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dieotylédones
Sous classe :	Malvides
Ordre :	Sapindales
Famille :	Nitrariacées
Genre :	<i>Peganum</i>
Espèce :	<i>Peganum harmala</i> L. (REZZAGUI, 2012).

II.3.-Choix de la matière microbienne :

On a réalisé des études (testes biologiques) sur quatre souches bactériennes : *E.coli* (ATCC 10536), *Klebsiella pneumoniae* (CIP 82.91), *Staphylococcus aureus* (CIP 7625), *Pseudomonas aeruginosa* (CIP A22), et une levure : *Candida albicans* (LBSM) et deux champignons : *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium glabrum* (LBSM) qui sont disponibles dans le laboratoire pédagogique de l'Université du Ghardaïa.

II.3.1- Les bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, de petite taille (1 μ de diamètre). Ce sont des cellules Procaryote c'est à dire des cellules qui ne possèdent qu'un seul chromosome et qui sont dépourvu de membrane nucléaire. La bactérie est également dépourvue d'appareil mitotique, n'a pas de mitochondrie, pas de réticulum endoplasmique et pas d'appareil de golgi. Par contre la plupart des bactéries possède un constituant qui leur est spécifique : le peptidoglycane (MARTIN et al., 2003).

II .3.1.1.- *Escherichia coli* :

II .3.1.1.1.- Définition :

E. Coli a été identifié en 1885 par Theodor Esherich, elle est un membre de la famille Enterobacteriaceae - une grande famille de bactéries qui vivent dans l'intestin. Peu de temps après que l'on l'a découvert, c'est devenu un organisme de laboratoire populaire parce que cela pourrait être cultivé rapidement sur des médias différents. *E. coli* peut grandir en présence ou l'absence d'oxygène et est capable d'utiliser des sources différentes de ses besoins alimentaires (Photo 02) (www.microbe.org).



Photo 02 : *E.coli* (www.esther armora / irene gómez).

II .3.1.1.2.- Habitat :

E. coli fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. C'est l'espèce prédominante de la flore fécale humaine aéro-anaérobie. Les urines, les selles, le sang, les pus sont les

prélèvements principaux où *E.coli* peut être retrouvé, sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale (CLAVE, 2012).

II .3.1.1.3.- Position systématiques :

Régne : *Procaryotae*

Domaine : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (GUEZLANE et al., 2008).

II .3.1.1.4.- Pouvoir pathogène chez l'homme :

Bactérie ayant de nombreux facteurs de pathogénicité.

- Infection intestinale.
- Infection urinaire : 80 % des infections urinaires primitives.
- Suppuration à point de départ intestinal : pus appendicite, péritonite, cholécystite
- Septicémie :
 - ✓ Après une infection urinaire ou digestive.
 - ✓ Après « translocation intestinale » chez le sujet neutropénique.
- Méningite néo-natale : *E. coli* K1.
- Autres infections : pulmonaire, ostéoarticulaire

II .3.1.1.5.- Caractères principaux :

- **Caractères morphologiques :**

Bacilles mobiles le plus souvent, Gram -.

- **Caractères culturels :**

Aéro -anaérobies facultatifs, Culture facile sur milieux ordinaires, lactosés.

Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2

à 3 mm de diamètre, Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigals, Colonies naines sur milieux simples (BCP) ou Mueller Hinton. Les colonies sont plus grosses sur gélose au sang. Il s'agit de mutants privant la cellule d'un chaînon biochimique important d'une voie de biosynthèse.

- **Caractères enzymatiques et biochimiques :**

Oxydase -, Catalase +, Glucose +, nitratase +, lactose +, ONPG +, H₂S -, mannitol +, sorbitol + (le plus souvent sauf souches de ECEH, mais pas toutes), indole +, citrate -, VP -, urée -, TDA ou APP -, gélatine -, malonate -, inositol -, adonitol -, LDC variable (90% +), ODC variable, ADH (CLAVE, 2012).

II .3.1.1.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

E. coli sont naturellement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram -.

- **β-lactamines :**

E. coli est classé dans le groupe 1. La résistance acquise résulte de l'évolution vers l'acquisition de pénicillinases, de céphalosporinases. Acquisition d'une carbapénémase : exceptionnellement des souches d'*E. coli* peuvent acquérir une carbapénémase (Les carbapénèmes sont une classe d'antibiotiques appartenant à la famille des β-lactamines et ayant le spectre d'activité antimicrobienne le plus large. Les molécules de cette famille actuellement commercialisées en France sont l'imipénème, l'ertapénème, le méropénème et le doripénème. Les carbapénèmes ont un usage exclusivement hospitalier et sont principalement utilisés dans le traitement des infections à bactéries multirésistantes associées aux soins (BOUTET-DUBOIS et al., 2012).

- **Aminosides :**

E. coli est naturellement sensible aux aminosides. Les variantes à petites colonies sont souvent résistantes aux aminosides.

- **Fluoroquinolones :**

Les quinolones sont actives sur *E. coli*. Le mécanisme de résistance acquise résulte le plus fréquemment d'une modification de cible. Repérer si la souche a un profil sauvage ou de résistance acquise : les entérobactéries de profil sauvage sont S à l'acide nalidixique. (CLAVE, 2012).

II .3.1.2.-*Pseudomonas aeruginosa* :

II .3.1.2.1.- Définition :

Pseudomonas aeruginosa a été isolé pour la première fois en 1882 par Gessard. Il l'a appelé *Bacillus pyocyaneus*. C'est en 1862 que Luke a mis en oeuvre l'implication de *P. aeruginosa* dans des infections chez l'homme. Il a observé des particules de forme circulaire dans un pus de

coloration bleu-vert. La même coloration a été observée par Sedillot. C'est le pigment pyocyanique (la pyocyanine) produit par *P. aeruginosa* qui est à l'origine de cette coloration. La pyocyanine est diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom du bacille ocyanique (Photo 03) (CHAKER, 2012).

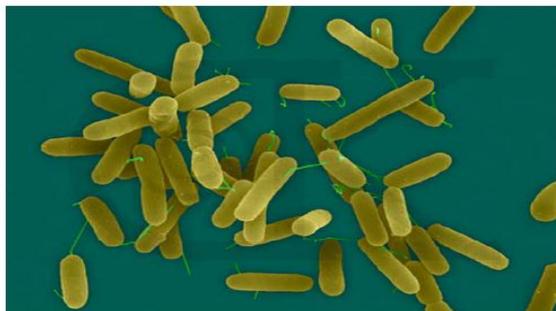


Photo 03: *pseudomonas aeruginosa* (CHAKER, 2012).

II .3. 1.2.2.- Habitat :

P. aeruginosa est largement répandu dans l'environnement. C'est une bactérie ubiquitaire. Elle peut vivre à l'état saprophyte dans l'eau, le sol, les végétaux, les solutions antiseptiques et sur des surfaces inorganiques. Cette bactérie est également présente dans le tube digestif et sur la peau des mammifères. *P. aeruginosa* est très présent en milieu hospitalier et elle est responsable de nombreuses infections nosocomiales (11% des infections nosocomiales). Dans son environnement naturel, *P. aeruginosa* vit sous forme planctonique, mobile ou à l'état sessile dans un bio film, attachée à une surface inerte ou une source de substrat (CHAKER, 2012). En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation (CLAVE, 2011).

II .3.1.2.3.- position systématique :

Domaine :	<i>Eubacteria</i>
Phylum :	<i>Proteobacteria</i>
Classe :	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre :	<i>Pseudomonadales</i>
Famille :	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre :	<i>Pseudomonas</i>
Espèce :	<i>Pseudomonasaeruginosa</i> (DELARRAS, 2007).

II .3.1.2.4.- Pouvoir Pathogène chez l'homme :

P. aeruginosa est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Les infections pourront avoir une origine endogène ou exogène. Dans les infections communautaires, elle est responsable principalement de broncho-pneumopathies évoluant sur un mode chronique dans la mucoviscidose et les affections respiratoires dues à la dilatation des bronches ; d'otites externes, d'endophtalmies après traumatisme, d'infections cutanées dans les ulcères.

Dans les infections nosocomiales, elle est impliquée dans les pneumopathies chez les malades sous respirateur, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéo-articulaires sur matériel (CLAVE, 2011).

II .3.1.2.5.- Caractéristique principaux :

➤ Caractères morphologiques :

Ce sont des bacilles fins à Gram -, non capsulés, mobiles. Au contraste de phase le déplacement des bacilles s'effectue plutôt en ligne droite.

➤ Caractères culturels :

Pas d'exigence nutritive particulière : la pousse est possible sur des milieux non enrichis. L'isolement à partir de prélèvements plurimicrobiens peut être facilité par l'utilisation de milieux sélectifs disponibles dans le commerce ou par l'incubation des milieux à 41°C. Les colonies poussent en 24 heures et sont plates, à bord irrégulier et prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce : il est dû à la combinaison de pyoverdine (pigment jaune vert fluorescent commun aux espèces du groupe *fluorescens*) et à la pyocyanine (pigment bleu spécifique de *P. aeruginosa*). Une odeur aromatique de type seringa est souvent présente. Certaines souches peuvent présenter des caractères différents : leurs colonies sont non pigmentées ou être colorées en brun ou en rouge (dû à la production de pyomélanine ou pyorubrine). Certaines souches se caractérisent par leur aspect mucoïde (souches isolées dans certaines pathologies chroniques : mucoviscidose, dilatation des bronches). D'autres souches peuvent apparaître sous forme de colonies naines et sont plus difficiles à cultiver.

➤ Caractères biochimiques et antigéniques :

L'aspect irisé des colonies et le pigment vert orienteront très vite le diagnostic. La confirmation pourra être apportée de façon minimum par :

- le caractère mobile et gram- des bacilles.
- le caractère aérobic strict.
- une oxydase positive violente (sauf pour les colonies muqueuses).

- la pousse à 41°C.
- la résistance à la kanamycine.

Pour les souches atypiques quant à leurs caractères cultureux, la réalisation d'une identification biochimique pourra être lancée à l'aide de galeries : les caractères principaux sont la production d'une arginine dihydrolase, gélatinase, nitrate réductase et l'assimilation de certains hydrates de carbone comme le glucose (CLAVE, 2011).

II.3.1.2.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

P. aeruginosa est naturellement résistant à de très nombreuses b-lactamines : par une mauvaise perméabilité membranaire, l'existence de mécanismes d'efflux actif et par une production d'une céphalosporinase chromosomique inductible. Ainsi les b-lactamines restant actives sont les carboxypénicillines (ticarcilline), les uréidopénicillines (pipéracilline), certaines céphalosporines (ceftazidime, cefépime), les carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème), les monobactams (aztréonam). *P.aeruginosa* peut acquérir des mécanismes de résistance variés qui sont classés en mécanismes enzymatiques (b-lactamases) et non enzymatiques (CLAVE, 2011).

II .3.1.3.- *Staphylococcus aureus* :

II.3.1.3.1.- Définition :

Famille des *Micrococcaceae*, cocci a Gram positif. Organisation: groupes en amas ayant la forme de grappes de raisin et Principales caractéristiques: immobiles, non sporules, catalase positive et Très résistant dans le milieu extérieur (Photo 04).



Photo 04: *Staphylococcus aureus* (www.answersingenesis.org , medicalab.blogspot.fr).

II .3.1.3.2.- Habitat :

Flore résidente de la peau de l'homme et des animaux .Transitoire dans les autres flores .Principal réservoir = Homme (Animaux), porteur sain 30%, commensal de la peau et des muqueuses de l'homme (rhino-pharynx, intestin, vagin). Contamination des surfaces, air, eau = bacterie ubiquitaire (GROSJEAN et al., 2011).

II .3.1.3.3. Position systématique :

Domaine :	<i>Eubacteria</i>
Phylum :	<i>Firmicutes</i>
Classe :	<i>Bacilli</i>
Ordre :	<i>Bacillales</i>
Famille :	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre :	<i>Staphylococcus</i>
Espèce :	<i>Staphylococcus aureus</i> (BELKACEMI et KASMI, 2010)

II .3.1.3.4.- Pouvoir pathogène :

❖ **Infections suppuratives** : peau, tissu mou, muscle, os, tractus respiratoire, valve cardiaque, tractus urinaire après manœuvre instrumentale, infection sur matériel étranger

❖ **Toxi –infection** : dues à la synthèse de différentes toxines par certaines souches.

-TSST- 1(toxine du choc toxique staphylococcique), exfoliatine responsable du syndrome de la peau ébouillantée,entérotoxine responsables de toxi –infections ou d’entéocolites après sélection d’une souche productrice d’entérotoxines par l’antibiothérapie , leucocidine de Panton -valentine (LPV), responsables d’infection nécrosantes :

Lesions deronecrotiques,pneumopathies nécrosantes communautaires chez les sujets immunocompétents d’évolution sévère(75% de létalité) .Ces souches productrices de LPV sont plus fréquemment isolées en Afrique qu’en Europe :attention aujourd’hui de repérer ces cas cliniques , de faire confirmer la présence de cette toxine ,pour limiter diffusion de ces souches .

Les infections à *S.aureus* résistances à la méticilline (SARM) occupent une place prépondérante dans les infections nosocomiales et font l’objet aujourd’hui de mesures standardisées de detection des porteurs et de prévention (GROSJEAN et al., 2011).

II.3.1.3.5.- Caractères principaux :

Tableau 05 : Présentation des caractères principaux de *Staphylococcus aureus*
(GROSJEAN et al., 2011).

Caractères morphologiques :									
Aspect Gram			Capsule ou Spore		Mobilité		Gram		
Coque en amas			-		-		+		
Caractères culturaux :									
Type respiratoire			Géloses permettant la pousse			Aspect colonies			
Aéro-Anaérobie			Gélose nutritive, au sang, à l'acide nalidixique, Gélose de Chapman			Gélose nutritive, au sang, à l'acide nalidixique, Gélose de Chapman			
Caractères enzymatiques et biochimiques :									
OX	Furane	CAT	Coag libre	DNASE	Coag liée	Polymyxine B	MAN	PYRA	VIP
-	S	+	+	+	+	R	+	-	+

Certaines souches isolées plus particulièrement dans des infections chroniques (pulmonaires au cours de la mucoviscidose , osseuses ,...) ont des colonies plus petites « small colony variant » : la croissance de ces bactéries est altérée , en raison d'une déficience d'une voie de biosynthèse (chaîne respiratoire ou chaîne métabolique) .la difficulté est de reconnaître ces colonies « naines» ,qui poussent plus lentement , qui ne sont pas hémolitiques , qui peuvent être exigeantes en CO₂ et manitol négatives sur Chapman (GROSJEAN et al., 2011).

II .3.1.3.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Les souches sauvages (SASM) sont sensibles aux inhibiteurs de pénicillinases et à la Pénicilline M ainsi qu'à de nombreuses autres familles d'ATB, les SARM concernent près de 20% des souches (www.w3med.univ-lille2.fr).

II .3.1.4.- *Klebsiella pneumoniae* :**II .3.1.4.1.- Définition :**

La *Klebsiella* est une espèce de bactérie dont la plus connue est la *Klebsiella pneumoniae*. La *Klebsiella* est naturellement présente au niveau de certains organes comme le tube digestif ou les

poumons, mais son action est bien contrôlée par l'organisme, d'où l'absence d'infection. A la faveur d'un organisme immunodéprimé c'est-à-dire dont les défenses immunitaires sont diminuées ou d'un autre événement intercurrent, cette bactérie peut devenir « agressive » et être responsable d'angines, d'infections pulmonaires, parfois d'infections urinaires ou d'infections plus généralisées (photo 05) (HORDE, 2014).



Photo 05 : *Klebsiella pneumoniae* (www.mirowikiwau.wikispaces.com).

II .3.1.4.2.- Habitat :

Espèce ubiquiste, isolées des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels (papeteries, minoteries, scieries, usines textiles), du sol, du bois, de végétaux divers et des aliments et également retrouvé dans la flore fécale d'environ 30% des animaux et de l'homme et ils existent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires.

Le portage digestif de *Klebsilla* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale (BELKACEMI et KASMI, 2010).

II .3.1.4.3.- Position systématique :

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Enterobactiales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Klebsiella*

Espèce : *Klebsiella pneumoniae* (DELARRAS, 2007).

II .3.1.4.4.- Pouvoir pathogène :

K. pneumoniae est une espèce ubiquitaire. Elle peut être isolée de l'environnement (sols, eaux de surface, eaux usées, végétaux) ainsi que des flores commensales de l'homme et des animaux. Elle colonise jusqu'à 30% des individus au niveau des muqueuses digestive et nasopharyngée. La colonisation augmente de façon très importante chez les patients hospitalisés. *K. pneumoniae* est à l'origine d'infections communautaires ; elle a été initialement décrite dans des pneumonies nécrosantes (pneumo-bacille de Friedlander) survenant essentiellement sur terrain éthylique. Elle est aujourd'hui surtout reconnue comme responsable d'infections nosocomiales (infections urinaires, intra-abdominales, infections de site opératoire, septicémies, pneumonies) (KASSIS-CHIKHANI, 2012).

II .3.1.4.5. - Caractères principaux :

- Bacille immobile, aéro-anaérobie, à Gram négatif, oxydase négatif, nitrateréductase positif et qui fermente le glucose.
- Fermentation des sucres : glucose+.
- Réduction des nitrates en nitrites : NO₃+.
- Métabolisme du tryptophane en indole : ind-.
- ONPG+.
- Ornithine décarboxylase : ODC-.
- H₂S-.
- Urease+.
- TDA-.
- VP+ (réaction de Voges-Proskauer) (www.chups.jussieu.fr).

II .3.1.4.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Cette souche est résistante (ou intermédiaire) : à toutes les bêta-lactamines y compris C3G, aztréonam, ceftiofime, céfépime, céfoxitine, imipénème et associations avec les inhibiteurs de bêta-lactamase ; à tous les aminosides, y compris isépanmycine ; aux fluoroquinolones ; au cotrimoxazole, chloramphénicol, aux cyclines, à la rifampicine. Elle est normalement sensible à la colistine. La souche initiale était sensible à la fosfomycine mais celle des cas secondaires est résistante à cet antibiotique. Ce phénotype de résistance correspond à l'association d'une bêta-lactamase à spectre étendu et d'un imipénème (JARLIER, 2004). *K. pneumoniae* est naturellement résistant aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une bêta-lactamase de classe

A d'espèce (chromosomique) appelée K2, inhibée par l'acide clavulanique (exemple : *Klebsiella pneumoniae* 1189) (www.chups.jussieu.fr).

II .3.2.- La levure :

Par leur caractère ubiquitaire, les levures se retrouvent présentes à la fois dans le lait et dans les fromages. Elles appartiennent à la flore banale du lait cru avec des teneurs moyennes de 10^4 ufc. mL⁻¹. L'impact des levures sur la production, la qualité et la sécurité des produits alimentaires est intimement lié à leurs activités biologiques. De récentes avancées dans la compréhension de la taxonomie, de l'écologie, de la physiologie, de la biochimie et de la biologie moléculaire des levures ont stimulé l'investigation accrue concernant la compréhension de leur rôle dans les produits alimentaires (MANSOUR, 2009).

II.3.2.1- *Candida albicans* :

II .3.2.1.1.- Définition :

Candida albicans, souvent associé à un champignon microscopique, est un micro-organisme de la famille des levures que l'on retrouve normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. A l'état normal, cette levure vit en harmonie sur les muqueuses de nos organes digestifs, dans notre bouche, notre estomac et nos intestins sans y causer le moindre trouble (photo 06) (ARSENAULT, 2001).

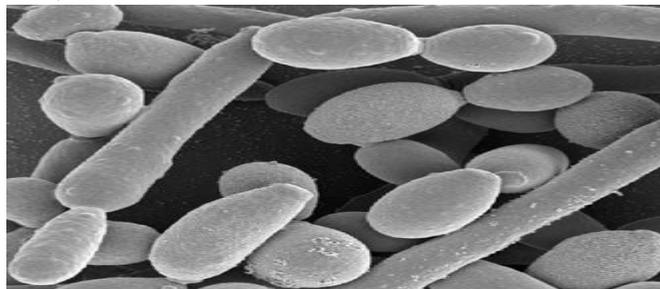


Photo 06 : *Candida albicans* ([www. microbiologia.wordpress.com](http://www.microbiologia.wordpress.com)).

II.3.2.1.2.- Habitat :

Candida albicans est considéré chez l'Homme et les animaux à sang chaud comme un commensal des muqueuses, faisant partie intégrante de la flore microbienne. Au niveau des muqueuses digestives et vaginales, la levure se présente sous forme de blastospores, considérées comme la forme saprophyte qui vit en symbiose avec l'organisme hôte (ODDS, 1988 ; MAVOR, THEWES et al, 2005).

II.3.2.1.3.- Position systématique :

Domaine :	<i>Fongi</i>
Phylum :	<i>Ascomycota</i>
Classe :	<i>Saccharomycetes</i>
Ordre :	<i>Saccharomycetales</i>
Famille :	<i>Sacchromycetaceae</i>
Genre :	<i>Candida</i>
Espèce :	<i>Candida albicans</i> (DELARRAS, 2007).

II .3.2.1.4.- Pouvoir pathogène :

Certains Candidas sont normalement saprophytes des muqueuses (*Candida albicans*) ou de la peau (d'autres espèces) en équilibre compétitif avec la flore bactérienne. Les candidoses superficielles sont généralement induites par une modification locale ou général du terrain qui permet au Candida de se développer : ils deviennent pathogènes et engendrent des lésions de la peau et des muqueuses, plus rarement, elles résultent d'un apport exogène de champignons : contamine vénérien, pour les candidoses génitales, contamination du nouveau-né lors de l'accouchement si la mère et atteinte de la candidose vaginale (KONGO, 2009). Les symptômes reliés à ce déséquilibre sont nombreux. Entre autres, le cerveau peut être affecté par les toxines du candida, causant ainsi des pertes de mémoire, des changements d'humeur et des difficultés de concentration. L'individu devient dépressif, frustré et anxieux. Les cinq sens sont affectés (ARSENAULT, 2001).

II .3.1.1.5.- Caractéristiques principaux :

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (MAGEE et al., 1993), se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastopore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses (GRASER et al, 1996) .

II .3.1.1.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Candidat albicans pathogène sont devenues résistantes à tous les antifongiques actuellement utilisés (BELKACEMI et KASMI, 2010).

II .3.3.- Les champignons :

Sont des eucaryotes, c'est-à-dire des organismes dont les cellules possèdent un noyau distinct contenant le matériel génétique (plusieurs chromosomes formes d'ADN) et limité par une membrane particulière appelée enveloppe nucléaire. La paroi des cellules des mycètes est composée principalement d'une substance appelée chitine. Le règne des mycètes comprend des organismes très variés ; certains peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. Certains gros mycètes pluricellulaires, tels nos champignons comestibles, peuvent ressembler à des plantes mais, contrairement à ces dernières, ils sont incapables de photosynthèse. Les formes unicellulaires des mycètes, nommées levure, sont des microorganismes ovales plus gros que les bactéries .les mycètes pluricellulaires les plus typiques sont les moisissures. Les moisissures forment des masses visibles appelées mycéliums , constituées de longs filaments (hyphes) qui se ramifient et s'entrelacent .Les excroissances ouatées que l'on observe parfois sur le pain et les fruits sont des mycéliums de moisissures .Les mycètes se reproduisent de façon sexuée ou de façon asexuée .Ils se nourrissent en absorbant des solutions de matière organique tirées de leur environnement , qu'il s'agisse de sol , de l'eau de mer , de l'eau douce , d'un animal hôte ou d'une plante hôte (MARTIN et al, 2003).

II.3.3.1.- *Aspergillus ochraceus* :

II.3.3.1.1.- Définition :

Aspergillus est une forme asexuée, Deutéromycète, Hyphomycètes, Hyphales, Moniliacés (Phialosporé-phialides en tête aspergillaire, à phialospores en chaîne). *Aspergillus* section *circumdati*. Espèce mésophile, osmotolérante, présentant une vitesse de croissance moyenne (ATOUI, 2006).

II.3.3.1.2.- Habitat :

Aspergillus ochraceus est fréquent dans les sols, les grains en stockage. Il est couramment présent sur les grains de café, les épices (ATOUI, 2006).

II.3.3.1.3.-Position systématique :

Domaine :	<i>Fungi</i>
Phylum :	<i>Ascomycota</i>
Classe :	<i>Eurotiomycetes</i>
Ordre :	<i>Eurotiales</i>
Famille :	<i>Trichocomaceae</i>
Genre :	<i>Aspergillus</i>
Espèce :	<i>A.ochraceus</i> (www.mycobank.org).

II.3.3.1.4.- Pouvoir pathogène :

Mycotoxine produite par ce champignon : Ochratoxines A, B, et C. *Aspergillus ochraceus* est le principal agent producteur d'OTA dans le café, (les autres sont *A. carbonarius* et des souches de *A. niger*) (ATOUI, 2006). *Aspergillus ochraceus* est un champignon phytopathogène et cosmopolite, largement retrouvé dans le sol et les végétaux en décomposition, il est responsable de la pourriture des pommes, des poires, des raisins. *Aspergillus ochraceus* est rarement pathogène chez l'homme, il peut provoquer de rares onychomycoses. En revanche il peut attaquer certains insectes (vers à soie). L'aspergillose pulmonaire, une maladie grave de l'appareil respiratoire est provoquée par l'inspiration de spores d'*Aspergillus fumigatus* ou *Aspergillus niger*. Celles ci peuvent proliférer dans les conduits d'aération et sont redoutées dans certains services hospitaliers où sont soignés les cancéreux ; chez l'animal, les « aspergilloses » peuvent être à l'origine d'avortements (ROUVIER, 2002).

II .3.3.1.5.- Caractères principaux :

Tête sporifère jaune ochracé est globuleuse, puis dissociée en mèches à maturité. Conidiophore rond rugueux, jusqu'à 1mm de long, pigmenté en jaune ou brun clair. Vésicule globuleuse, hyaline, 35-50 µm, le développement des phialides se fait sur l'ensemble de la tête conidienne. Stérigmates bisériés (parfois unisériés, mais rare). Phialides 7-11 x 2-3,5 µm le plus souvent formées sur des métules. Conidies hyalines et globuleuses, finement rugeuses, 2,5-3 µm (photo 07). Présence fréquente de sclérotes de forme irrégulière blancs puis évoluant vers le rose ou le pourpre (ATOUI, 2006).

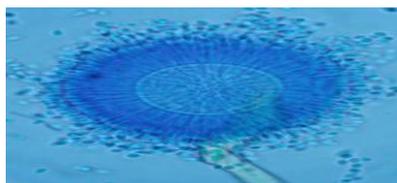


Photo 07 : Tête conidienne d'*A. ochraceus*.

II .3.3.2.- *Penicillium glabrum* :

II .3.3.2.1.- Définition :

Penicillium glabrum est un champignon ubiquiste distribué dans le monde entier. Ce champignon est un fréquent contaminant dans l'industrie de la fabrication de produits alimentaires. Les facteurs environnementaux tels que la température, l'eau activités et le pH ont une grande influence sur le développement du champignon. *Penicillium glabrum* est un champignon ubiquiste et cosmopolite , fréquemment rencontrée dans l'industrie alimentaire de la fabrication , en raison de

sa large présence et son conidiation importante. Ce champignon filamenteux a été préalablement isolé dans une grande variété de produits comme le fromage, le maïs, châtaignes commercialisées, le riz, de la confiture et de l'eau minérale. Pour notre connaissance, ce contaminant fongique ne semble pas produire une mycotoxine connue qui pourrait menacer la sécurité alimentaire et la santé des consommateurs. Néanmoins, aucune précision affirmée ne peut être formulée en raison des différences inhérentes qui pourraient être observées chez plusieurs souches de la même espèce. Malgré sa grande implication dans la contamination des aliments, à notre connaissance, très peu d'études ont été menées pour caractériser les conditions précisément de croissance de cette espèce (photo 08) (NEVAREZ, 2009).



Photo 08: *Penicillium glabrum* (www.nikapli.net/gribok.html).

II .3.3.2.2.- Position systématique :

Domaine :	<i>Fungi</i>
Phylum :	<i>Ascomycota</i>
Classe :	<i>Eurotiomycetes</i>
Sous classe :	<i>Eurotiomycetidae</i>
Ordre :	<i>Eurotiales</i>
Famille :	<i>Trichocomaceae</i>
Genre :	<i>Penicillium</i>
Especie:	<i>p.glabrum</i> (www.mycobank.org).

II.4.- Préparation des extraits végétaux :

Pour la présente étude, il est adopté une méthode d'extraction à reflux pour extraire les métabolismes secondaires des feuilles et des fruits de la plante *peganum harmala* L.

II.4.1.- Extraction à reflux :

L'extraction des métabolites secondaires a été effectuée par extraction à reflux. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau distillée et d'éthanol qui ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées en contact du

paroi refroidi (une surface froide) tout les composés refluent dans le ballon. Les feuilles ou les fruits de la plante *Peganum harmala* L. sont introduits dans un ballon de 1000 ml, avec un rapport d'eau/éthanol égal à V/2V. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs qui traversent un réfrigérant se condensent puis refluent dans ballon. Après, on réalise une étape de filtration puis une évaporation rotatif pour éliminé le solvant. (Photo 09) et (photo 10).

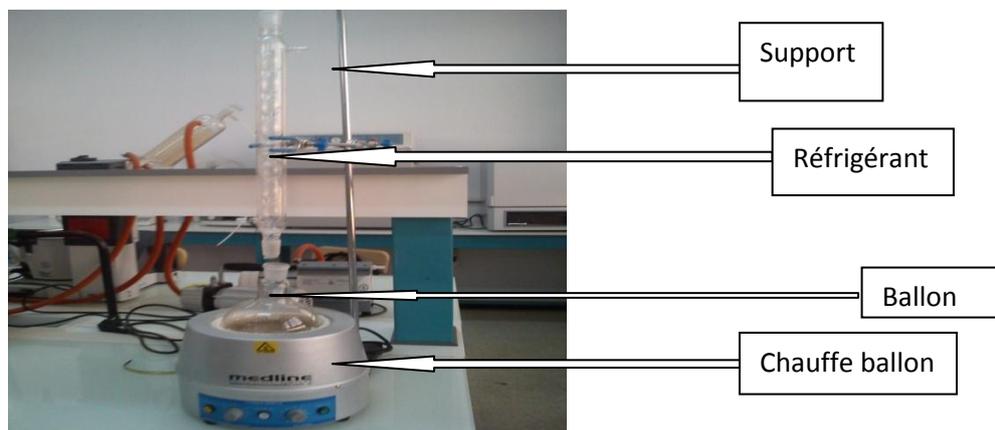


Photo 09 : Montage d'extraction à reflux (originale, 14 mai, 2014).

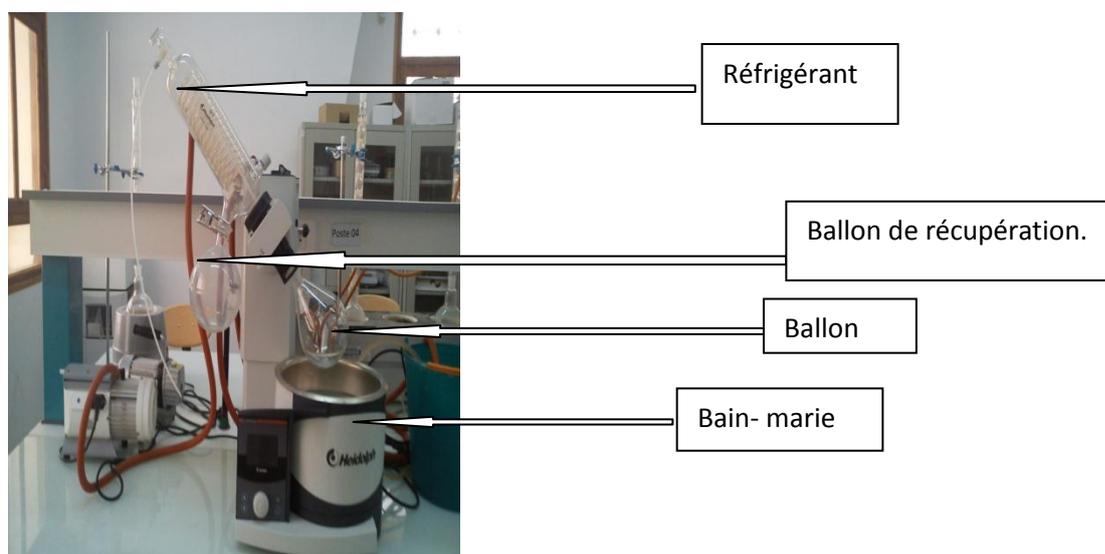


Photo 10 : Montage d'évaporation rotative (originale 14 mai, 2014).

II.4.2.- Tests biologiques :

II.4.2.1.- Etude qualitative de l'effet antimicrobien de l'extrait brut par la méthode de diffusion sur milieu solide :

II.4.2.1.1.- Principe :

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne (l'effet biologique) d'extraits bruts des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L., en présence des germes tests. De ce fait, des disques en papier filtre absorbants stériles, imprégnés de l'extrait test est déposés sur un milieu de Muller Hinton et de Gélose nutritive inoculée avec les souches testées. La diffusion de l'extrait dans le milieu de Muller Hinton et le milieu de gélose nutritive permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition (BELKACEMI et KASMI, 2010).

II.5.- Suivre de l'activité des extraits :

II.5.1.- Préparation de milieu :

Les milieux de cultures sont fondu au bain-marie à 80 C°, en suite sont coulés aseptiquement dans quatorze boites de pétri pour formé des couches 5 mm de l'épaisseur des biotes puis les boites de pétri on laisse refroidis progressivement.



A)Fondre les milieux au bain –marie



B)Remplissage des boites de pétri

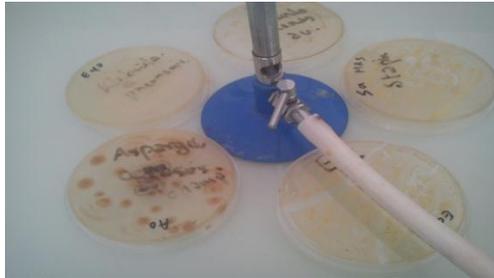


C) Refroidissement de milieu de culture

Photos 11: Etapes de préparation de milieu de culture (Original, 2014)

II.5.2.- Préparation de l'inoculum :

On prélève à l'aide d'une anse de platine une colonie pur et bien isolée de chaque souche de bactérie a testée qu'on décharge dans des tubes à essais contenant 5ml d'eau physiologique stérile (BELKACEMI et KASMI, 2010).



A) Boîtes des germes testés



B) Prélèvement des colonies



C) Décharge les colonies dans un tube



D) Tubes d'enrichissement

Photo 12: Etapes de préparation de l'inoculum (Original, 2014).

II. 5.3.-Ensemencement :

Sur des boîtes contenant le milieu gélosé Muller Hinton sur une épaisseur de 4 mm bien séchées, on introduit 3 à 5ml l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe. L'extrait du liquide est rejeté dans un bac d'eau de javel et les boîtes sont mises à sécher pendant 15 minutes (BELKACEMI et KASMI, 2010).



A) Verser l'inoculum



B) Rejeter l'inoculum



C) Sécher les boîtes inoculées pendant quelques minutes

Photo 13: Etapes d'ensemencement (Originale, 2014).

II.5.4.-Dépôt des disques :

Les disques stériles sont prélevés à l'aide d'une pincettes stérile, puis imbibés avec l'extrait brut (métabolisme secondaire) de feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L., jusqu'à imprégnation total du disque, puis séchés pour faire évaporer le solvant .les disques ainsi traités sont déposés sur la surface de milieu gélosé Muller Hinton inoculée et laissés diffués, puis incubés à 37C° à l'étuve pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heure pour les levures (BELKACEMI et KASMI, 2010).



A) Imbibes les disques



B) Séchage des disques sous une lampe UV



C) Dépôt des disques.

Photo 14 : Etapes de préparation et de dépôt des disques (Original, 2014).

II.5.5.-Analyse d'antibiogramme (Lecture) :

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte, si on a une zone claire autour des disques imprégnés des extraits aqueux des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L., il s'agit d'une activité bactéricide où on a aucune résistance présentée par les bactéries et si on a un ralentissement de croissance des bactéries où quelques colonies sont poussées uniquement il s'agit d'une activité bactériostatique.

Diamètre < 5mm : absence d'activité.

Diamètre entre 5 et 10 : activité faible.

Diamètre entre 10 et 16 : activité moyenne.

Diamètre \geq 16 mm : activité très forte (BELKACEMI et KASMI, 2010).

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1.- Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage du poids net de l'extrait sec par rapport au poids net de matériel végétal soumis à l'extraction. les résultats relatifs au rendement de l'extraction des feuilles est de 17.41 % et des fruits 8.54 % de *Peganum harmala* L. le rendement est calculé par la formule suivante : $R = (P_{ex} / P_v) \times 100$

R = rendement en %.

P_{ex} = poids de l'extrait aqueux en gramme.

P_v = poids de la biomasse végétale en gramme.

Tableau 06 : Le Rendements moyennes des extraits aqueux des feuilles et des fruits :

	Feuilles	Fruits
Rendement d'extraction %	17.41	8.54

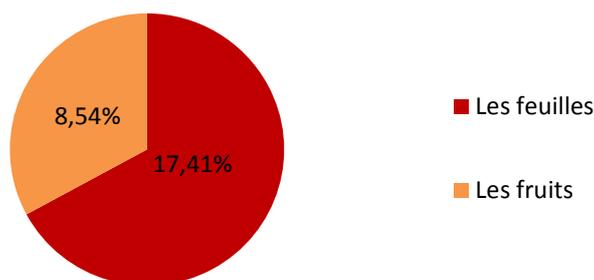


Figure 33 : Rendement d'extraction des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L.

III.2.- Activité antimicrobienne des extraits bruts des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces extraits aqueux des feuilles et des fruits de *peganum harmala* L .en effectuée via l'estimation de la surface de zone d'inhibition , cette dernière est réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose sur des microorganismes pathogènes .Les résultats de l'activités antimicrobienne des extraits aqueux des feuilles et des fruits de *peganum harmala* L. sur 4 souches bactérienne dont : *Escherichia coli* , *klebsiella pneumonie* , *Pseudomonas aeruginosa* , *staphylococcus aureus* , et deux espèces de champignons : *Aspergillus ochraceus* , *Penicillium glabirum* , et un espèce de levure *Candida albicans* . Ainsi les résultats d'études de l'effet des extraits bruts des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L. montrent que l'extrait

aqueux des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L présente des activités antimicrobiennes chez la majorité des microorganismes testés, (tableau 07) (figure 34).

Les résultats ci-dessus concernant l'activité antimicrobienne « in vitro » obtenue, montrent que l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des feuilles et des fruits est différente entre les souches bactériennes et les deux champignons et la levure testés. Donc, les résultats expérimentaux présentés montrent que l'extrait aqueux des feuilles est active sur : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium glabrum* de *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*, ces souches microbiennes se comportent différemment avec des diamètres d'inhibition compris entre 13mm et 19mm avec une activité bactéricide à l'exception de *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* qui présentent une activité bactériostatique. Par contre, les résultats expérimentaux présentés, montrent que l'extrait aqueux des fruits est active sur *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium* avec une activité bactéricide et des diamètres d'inhibition compris entre 7 et 28 mm. Tandis que, elle ne représente aucune activité sur *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'absence d'une zone d'inhibition chez *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) est due préalablement à la résistance de ces deux souches bactériennes.

Tableau 07 : Activité antimicrobiennes des feuilles et des fruits de *Peganum harmala* L.

Les souches bactériennes		L'effet dans la boîte d'extraits des feuilles	L'effet dans la boîte d'extraits des fruits	Zone d'inhibition		Bactériostatique		Bactéricide	
				Boîte Feuilles	Boîte fruits	Boîte Feuilles	Boîte fruits	Boîte feuilles	Boîte Fruits
Bactérie à gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Positif	négatif	16±0.4	0			×	
	<i>Escherichia coli</i>	Positif	positif	16±0.25	7±0.05	×			×
	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	Positif	négatif	16±0.25	0	×	×		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	positif	14±0.26	16±0.38			×	×
Fongi	<i>Candida albicans</i>	Positif	positif	15±1.03	16±0.25			×	×
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Positif	positif	19±1.31	28±0.64			×	×
	<i>Penicillium glabrum</i>	Positif	positif	13±0.83	18±1.25			×	×

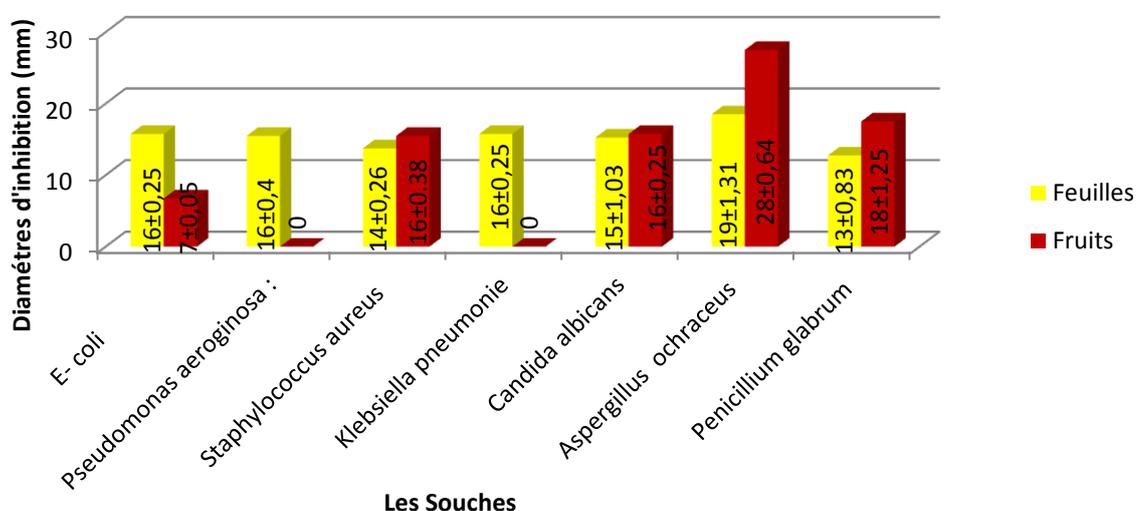


Figure 34 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions (mm).

III.2.1.-*Escherichia coli* :

Cette souche bactérienne montre qu'il y a une zone d'inhibition de $16 \pm 0,25$ mm observée autour d'un disque imbibé d'extrait aqueux des feuilles (photo 15) donc, il s'agit d'une activité moyenne il s'agit d'une activité bactériostatique ; alors que autour d'un disque imbibé d'extrait aqueux des fruits (photo 16) on observe une zone d'inhibition de $7 \pm 0,05$ mm, il s'agit d'une activité faible, donc c'est une activité bactéricide. L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des feuilles est très important par rapport à l'extrait aqueux des fruits.



Photo 15 : Aromatogramme *E. Coli* (l'extrait aqueux des feuilles) (Original, 2014).



Photo 16 : Aromatogramme *E.Coli* (L'extrait aqueux des fruits) (Original, 2014).

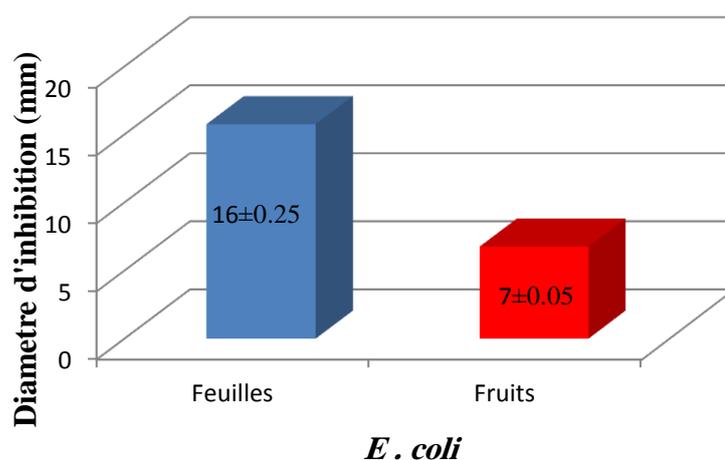


Figure 35 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *Peganum harmala L.* sur *E. coli*.

III.2.2.- *Staphylococcus aureus* :

Concernant cette souche bactérienne, on observe une zone d'inhibition de 14 ± 0.26 mm, autour d'un disque imbibé d'extrait aqueux des feuilles, il s'agit d'une activité bactéricide (photo 17) ; tandis que autour d'un disque imbibé d'extrait aqueux des fruits (photo 18), on remarque une zone d'inhibition de 16 ± 0.38 mm, donc c'est une activité moyenne, il s'agit de la même activité (bactéricide), les deux extraits ont un effet important.



Photo 17 : Arotogramme *S. aureus* (L'extrait aqueux des feuilles) (Original, 2014).



Photo 18 : Arotogramme *S. aureus* (L'extrait aqueux des Fruits) (Original, 2014).

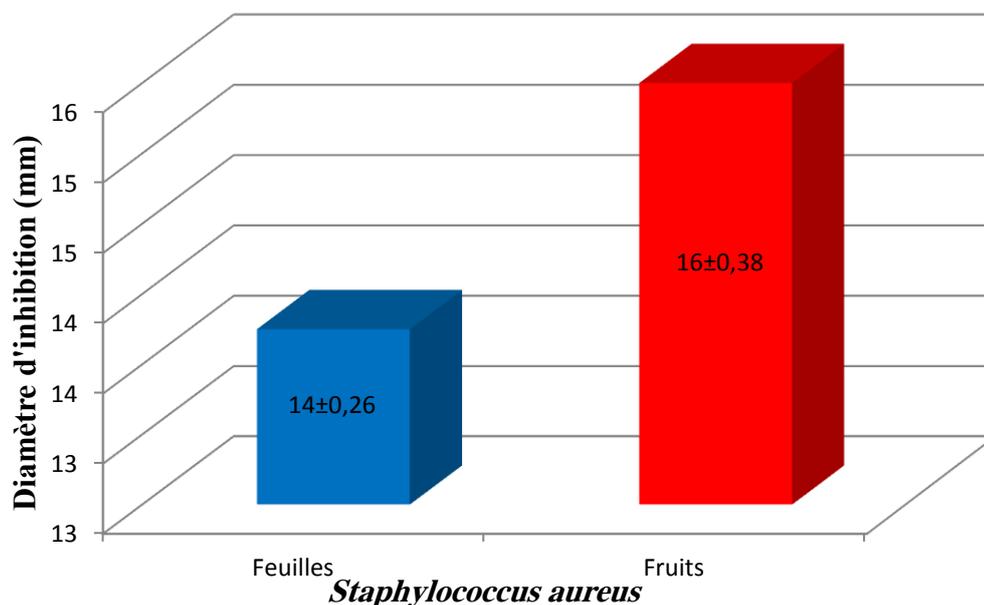


Figure 36 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L* sur *Staphylococcus aureus*.

III.2.3.- *Klebsiella pneumoniae* :

Chez cette souche bactérienne, le disque imbibé d'extrait aqueux des feuilles présente une zone d'inhibition de 16 ± 0.25 mm donc il s'agit d'une activité moyenne c'est une activité bactéricide et le résultat est positif (photo 19), mais aucune activité n'est observée, la croissance bactérienne est dans le normal, des colonies de cette souche sont observée après incubation pendant 24 heures à la présence des disques imprégnés dans l'extrait aqueux des fruits , le résultat est négatif (photo 20), donc l'extraits aqueux des feuilles à un effet important par rapport à l'extrait aqueux des fruits .



Photo 19 : Aromatogramme *K. pneumoniae* (L'extrait aqueux des feuilles) (Original, 2014)



photo 20 : Aromatogramme *K. pneumoniae* (L'extrait aqueux des fruits) (Original, 2014).

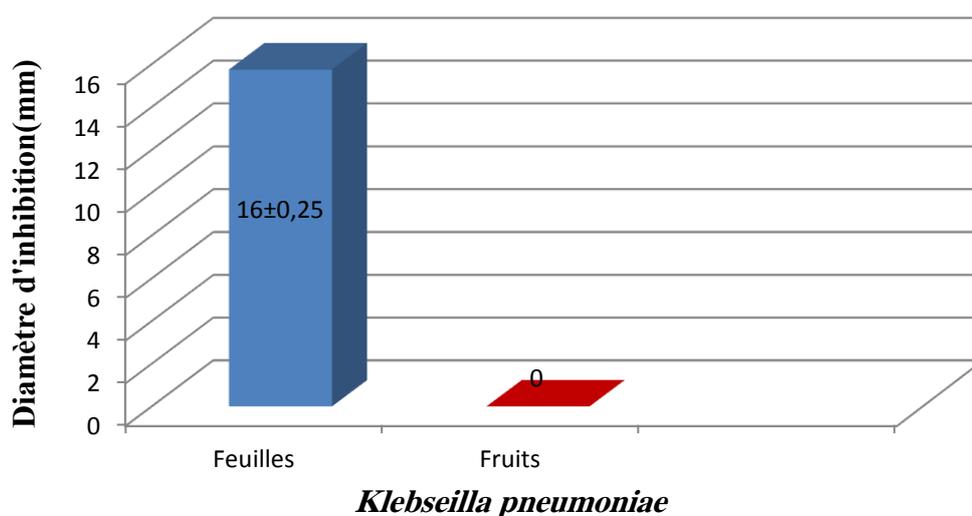


Figure 37 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L* sur *Klebsiella pneumoniae*.

III.2.4.- *Pseudomonas aeruginosa* :

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, on observe une zone d'inhibition de 16 ± 0.4 mm autour des disques imbibés d'extrait aqueux des feuilles (photo 21), il s'agit d'une activité moyenne, c'est une activité bactéricide ; donc, le résultat est positif. tandis que, autour des disques d'extrait aqueux des fruits aucune zone d'inhibition est marquée (photo 22), et le résultat est négatif. l'extrait aqueux des feuilles à un effet important par rapport l'extrait aqueux des fruits.



Photo 21: Aromatogramme *P. aeruginosa* (L'extrait aqueux des feuilles)(Original, 2014).

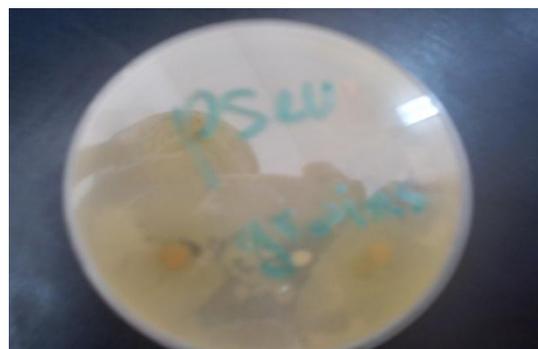


Photo22 : Aromatogramme *P. aeruginosa* (L'extrait aqueux des fruits)(Original, 2014).

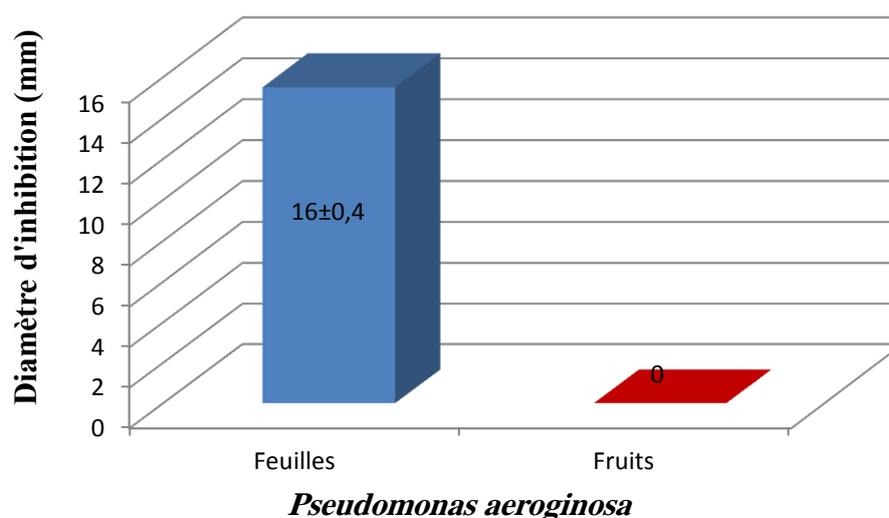


Figure 38 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L.* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

III.2.5.- *Penicillium glabrum* :

Concernant *Penicillium glabrum*, on remarque autour des disques imbibés d'extrait aqueux des feuilles une zone d'inhibition de 13 ± 0.83 mm, il s'agit d'une activité très forte c'est une activité bactéricide, le résultat est positif (photo 23). Alors que, on observe une zone d'inhibition de 18 ± 1.25 mm autour des disques imprégnés d'extrait aqueux des fruits (photo 24). Donc, il s'agit aussi d'une activité très forte (bactéricide), le résultat est positif, l'effet présenté par l'extrait aqueux des fruits est très important par rapport l'extrait aqueux des feuilles.



Photo 23 : Aromatogramme *P. glabrum* (L'extrait aqueux des feuilles)(Original, 2014).



Photo 24: Aromatogramme *P. glabrum* (L'extrait aqueux des fruits) (Original, 2014).

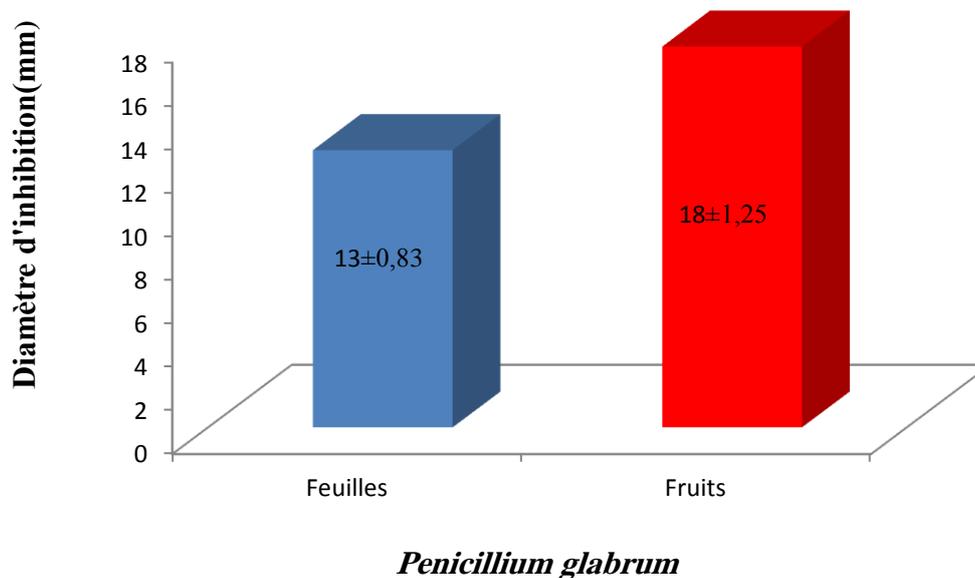


Figure 39 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L* sur *Penicillium glabrum*.

III.2.6.- *Candida albicans* :

Chez *Candida albicans*, on observe une zone d'inhibition de 15 ± 1.03 mm autour des disques imbibés d'extrait aqueux des feuilles (photo 25) il s'agit d'une activité très forte c'est une activité bactéricide , on a aussi une zone d'inhibition de 16 ± 0.25 mm autour des disques imprégnés d'extrait aqueux des fruits (photo 26) , donc il s'agit d'une activité moyenne (bactéricide) , l'effet présenté par l'extrait aqueux des fruits est très important par rapport l'extrait aqueux des feuilles .



Photo 25 : Aromatogramme *C. albicans* (L'extrait aqueux des feuilles) (Original, 2014).

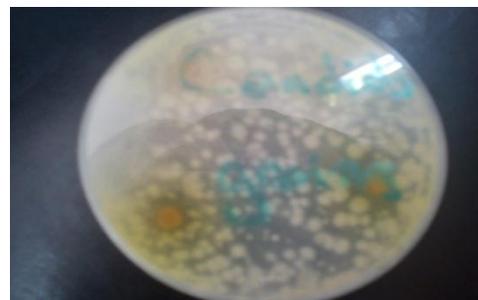


Photo 26 : Aromatogramme *C. albicans* (L'extrait aqueux des fruits) (Original, 2014).

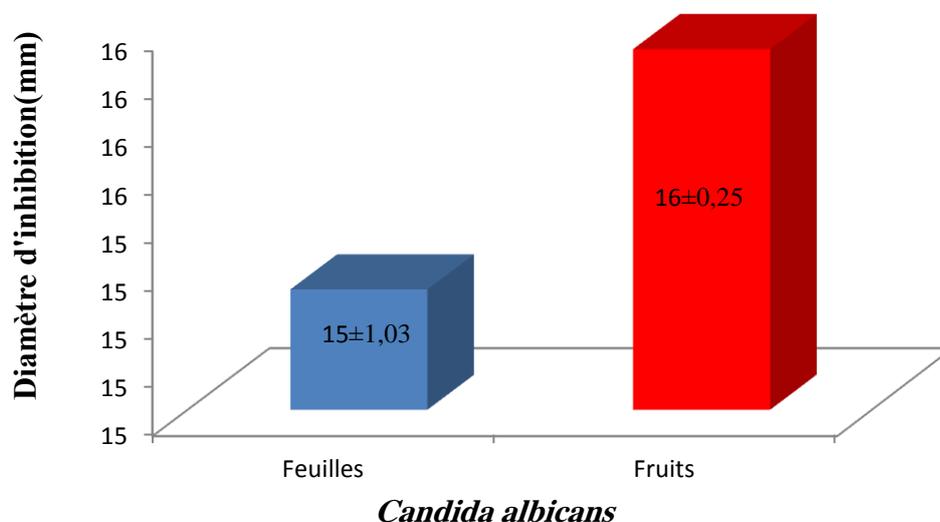


Figure 40 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L* sur *Candida albicans*.

III.2.7.- *Aspergillus ochraseus* :

Pour l'espèce *Aspergillus ochraseus*, on observe une zone d'inhibition autour des disques imprégnés d'extrait aqueux des feuilles de 19 ± 1.31 mm, il s'agit d'une activité bactéricide (photo 27), mais on a remarqué autour des disques imprégnés d'extrait aqueux des fruits une zone d'inhibition de 28 ± 0.64 mm (photo 28); donc, il s'agit d'une activité très forte (bactéricide), l'effet présenté par l'extrait aqueux des fruits est très important par rapport à l'extrait aqueux des feuilles.



Photo 27 : Aromatogramme *A. ochraseus* (L'extrait aqueux des feuilles) (Original, 2014).



Photo 28 : Aromatogramme *A. ochraseus* (L'extrait aqueux des fruits) (Original, 2014).

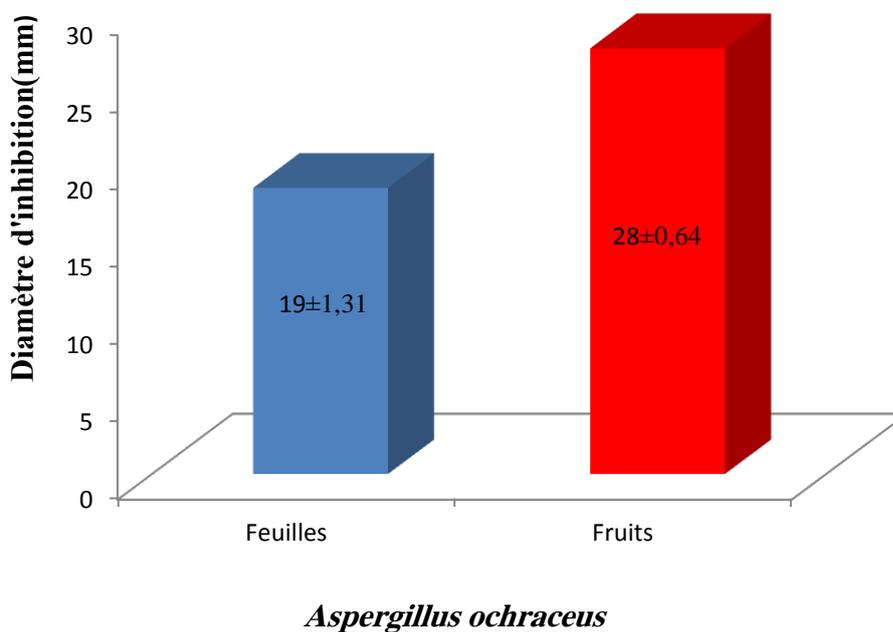


Figure 41 : Effet de l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *peganum harmala L* sur *Aspergillus ochraceus*.

Une bactérie est dite résistance lorsque qu'elle supporte une concentration d'antibiotique nettement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce (RAMDANI BOUGUESSA et al., 2010).

Selon ARSHAD et al., (2007) l'extraits des graines de *Peganum harmala L*.ont été fréquemment rapportés ou ils possèdent un potentiel antibactérien grâce à des études in vitro.

Ainsi selon DARABPOUR et al., 2011 ,Parmi les parties évaluées de *P. harmala* (la racine, la tige, la feuille, la fleur et le grain) ; la racine et l'extraits de grain ont présenté une activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées même à la concentration la plus basse. L'effet antibactérien d'une partie de la feuille était modéré tandis que la tige et l'extrait de fleur ont montré une activité relativement pauvre (faible).

Selon BELKACEMI et KASMI 2010, montrent qu'aucune activité antimicrobienne n'est constatée pour l'extrait brut à l'acétone, par contre l'extrait éthanolique exerce une faible activité inhibitrice sur cette souche bactérienne où il est noté une zone d'inhibition de 8 mm de diamètre.

Pseudomonas aeruginosa présente une sensibilité très marquée vis –à-vis de l'action inhibitrice de ces deux extraits foliés bruts de capparispinosa. Le diamètre de zone d'inhibition observé est de l'ordre de 19 mm et 20 mm pour l'extrait foliaire à l'acétone et à l'éthanol respectivement. Concernant *Staphylococcus aureus*, cette souche manifeste une certaine résistance à l'action de l'extrait acétonique, aucune activité inhibitrice n'est observée, par contre, elle est moyennement sensible à l'action de l'extrait éthanolique, une zone d'inhibition de 7 mm de diamètre est constatée, mais *Candida albicans* est moyennement sensible à l'action de l'extrait éthanolique, le diamètre de la zone d'inhibition est de 13 mm, par contre aucune activité n'est signalée pour l'extrait acétonique.

Ainsi, selon KONAN KOUADIO et al., 2013, montre que l'extrait éthanolique 70 % de *Clerodendrum splendens* (G. Don) (verbenaceae) a une activité bactériostatique sur *E. coli*.

Selon BOUNECHADA et ARAB, 2011, montrent que l'extrait méthanolique de *Peganum harmala* est très réputé pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes surtout au niveau des fruits et des racines. Il est à signaler que les graines mûres sont plus riches en alcaloïdes par rapport aux immatures. Le pouvoir toxique de *Peganum harmala* serait dû à la présence des alcaloïdes indoliques de type β -carbolines (la harmine, harmaline et harmol), qui ont été identifiés dans les extraits alcooliques des feuilles de *Peganum harmala* L.

CONCLUSION

CONCLUSION

Au cours de ce travail, il est étudié l'activité biologiques de *Peganum harmala* L. Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle. Nous avons tenté de contribuer à une étude de son activité antimicrobienne.

Le rendement d'extrait aqueux des feuilles est 17.41 %. Tandis que, le rendement d'extrait aqueux des fruits est de 8.54 %. Le maximum d'inhibition est observé chez *Aspergillus ochraseus* avec un diamètre d'inhibition égale à 19 ± 1.31 mm pour l'extrait aqueux des feuilles et un diamètre d'inhibition égale à 28 ± 0.64 mm pour l'extrait aqueux des fruits. L'activité minimale est remarquée chez *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre égale à 16 ± 0.25 mm pour l'extrait aqueux des feuilles mais aucune activité n'est constatée pour l'extrait aqueux des fruits. L'activité antimicrobienne est importante chez la majorité des souches étudiées, avec un diamètre d'inhibition égale à 16 ± 0.25 mm pour *E. coli*, de 14 ± 0.26 mm pour *Staphylococcus aureus*, 16 ± 0.4 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*, 15 ± 1.03 mm pour *Candida albicans*, et de 13 ± 0.83 mm pour *Penicillium glabrum*; concernant l'extrait aqueux des feuilles. On a obtenus des diamètres d'inhibition égale à 7 ± 0.05 mm pour *E.coli*, 16 ± 0.38 mm pour *Staphylococcus aureus*, 16 ± 0.25 mm pour *Candida albicans*, et de 18 ± 1.25 mm pour *Penicillium glabrum*. Par contre les souches *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis l'extrait aqueux des fruits.

Il semble que l'espèce *Aspergillus ochraseus* présente le minimum de résistance à l'effet d'extrait aqueux des fruits de *Peganum harmala* L. et les deux espèces *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* présentent la maximum résistance à l'effet toxique de l'extrait aqueux des fruits.

Donc, d'après ces résultats, les deux extraits aqueux des fruits et des feuilles de *Peganum harmala* L. qui ont obtenus par la méthode d'extraction à reflux possèdent un effet biologique sur la majorité des souches microbiennes étudiées.

Pour mieux étudier l'activité biologique des deux extraits aqueux de cette plante, il faut élargir le nombre des souches testées.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

AITFELLA R ,2012 -Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de *Peganum harmala* ,*Retama sphaerocarpa* et grains de pollen . P 103.

ARSENAULT C, 2001-Malaises et maladies« Le candida albicans », *Contact Autisme*.

ARSHAD N , NEUBAUER C, HASNAIN S , HESS M, 2007-
Peganum harmala Can Minimize *Escherichia coli* Infection in Poultry, but Long-Term Feeding May Induce Side Effects . P 240- 249.

ATOUI A K, 2006- Approche de la mycotoxinogénèse chez *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius* : études moléculaire et physiologique.

BEKHECHI C, ABDELOUAHID D ,2010-les huiles essentielles Edition : p 1.04.5145.Office des Publications Universitaires .p 55.

BELGUIDOUM M ,2012-Une approche photochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*.

BELKACEMI E et KASMI N, 2010-Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brut de *Capparis spinosa* L. (coparidaceae),université de Kasdi Merbah.Ouargla .P 52 .

BELLEBCIR L ,2008-Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales.

BOUFAGHES B, MHERIGUE M, 2010 - Effet antimicrobien des extraits phénoliques du miel, UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA.

BOUNECHADA M et ARAB R,2011-Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae) Agronomie numéro 1 – 2011, P 4.

BOUTET-DUBOIS A, PANTEL A, SOTTO A, LAVIGNE J, 2012- Les entérobactéries productrices de carbapénémases, INSERM U 1047, UFR de Médecine, Université Montpellier 1, Laboratoire de Bactériologie et Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carémeau, Nîmes. P 1-5.

BOUZIANE N ,2012 -Toxicité comparée des extraits d'Euphorbia guyoniana Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). P 72.

BRELIERE B, CERRATO M, MARTINEZ A, ROMOLI V, 2009- MICROBIOLOGIE, les savoirs en situation. p 16.

CHAKER H ,2012- Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane.

CHEHMA A, 2006 - Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien ; Université KASDI MERBAH, OUARGLA, laboratoire de recherche : « Protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides », ISBN 9947-0-1312-x , P 136.

CHIBUIKE C, VANU R, ROTIMI E, and PETER J, 2008, Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy, International Life Sciences Institute. P 646.

CLAVE D ,2011- Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse Fiche technique _ Bactériologie 111.

CLAVE D ,2012- Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie.

DARABPOUR E, POSHTKOUHIAN BAVI A , MOTAMEDI H, MANSOUR S, NEJAD S, 2011 - antibacterial activity of different parts of *peganum harmala* L. growing in iran against multi-drug resistant bacteria. P 252- 263.

DELARRAS C ,2007 -Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôles sanitaire .Lavoisier, ISBN : 987 -2-7430.

DELILLE L A ,2009-LES PLANTES MEDICINALES D'ALGERIE, 2^{eme} édition 16300 DELY IBRAHIM ALGER. P 142.

DONATIEN K ,2009 - enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de poly phénols : étude de leur activité antioxydant. P 188.

FIRMESSE, 2007- LA MICROBIOLOGIE POUR LES NULS, SEMINAIRE SIMPFRI, ESPACE VOLCAN, ST GENES CHAMPANELLE).

GRASER Y, VOLOVSEK, M, ARRINGTON J , SCHONIAN G , PRESBER W., MITCHELL T G and VILGALYS R , 1996- Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proc Natl Acad Sci U S A*.93: 12473.

GROSJEAN J, CLAVE .D, ARCHAMBAUD.M., PASQUIER .C ,2011-Bactériologie et virologie pratique 2eme édition, p73-74.

GUEZLANE, TEBIBELN, KAHLUCHEB, ATHMANI, GUEMOURIS, 2008- Microbiologie Travaux pratiques ,3^{ème} édition corrigée.

HORDE P ,2014 - de Sante-Médecine (sante-medecine.commentcamarche.net).

HOUICHITI R ,2009- Caractérisation d'un agro système saharien dans une perspective de développement durable : Cas de l'Oasis de SEBSEB (Wilaya de GHARDAIA). p 04.

JARLIER V, CARBONNE A, ASTAGNEAU P (C.CLIN Paris-Nord), COIGNARD B (InVS), 2004 - Cas groupés d'infections à *Klebsiella pneumoniae* résistante à toutes les bêta-lactamines y compris à l'imipénème en région parisienne. Note d'information technique InVS/RAISIN aux responsables des C.CLIN et coordinateurs des réseaux BMR. P 9.

KASSIS-CHIKHANI N, 2012- *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PATHOGENE NOSOCOMIAL RESISTANCE ET VIRULENCE, THESE DE DOCTORAT.

KONAN KOUADIO F, GUESSENND K, KARAMOKO O, BAH C, ADAMA C, DOSSO M,2013 – Action antibactérienne de l'extrait éthanolique 70 % de *Clerodendrum splendens* (G.Don) (Verbenaceae) sur des souches bactériennes isolées de selles chez des enfants diarrhéiques.

KONGO, 2009- Evaluation in vitro des pouvoirs antifongique des extraits de feuille de papayer sur des souches de *Candida albicans*. L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS 6.

MANSOUR S ,2009- Etude de la levure *yarrowia lipolytica* dans un ecosysteme fromager par une approche transcriptomique , travail réalisé à : agro paris tech, inra, umr782 génie et microbiologie des procédés alimentaires f-78850 thiverval-grignon. P 218.

MARTIN L, TORTORA G, FUNKE B R, CASE C, 2003- INTRODUCTION A LA MICROBIOLOGIE, Bibliothèque nationale du CANADA, 2^e trimestre.

MAVOR A L, THEWES S and HUBE B, 2005- Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Curr Drug Targets* . 6: 863-874.

MERGHEM R ,2009- professeur. Université Mentouri Constantine, Département Biochimie /Microbiologie ; Eléments de BIOCHIMIE VEGETALE, Bahaeddine 1^{ère} Edition, Algérie P 95-103.

MIDOUN T ,2010-extraction des composés phénoliques et étude leurs activités antioxydants par le voltamètre cyclique. P 69.

NEVAREZ L ,VASSEUR V, MADEC A, SOUTIENS-GORGE MA , COROLLER L , LEGUERINEL I , BARBIER G ,2009- Physiological traits of *Penicillium glabrum* strain LCP 08.5568, a filamentous fungus isolated from bottled aromatised mineral ,water. -Université

Européenne de Bretagne, France. P 1- 17.

ODDS J C, 1988- *Candida and candidosis*.

RAHAL S ,2009-Chimie des produits naturels et des êtres vivants, 2ème Edition : 1.03.4644. Office des Publications Universitaires, Place central- Ben-Aknoun-ALGER. P162.

RAMDANI BOUGUESSA N, SEGHIER M, BELOUNI R, BENSLIMANI A, 2010, Manuel de microbiologie à l'usage des étudiants en 3^{ème} année de médecine .p 277.

REZZAGUI A ,2012-évaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydant des différents extraits des graines de *peganum harmala* L. , une perspective de développement durable : Cas de l'Oasis de SEBSEB (Wilaya de GHARDAIA). P 90.

ROUVIER M ,2002- L'OCHRATOXINE A : NATURE, ORIGINE ET TOXICITE, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse. P 30 – 33.

A. www.agrobio-rennes.com..

B. www.agrobio-rennes.com).

C. www.chem.qmul.ac.uk/iupac/lignan.

D. www.defant@science.unitn.it

E. www.mycobank.org.

F. www.microbe.org .

G. www.estherarmora.com / [irene gómez](http://www.irenegomez.com).

H. www.answersingenesis.org

I. www.medicalab.blogspot.fr.

J. www.w3med.univ-lille2.fr

K. www.mirowikiwau.wikispaces.com.

L. www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.9.html.

M. www.microbiologia.wordpress.com.

N. www.nikapli.net/gribok.html.

ANNEXES

ANNEXE

*** Matériels de laboratoire :**

Tableau 08 : Matériels et produits utilisés dans le laboratoire.

Matériels	Produits
Bain marie, Ance de Platine, Boite de Petrie Ballon , Becher , Fiole , Eprouvette , une pince, Papier filtre , Agitateur magnétique , bec benzène , Coupant de disque , Etuve , la hotte , Autoclave , une balance de précision pour peser , Spatule , Papier aluminium , Flacon , Tubes a essai , Montage de l'extraction à reflux , Montage d'évaporation rotative .	Muller Hinton, Gélose nutritive, Eau distillée, Eau physiologique, Eau de javel, Ethanol.

1-Préparation de milieu de culture utilisé : Gélose nutritive (Réactif) :

1-1-Produits chimiques :

- Peptone.
- Extrait de viande.
- Na Cl.
- Agar –agar.

1-2-Mode opératoire :

- Peser 05 g de peptone dans un bécher de 500 ml.
- Ajouter 2.5 g d'extrait de viande de 2.5 g de Na Cl.
- Dissoudre les ingrédients l'un après l'autre dans 500 ml d'eau distillée avec un léger chauffage sous agitation constant.
- Ajuster le PH à 7.2.
- Ajouter 10 g d'Agar –agar.
- Verser l'extrait dans des flacons.
- Porter les flacons pour stériliser par l'autoclave pendant 20 min à 120 C°.

2-Préparation de milieu de culture utilisé : Muller Hinton gélose :

2-1-Produits chimique :

Pour 400 ml :

- Extrait de levure : 4g
- Extrait de malate : 1.6 g.
- Glucose : 1.6 g.
- Agar : 7g.

2-1-Mode opératoire :

Dans un flacon de 400 ml on mélange 1.6 g d'extrait de malate et glucose et 4 g d'extrait de levure puis on remplit avec l'eau distillée , il faut homogénéiser puis mesurer PH de ce milieu et on ajoute Na OH 0.1 N Jusqu'à PH =7.2 puis on ajoute 7 g de poudre de Agar et mélanger le milieu et en fin on met le milieu dans un autoclave pour la stérilisation durant 2 heure.