

Université Kasdi Merbah-Ouargla
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master Académique**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Ecologie et Environnement
Spécialité : Ecologie Végétale et Environnement
Présenté par : CHADOU Sara et MERIZIG Salsabil

Thème

**Comparaison des tests antioxydants et
antimicrobiens de *Lawsonia inermis* L. (Le Henné)
de la région d'El Oued et de la région d'Ouargla**

Soutenu publiquement le :

.../06/2023

Devant le jury :

M ^r BOUAL Zakaria	Pr.	Président	U.K.M. Ouargla
M ^{me} ANNOU Ghania	M.C.B	Examinatrice	U.K.M. Ouargla
M ^{me} ALOUI Nabiha	M.C.B	Promotrice	U.K.M. Ouargla

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

*Nous remercions s'adressent à Allah de nous avoir donné
la force et*

la volonté pour réaliser ce travail.

*On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre
encadreuse Dr, Aloui Nabihah d'avoir accepté de nous
encadrer, de nous soutenir et de nous encourager ainsi que de
la confiance qu'elle nous accorde à travers ce travail. Nous
remercions chaleureusement tous les membres du jury : nos
professeurs Mr Boual Zakaria et Mme Annou ghania , Nous
tenons à remercier un grand merci également le Dr Mesai
Mohammed Ahmed dans le nouveau pôle universitaire pour
son aide et ses précieuses conseils ainsi que nos remerciements
également Professeur Segni Ladjal directeur de laboratoire
Génie des procédés d'avoir mis à notre disposition tous les
moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail. Nous
exprimons également nos profondes reconnaissances et nos
respects à Madame Meflah Sihem, responsable du laboratoire
Génie des procédés.*

*Nos vifs remerciements à toutes les personnes qui ont
contribué à la réalisation de ce mémoire.*



Dédicaces



**Je dédie ce travail Pour mon trésor pour
ma perle précieuse pour c'elle qui ma tous
donner et qui a été la raison de mon être
c'est pour ma chère mère Saliha**

**Pour mon cher père Fathi qui à été
toujours à mes coté et qui m'a soutenu tout
le long de ma vie.**

**Je dédie se travail aussi à la lumière de
mes yeux a mes frères El Hassan, El
Houssin, Hamza, Ibrahim et Ismail.**

A mes chères tantes et grand-mère.

**A mes fidèles amies Salsabil, Salma, Aya et
Sabrina.**

Sara

Dédicaces



**Je dédie ce modeste travail à ceux
qu'Allah a recommandés à ceux qui me
sont chers; à ma mère qui m'a
encouragé et à mon père qui m'a
soutenu tout au long de mon parcours
scolaire**

**À mes chers frères Mohemed El amine
et Ibrahim, mes sœurs Hiziya, Hayet et
fatima et maroua, la femme de mon
frère.**

**A ceux qui m'ont enseigné, Mes
distingués professeurs et à tous mes
famille et amis.**

Salsabil

Liste des figures

Figure 01 : Description botanique de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	01
Figure 02 : Localisation de <i>Lawsonia inermis</i> L. dans le monde.....	05
Figure 03 : Jeunes feuilles de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	06
Figure 04 : Schéma de la transformation de la fleur fécondée en fruits.....	07
Figure 05 : Fruits de <i>Lawsonia inermis</i> L.	07
Figure 06 : Localisation de la Wilaya d’Ouargla	13
Figure 07 : Probabilité de précipitation quotidienne à Ouargla.....	15
Figure 08 : Localisation de la Wilaya d’El Oued.....	16
Figure 09 : Rendement des extractions par les solvants utilisés.....	29
Figure 10 : Courbe de Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de <i>Lawsonia inermis</i> L. d’Ouargla.....	33
Figure 11 : Courbe de Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de <i>Lawsonia inermis</i> L. d’El Oued....	34

Liste des photos

Photo 01 : Broyage de henné.....	19
Photo 02 : Etapes de l'extraction par macération à froids.....	21
Photo 03 : Concentration sous pression réduite au rota-vapeur à 40°C.....	22
Photo 04 : Résultats de la concentration sous rota-vapeur.....	22
Photo 05 : La solution de DPPH.....	23
Photo 06 : Préparation des milieux de culture.....	26
Photo 07 : Préparation de la suspension bactérienne.....	26
Photo 08 : Ensemencement des souches bactériennes choisies.....	27
Photo 09 : Répartition des disques.....	27
Photo 10 : L'incubation des milieux bactérienne.....	27
Photo 11 : Les résultats de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'Ouargla.....	31
Photo 12 : Les résultats de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'El Oued.....	31
Photo 13 : Résultat de l'activité antibactérienne de <i>Lawsonia inermis</i> L (henné) sur <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Photo 14 : Résultat de l'activité antibactérienne de <i>Lawsonia inermis</i> L. (henné) sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Photo 15 : Résultat de l'activité antifongique de <i>Lawsonia inermis</i> L. (henné) sur <i>Aspergillus brasiliensis</i>	38

Liste des Tableaux

- Tableau 01** : Classification botanique de *Lawsonia inermis* L.03
- Tableau 02** : Les utilisations médicinales traditionnelles de diverses parties de la plante *Lawsonia inermis* L. dans différents pays du monde.....09
- Tableau 03** : Données climatiques de la région d'Ouargla. Période 2014-2021....14
- Tableau 04** : Valeurs climatiques moyennes et totales annuelles de la Wilaya d'El Oued.....17
- Tableau 05** : Les concentrations d'inhibition de l'extrait du *Lawsonia inermis* L. d'Ouargla.....32
- Tableau 06** : Les concentrations d'inhibition de l'extrait du *Lawsonia inermis* L. d'El Oued.....32
- Tableau 07** : Résultats de l'effet des extraits de *Lawsonia inermis* L. (henné) sur les souches.....39

Liste des abréviations

NADPH : Nicotinamide d'Adénine Dinucléotide Phosphate

DPPH : 2_2_ diphényl'1_picrylhydrazin

RL : Radicaux Libres

DL50 : Dose létale médiane

μl : Microlitre

Nm : nanomètre

RE : Rendement

IC50 : Concentration d'inhibition à 50%.

I% : Pourcentage d'inhibition

L. inermis L. : *Lawsonia inermis L.*

OMS : Organisation Mondiale de Santé

ONM : Office National de Météorologie

CRAPC : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques.

ROS : Espèce réactive d'Oxygène.

ATCC : American Type Culture Collection.

Table des Matières

Remerciements

Dédicaces

Liste de figures

Liste de photos

Liste de tableaux

Liste des abréviations

Résumés

Introduction.....	1
I.Généralité sur la plante <i>Lawsonia inermis</i> L. (le Henné).....	3
I .1 Présentation.....	3
I .2 Classification botanique.....	3
I .3 Description morphologique.....	4
I .4 Origine et répartition géographique.....	5
I .5 Composition chimique de <i>Lawsonia inermis</i> L.	5
I .5 .1 Les feuilles.....	5
I .5 .2 Les tiges.....	6
I .5 .3 Les fruits.....	6
I .5.4 Les racines.....	7
I .6 Utilisation de <i>Lawsonia inermis</i> L.	7
I .7 Activité pharmacologique de <i>Lawsonia inermis</i> L. (henné).....	8
I .7.1 Effets thérapeutiques de <i>Lawsonia inermis</i> L. (henné) en médecine traditionnelle.....	8
I .7.2 Effets thérapeutiques de <i>Lawsonia inermis</i> L. en médecine moderne.....	10
I .7.2.1.Activité antioxydant.....	10
I .7.2.2. Effet antimicrobien de <i>Lawsonia inermis</i> L.	11
I .8. Toxicité.....	11
II.Cadre géographique et géologique des régions d'étude.....	13
II.1 Situation géographique de la région du Ouargla.....	13
II .1.1 Paramètres climatiques de la région du Ouargla.....	14
II .1.1.1 Précipitation.....	14
II .1.1.2 Température.....	15
II .1.1.3 Vents.....	15
II .2 Situation géographique de la région d'El Oued.....	16

II .2.1 Paramètres climatiques de la région de l'El Oued.....	17
II .2.1.1 Précipitations.....	18
II .2.1.2 Températures.....	18
II .2.1.3 Vents.....	18
III.Matériel et méthodes.....	19
III.1 Matériel végétal.....	19
III .1.1 Echantillonnage.....	19
III .1.2 Technique de séchage.....	19
III .1.3 Extraction.....	20
III .1.3.1. Préparation des extraits.....	20
III .2 Détermination des rendements d'extraction.....	22
III .2 .1 Activité antioxydant.....	23
III .2 .1.1 Principe.....	23
III .2 .1.2 Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode du DPPH.....	23
III .2 .1.3 Protocole expérimental.....	24
III .3 Activité antimicrobienne.....	25
III .3.1 Les Souches bactériennes utilisées.....	25
III .3.2 Les souches antifongiques utilisées.....	25
III .3.3 L'évaluation de l'activité antibactérienne.....	25
III .3.4 Le mode opératoire de l'activité antimicrobienne.....	25
a)Préparation des milieux de culture.....	25
b)Préparation des disques.....	26
c)Préparation de la suspension bactérienne.....	26
d)Méthode de culture.....	26
e)Répartition des disques.....	27
F) processus d'incubation.....	27
III .3.5 Lecture des résultats.....	28
III.Résultat et discussions.....	29
IV.1 Rendement de l'extraction.....	29
IV.1.1 Résultat de rendement de l'extraction.....	29
IV.1.2 Discussion du rendement d'extraction.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.2 Détermination et comparaison de l'activité antioxydant.....	30
IV.2.1 Evaluation de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'Ouargla et El Oued.....	30
IV.2.2 Discussion de l'activité antioxydant.....	34

IV.3 Détermination et comparaison de l'activité antimicrobienne	36
IV.3.1 Résultat de l'activité antimicrobienne	36
IV.3.2 Discussion de l'activité antibactérienne	38
IV.3.3 Discussion de l'activité antifongique	40
IV.4 Effets environnementaux	41
Conclusion	42
References bibliographiques	45

مقارنة بين اختبارات مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات لـ *Lawsonia inermis* L. (الحناء) من منطقة الواد ومنطقة ورقلة

الملخص:

يتمتع العالم بثروة غنية من النباتات الطبية لأن المنتجات النباتية ومكوناتها النشطة تلعب دورا مهما في الحياة في هذا السياق ارتكز عملنا على مقارنة النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات من نبات الحناء «لا وسونيا اينارميس». جنوب شرق الجزائر. تم تنفيذ استخراج المكونات الطبيعية لأوراق النبات في منطقتين مختلفتين (ورقلة والوادي) بطريقة النقع البارد. تم إجراء اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستعمال DPPH والنشاط المضاد للميكروبات مقابل سلالتين بكتيريتين *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* وسلالة فطرية *Aspergillus brasiliensis*.

أظهرت النتائج أن محصول المستخلصات الخام من نبات الحناء من الوادي أعطى عائدا 14,76% أكثر من مستخلص نبات ورقلة الذي أعطى 10,06%، كما أن هاته المستخلصات تكشف عن إمكاناتها المضادة للأكسدة بشكل قوي بواسطة DPPH حيث تحصلنا على قيمة $IC_{50} = 0,08 \text{mg/ml}$ بمنطقة ورقلة و $0,09 \text{mg/ml}$ بمنطقة الوادي بالنسبة للمستخلصات الإيثانولية. في حين لم نحصل على قدرة تثبيطية ضد البكتيريا والفطريات. إن نتائج هذه الدراسة تبرر الاستخدام التقليدي لمستخلص "لاوسونيا اينارميس" في معالجة الأمراض ومنه فإن الضرورة تستدعي حماية هذه النبتة وترقيتها.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات، ورقلة، الوادي، نبات الحناء، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة

Comparaison des tests antioxydants et antimicrobiens de *Lawsonia inermis* L. (Le Henné) de la région d'El Oued et de la région d'Ouargla

Résumé :

Le monde est riche en plantes médicinales car les produits végétaux et leurs composants actifs jouent un rôle important dans la vie. Dans ce cadre, notre travail s'est basé sur la comparaison de l'activité antioxydant et de l'activité antimicrobienne de la plante *Lawsonia inermis* L. Sud-est algérien. Des composants naturels des feuilles de la plante ont été réalisés dans deux régions différentes (Ouargla et El Oued) par la méthode du macération à froid. Le test d'activité antioxydant a été réalisé à utiliser de DPPH et de l'activité antimicrobienne contre deux souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* et une souche fongique *Aspergillus brasiliensis*.

Les résultats ont montré que le rendement des extraits bruts de la plante de henné de El Oued donnait un rendement de 14.76% plus que l'extrait de la plante de Ouargla qui donnait 10.06%, et ces extraits révèlent leur fort potentiel antioxydant en DPPH, où nous avons obtenu une valeur de $IC_{50} = 0,08 \text{mg/ml}$ dans la région d'Ouargla et $0,09 \text{mg/ml}$ dans la région d'El Oued pour les extraits éthanologiques, alors qu'il n'a pas obtenu de capacité inhibitrice contre les bactéries et les champignons. Les résultats de cette étude justifient l'utilisation traditionnelle de l'extrait de « *Lawsonia inermis* L. » dans le traitement des maladies, d'où la nécessité de protéger et de promouvoir cette plante.

Mots clés : Extraits, Ouargla-Oued, *Lawsonia inermis*, activité antimicrobienne, activité antioxydant.

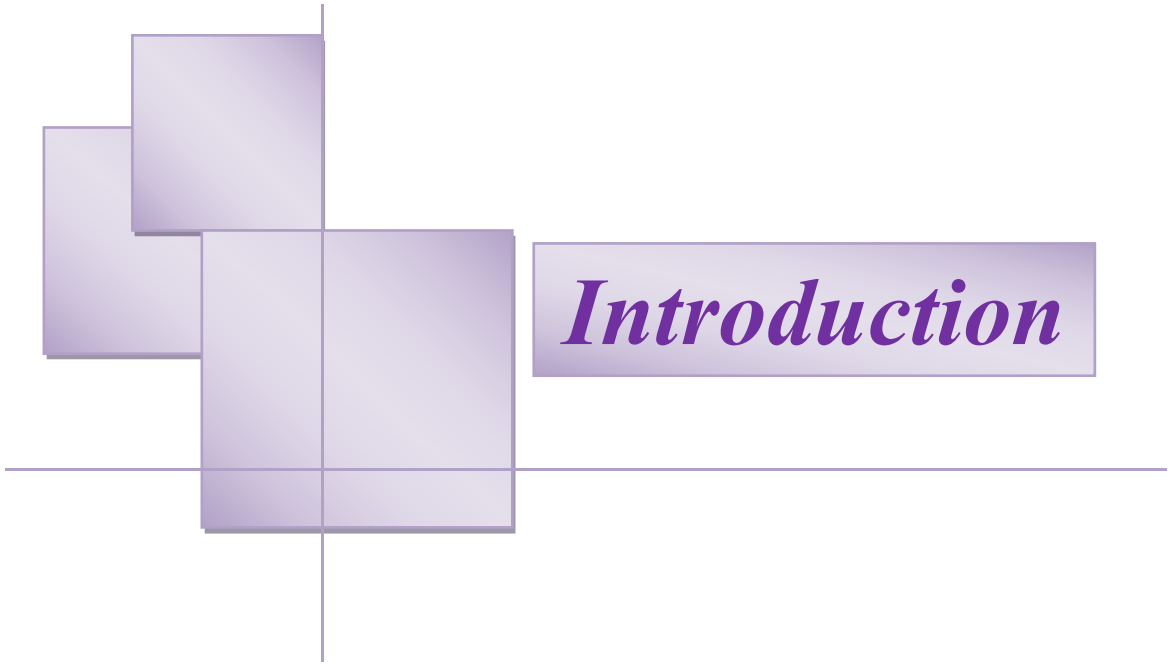
Comparison of antioxidant and antimicrobial tests of *Lawsonia inermis* L. (Henna) from the region of El Oued and the region of Ouargla

Abstract:

The world is rich in medicinal plants because plant products and their active ingredients play an important role in life. In this context, our work was based on the comparison of the antioxidant activity and the antimicrobial activity of the plant *Lawsonia inermis* L. Southeastern Algeria. Natural components of the leaves of the plant was carried out in two different regions (Ouargla and El Oued) by the method of cold maceration. The antioxidant activity test was carried out using DPPH and antimicrobial activity against two bacterial strains *Peusdomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* and a fungal strain *Aspergillus brasiliensis*.

The results showed that the yield of raw extracts from the henna plant of the El Oued gave a yield of 14.76% more than the extract from the Ouargla plant which gave 10.06%, and these extracts reveal their strong antioxidant potential in DPPH, where we obtained a value of $IC_{50} = 0.08 \text{mg/ml}$ in the region of Ouargla and 0.09mg/ml in the region of El Oued for the ethanolic extracts, while we did not obtain any inhibitory capacity against bacteria and fungi. The results of this study justify the traditional use of the extract of "*Lawsonia inermis* L." in the treatment of diseases, hence the need to protect and promote this plant.

Keywords: extracts, Ouargla-Oued, *Lawsonia inermis* L., antimicrobial activity, antioxidant activity



Introduction



Introduction

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé (Mpondo et al., 2012) En Afrique du nord 5000 espèces et sous-espèces ont des vertus médicinales (Sijelmassi , 1991). En Tunisie, plus de 25% des espèces de la flore locale sont reconnues comme étant des espèces à vertus médicinales et aromatiques (Nabli ,1991). Parmi ces plantes médicinales, le henné (*Lawsonia inermis L*), un genre monotypique de la famille des Lythracées (Wong et Theng ,1995). En Tunisie, les feuilles sèches du henné sont utilisées pour orner les mains et les paumes des pieds et la teinture des cheveux (Makhija et al., 2011). Il est également employé en compresse contre l'eczéma, les furoncles, les abcès, les mycoses, les ulcères, les hémorragies et les fissures des pieds... (Maatoug ,1990). Elle est considérée comme un médicament puissant pour l'infection d'herpès et la blennorragie et utile dans le traitement d'hystérie et des troubles nerveux (Chetty ,2008).

La médecine traditionnelle, en particulier l'utilisation de plantes médicinales, joue encore un rôle vital pour couvrir les besoins sanitaires de base dans les pays en développement. Il est donc très intéressant d'effectuer un criblage de ces plantes afin de valider leur utilisation dans la médecine populaire et de révéler le principe actif par l'isolement et la caractérisation de leurs constituants (Ali et al., 1999 ; Mostefa-Kara et al., 2010 ; Rahmoun et al., 2010), un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les infections microbiennes, en particulier dans les zones rurales de l'Algérie où la médecine populaire traditionnelle reste une source majeure pour guérir les affections mineures. Jusqu'à présent, très peu de recherches ont été effectuées pour étudier ces plantes médicinales traditionnelles (El-Fiky et al., 1995).

Dans la médecine traditionnelle des Arabes et des Indiens, des préparations à base de feuilles et de la racine du henné sont utilisées pour déclencher l'accouchement. Une décoction à base de feuilles et de racines de la plante est efficace contre certaines formes de diarrhée. Les vertus thérapeutiques des essences aromatiques sont connues depuis l'antiquité ; cependant l'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir des plantes aromatiques et médicinales n'a augmenté que durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement (Pitchaon et coll ,2007), Plusieurs études antérieures ont été menées sur les produits (Jain et al., 2010) et sur les activités biologiques de *Lawsonia inermis L*. (Zumrutdal et al., 2008).

Le Henné est caractérisé par une large gamme des composés photochimiques y compris les glucides, les glucosides, les composés phénoliques, des dérivés naphthoquinones, des terpénoïdes, des stéroles, des coumarines, et bien d'autres constituants (**Chaudhary et al., 2010 ; Makhija et al., 2011**). L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires (**Enneb et al., 2015**).

Dans ce contexte, nous disons que le but de notre travail actuel est de comparer l'activité antioxydant et l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *Lawsonia inermis L.* cultivées dans la région d'Ouargla et une autre dans la région d'El Oued.

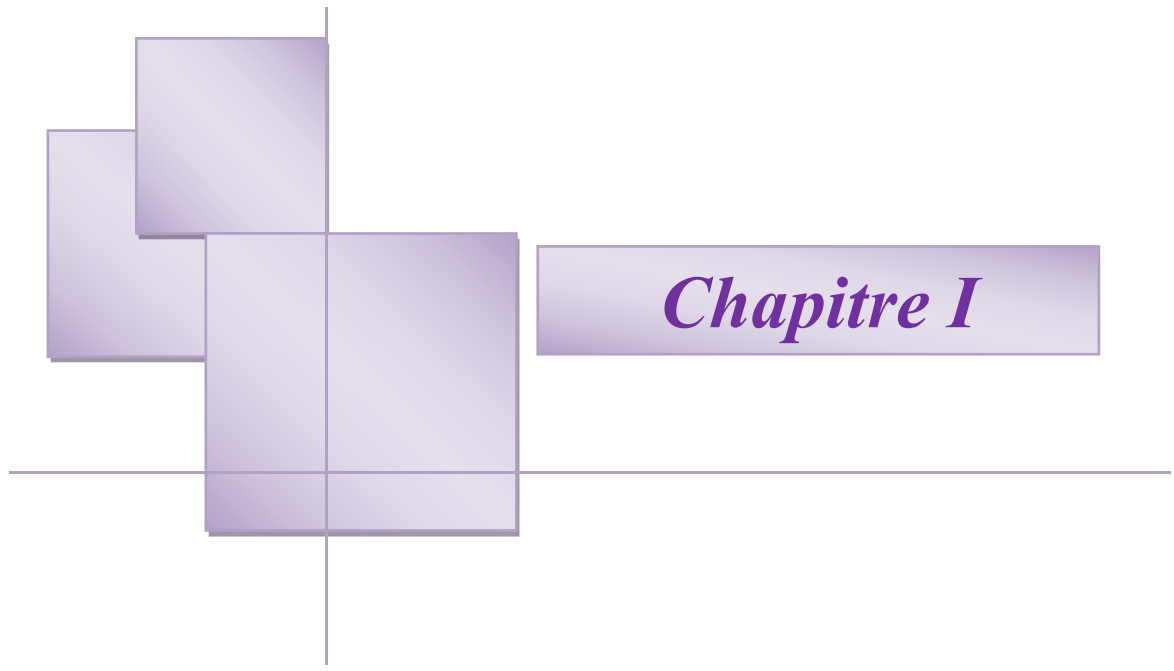
Pour ce faire notre travail se répartit en quatre chapitres qui sont comme suit :

Le premier chapitre comprend la partie bibliographique ;

Deuxième chapitre est consacré à la présentation de la région ;

Troisième chapitre est destiné au matériels et méthodes ;

Et en fin nous terminons ce modeste travail par les résultats et une discussion suivis par une conclusion et des perspectives.



Chapitre I

La plante
Lawsonia inermis L.



Promotion 2023

I. Généralité sur la plante *Lawsonia inermis* L. (le Henné)

I.1 Présentation

Plante de la famille des Lythracées Cette dernière est connue pour sa possession d'un potentiel colorant important (Orwa C et al., 2009). Elle est cultivée sous le nom de Henné en Afrique du Nord, au Moyen- Orient et en Inde occupant une aire partant de l'Afrique de l'Ouest jusqu'en Asie du sud-est. La plante est retrouvée sur tout type de sol cependant elle tolère mal les sols alcalin, elle pousse principalement le long des cours d'eau et dans les régions semi-arides et a besoin de températures élevées pour sa germination ; le henné est largement utilisé pour la médecine traditionnelle et prophétique en Afrique, Asie et Moyen-Orient (Tauheed AM et al.,2016).

I.2 Classification botanique

Le henné appartient à la famille des Lythracées, ordre des Myrtales. En botanique *Lawsonia inermis* L. est classée comme suit voir tableau 01 :

Tableau 01 : Classification botanique de *Lawsonia inermis* L. :(S. Yadav et al., 2013)

Kingdom	Plantae
Division	Angiosperms
Range	Eukaryotes
Class	Dicotyledonae
Sub-classe	Archichlamydeae
Order	Myrtales
Family	Lythraceae
Genus	Lawsonia
Species	<i>Lawsonia inermis</i> L.

I.3 Description morphologique

Lawsonia inermis L. (le henné) est un arbuste ou petit arbre fortement ramifié, glabre, atteignant 6 m de haut, à écorce marron-grise. Ses feuilles opposées décussées, simples et entières, sont presque sessiles à stipules minuscules ; limbe elliptique à oblong ou largement lancéolé ; inflorescence : panicule terminale de grande taille, pyramidale, atteignant 25 cm de long, à nombreuses fleurs bisexuées régulières et odorantes. Son fruit est une capsule globuleuse de 4-8 mm de diamètre, violet-vert, indéhiscence ou s'ouvrant irrégulièrement, contenant de nombreuses graines longues de 2-3 mm, à tégument épais (Chauhan et Pillai, 2007 ; Jallad, 2008) (figure 01).

Arbuste de *Lawsonia inermis* L.

Feuilles



Fleurs

Fruit



Poudre des feuilles séchées

Figure 01 : Description botanique de *Lawsonia inermis* L. (Kadiatou malle, 2011)

I.4 Origine et répartition géographique

En effet, la région d'origine du *Lawsonia inermis L.* (le henné) correspond à la savane tropicale et aux régions arides originaire de l'Inde ou de l'Afrique de l'Est ; le henné est naturalisée principalement dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, de l'Afrique et de l'Australie, d'où sortent les meilleures qualités tinctoriales quand il est cultivé dans les températures comprises entre 35°C et 45°C. (Akoègninou et al., 2006 ; Musa et Gasmelseed ,2012 ; Philippe, 2013).

La poudre de ses feuilles, appelé également henné, a été largement diffusé en Europe depuis 1890 (El Babili et al., 2013), actuellement elle est l'objet d'un commerce intense entre l'Afrique du nord, l'Inde et l'Europe (Botineau ,2010) (figure 02).

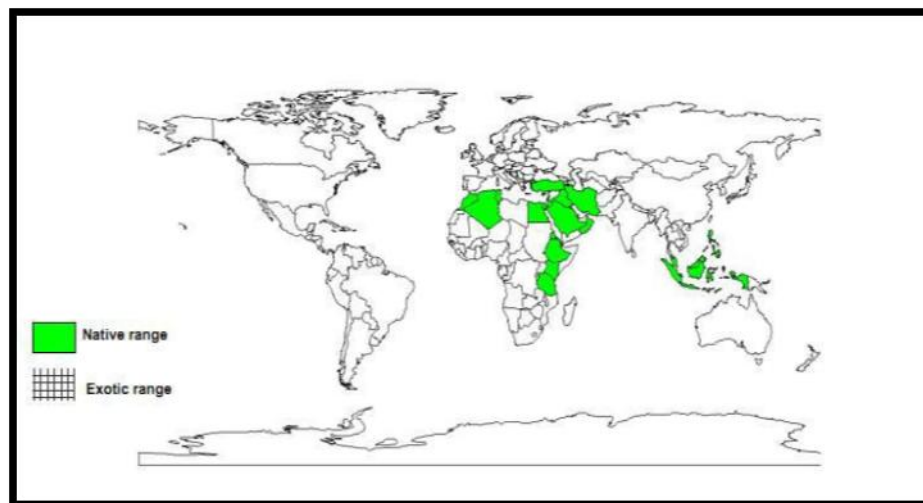


Figure 02 : Localisation de *Lawsonia inermis L.* dans le monde (Orwa C et al., 2009)

I.5 Composition chimique de *Lawsonia inermis L.*

I.5.1 Les feuilles

La phytochimie des feuilles de Henné a été largement étudiée. Déjà en 1920 la structure chimique de la Lawson : $C_{10}H_6O_3$ ou 2 hydroxy 1,4 naphthoquinones et son activité tinctoriale ont été découvertes (El Babili et al., 2013), la Lawsonsone qui représente le principe actif le plus important des pigments flavoniques, et surtout naphthoquinoniques (196 environ), a la forme d'un glucoside et représente un taux de 0.5 à 1 % de la composition des feuilles (Goetz et Busser, 2007), elle se forme par hydrolyse enzymatique des glycosides (hennosides A, B et C) et auto oxydation de l'aglycone libéré. Cette substance cristallise en

aiguilles rouge orangé, sublimables, très peu solubles dans l'eau froide, plus solubles à chaud, solubles dans les solvants organiques, et dans les solutions aqueuses alcalines en donnant une coloration rouge orangé (Nakhala *et al.*, 1980) (figure 02).



Figure 03 : Jeunes feuilles de *Lawsonia inermis* L.

I .5 .2 Les tiges

Les tiges de la plante renferment différentes substances complexes. Il a été rapporté que l'écorce de la plante contient des dérivés naphthoquinoniques tels que : la 2-méthyl - 8-hydroxy- 1,4-naphthoquinone .En plus, deux triterpènes pentacycliques ont été isolés à partir de l'écorce et identifiés comme étant le 3,13,30- dihydroxylupane (hennadiol) et le (20S) 3,13,30-dihydroxylupane (Gupta, 1993).

I .5 .3 Les fruits

Les fleurs donnent une huile essentielle. Les graines contiennent 5.6 % d'une huile fixe renfermant 10.5 % de cire et d'insaponifiable, 37.7 % d'acides solides avec une matière colorante. Les acides de cette huile sont les acides béhénique (1.69 %), arachidique (9.6 %), stéarique (15.78 %), palmitique (9.07 %), oléique (34.66 %), et linoléique (29.31 %). La distillation des graines à la vapeur d'eau conduit à l'obtention de 0.01 à 0.02 % d'huile essentielle brune formées à 90 % d'ionone (Paris et Moyse, 1965). Des coumarines et des xanthonnes sont aussi présents (Bruneton, 1993) (Figure 04 et 05).

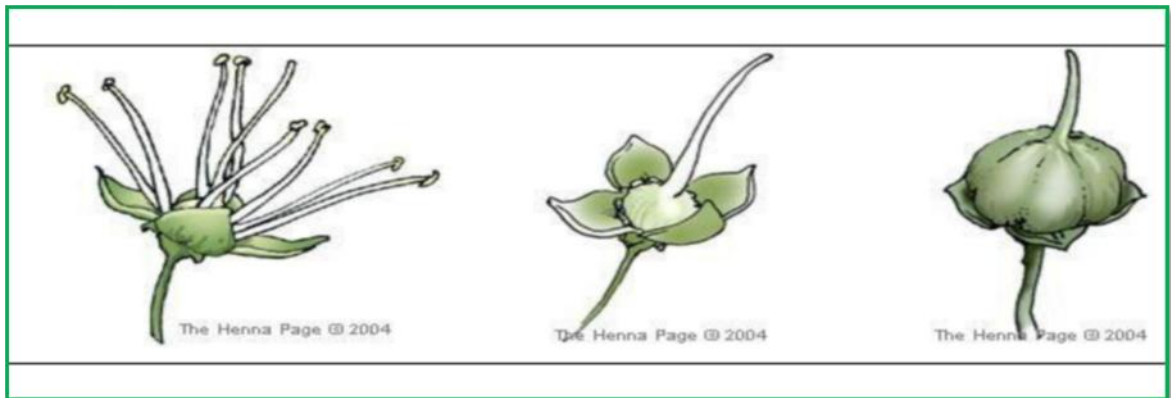


Figure 04 : Schéma de la transformation de la fleur fécondée en fruits
(Hettab benhassane, H, 2018).



Figure 05 : Fruits de *Lawsonia inermis* L.

I .5.4 Les racines

Des études phytochimiques basées sur des analyses spectrales et des réactions chimiques effectuées sur les racines de la plante *Lawsonia inermis* L. ont permis de mettre en évidence un stérol. Ce dernier, nommé lawsaritol, fut isolé à partir de l'extrait alcoolique. Sa structure est : 24β -éthylcholestest-4-en-3B-ol (Gupta et al., 1992).

I .6 Utilisation de *Lawsonia inermis* L.

Le henné (*Lawsonia inermis* L.) a été employé de manière esthétique et médicinal pendant plus de 9.000 années. *Lawsonia inermis* L. (henné) est un agent populaire de coloration de peau et de cheveux dans beaucoup de régions du monde. Sa racine est considérée une médecine efficace pour l'infection de gonorrhée et d'herpès. C'est une plante médicinale traditionnellement employée par divers groupes de personnes (Leva et Amarb, 2008 ; Marc et al., 2008 ; Gbolade , 2009). *Lawsonia inermis* L. est employés en tant

qu'antirheumatic et agent antineuralgic (**Marc et al., 2008**), et également comme un potentiel antidiabétique (**Gbolade, 2009**). En outre, le traitement avec l'extrait hydro alcoolique de *Lawsonia inermis L.* (in vivo) a été prouvé et les niveaux d'enzymes antioxydants cellulaires ont augmenté telles que la glutathion réductase, superoxide dismutase et catalase (**Dasgupta et al., 2003**).

I.7 Activité pharmacologique de *Lawsonia inermis L.* (henné)

I.7.1 Effets thérapeutiques de *Lawsonia inermis L.* (henné) en médecine traditionnelle

La plante était utilisée dans les temps anciens et est toujours utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, et tableau (02) explique Les utilisations médicinales traditionnelles de diverses parties de la plante *Lawsonia inermis L.* dans différents pays du monde (**Cherbi ,2017**)

Tableau 02 : Les utilisations médicinales traditionnelles de diverses parties de la plante *Lawsonia inermis L.* dans différents pays du monde

Pays	Usages médicinaux traditionnels	pièce occasion	mode d'emploi	References
Algérie	- maladies de la peau	- poudre de feuilles	- Utilisation topique	/
Africa	- Provoquer un avortement	- thé préparée à toutes les parties de la plante	- Par la Bouche	(Perinet et al., 2011)
Indie	- Jaunisse et troubles hépatiques - la teigne et les maladies de la peau	- thé préparée à partir de la racine - poudre de feuilles	- Par la Bouche - Utilisation topique	(Sharma et al., 2012) (Ponnusamy et al., 2010 ; Kamaraj et al., 2012)
jordanie	- Anti-rhumatismes et Antidouleurs nerveuses	- Les feuilles	- Utilisation topique	(Marc et al., 2008)
Nigeria	- la trypanosomose	- Les feuilles	- Par la Bouche	(Atawodi et al., 2002 ; Okpekon et al., 2004)
Pakistan	- Diurétique et purificateur de sang Maladies de la peau telles que rougeurs des mains et des pieds. - La jaunisse	- thé préparée de feuilles - Pâte de feuilles	- Par la Bouche - Utilisation topique	(Iqbal et al., 2011) (Iqbal et al., 2011)

I.7.2 Effets thérapeutiques de *Lawsonia inermis L.* (Henné) en médecine moderne

I.7.2.1. Activité antioxydant

Le potentiel antioxydant des extraits d'acétate d'éthyle, butanol, méthanol et d'éther de pétrole a été mesuré par différentes méthodes telles que la réduction d'activité, la méthode des radicaux de DPPH et la méthode enzymatique, la méthode de l'inhibition d'oxydation des lipides par le système β Carotène. Tous les extraits ont montré une forte activité antioxydant (Alm *al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2009; Abbasi *et al.*, 2010; Carvalhoe *et al.*, 2010; Rahimipanah *et al.*, 2010; Qamar *et al.*, 2011).

I.7.2.1.1 Définition de l'activité antioxydant

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber, de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules qui se produisent d'une espèce réactive oxygénée ou sous l'influence de l'oxygène atmosphérique (Pisoschi *et Negulescu*, 2011).

Les antioxydants peuvent également protéger le corps humain contre les radicaux libres et les effets des ROS (espèces réactives de l'oxygène). Ils retardent la progression de nombreuses maladies chroniques ainsi que la peroxydation lipidique (Gülçi, 2012).

La majorité des antioxydants naturels sont des composés phénoliques tels que les tocophérols, les flavonoïdes et les acides phénoliques (Gülçin, 2012).

I.7.2.1.2 Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes, des molécules ou des ions (dérivent de l'oxygène, de l'azote et du soufre) avec un ou plusieurs électrons sur sa couche externe non appariés qui sont très instables et actifs vis-à-vis des réactions chimiques (Carocho *et Ferreira*, 2013). Ces atomes vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (Afanasev, 2009). Ces radicaux libres à des concentrations physiologiques élevées induisent la mort cellulaire et l'apoptose (Salido *et Rosado*, 2009).

Il existe des facteurs oxydants responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme qui sont les facteurs endogènes tel que la chaîne respiratoire, les réactions immunitaires, la traduction de signaux, le système NADPH oxydase et des sources exogènes telles que l'alimentation (Morena *et al.*, 2002)

I.7.2.2. Effet antimicrobien de *Lawsonia inermis* L.

A travers les différentes civilisations et durant des siècles, *Lawsonia inermis* L. (henné) a été préconisée pour des affections aussi variées qu'astringentes, antihémorragiques, antifongiques, antibactériennes, sédatives, hypotensives, anti-amibiases et comme traitement de l'ictère et de la lèpre (Shivananda Nayak et al., 2007).

Plusieurs chercheurs ont démontré que l'extrait éthanolique de la plante entière de *Lawsonia inermis* L. présentait une activité antibactérienne et antifongique (Ahmed et al., 2000).

Certains tests biologiques ont permis d'évaluer différentes activités biologiques telles que l'activité antiparasitaire, antiseptique, antimycotique, contre la gale et comme traitement de l'abcès (Yogisha et al., 2002), dans ce cas l'extrait de la plante *Lawsonia inermis* L. est par voie externe. Par contre, l'utilisation interne de l'extrait de la plante sert contre la dysenterie amibienne, les ulcères gastro-intestinaux et comme anti-diarrhéique (Wichtl, 1999).

I.7.2.2.1 Action antibactérienne par voie externe (le derme)

L'extrait alcoolique des feuilles de henné possède des propriétés antibactériennes d'une nature étendue. Il est plus ou moins actif selon les espèces (Gull et al., 2013).

Cette activité antibactérienne est due à des composés phénoliques et principalement à la Lawson, l'acide gallique et la 1,4-naphtoquinone (Ali et al., 2001 ; Arun et al., 2010).

I.7.2.2.2 Action antifongique par voie externe (le derme)

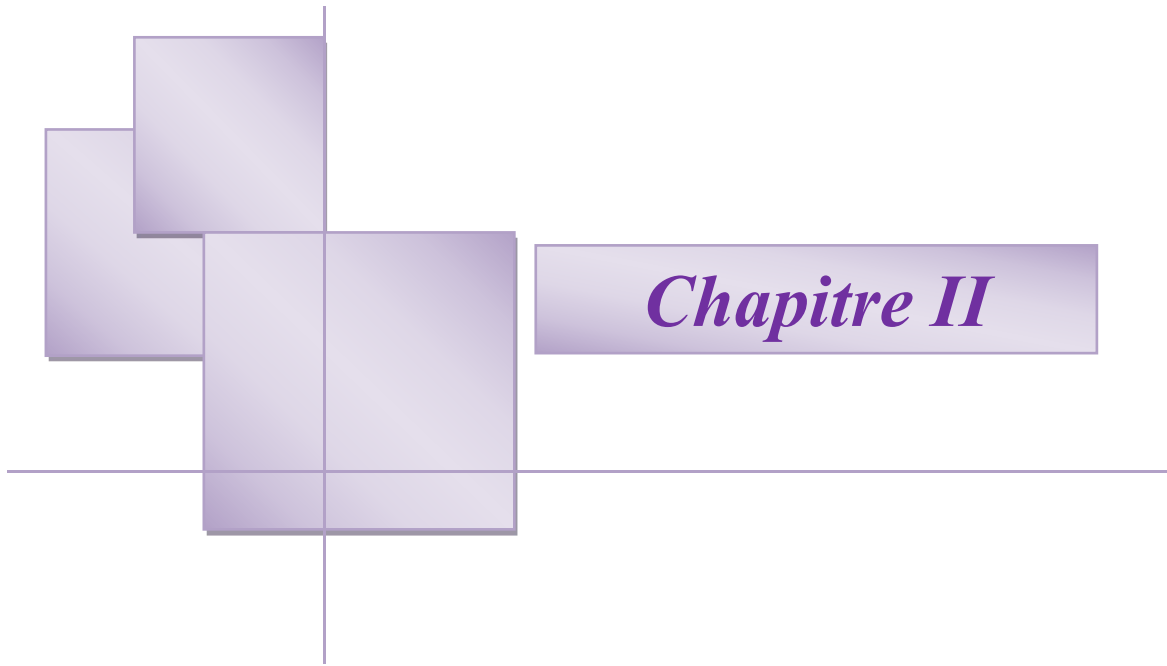
Bien que l'activité antifongique des feuilles de henné soit moins nette, il faut souligner son activité face aux teignes tondantes du genre *Trychophyton* et *Microsporum*. De plus, les feuilles de henné sont efficaces contre *Pityrosporum* (inhibition totale), *Alternaria*, *Aspergillus*, *Absidia*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Circinella*... Le pouvoir antifongique est dû à la Lawson et à son isomère, la juglone (Kathem et al., 2008).

I.8. Toxicité

Bien que les feuilles de *Lawsonia inermis* soient utilisées en médecine traditionnelle dans des pays d'Afrique et d'Asie pour le traitement de diverses maladies, peu de recherches ont été menées pour étudier l'innocuité des feuilles de *Lawsonia inermis* L. (So et al., 2010).

Une étude de toxicité aiguë intrapéritonéale de l'extrait glycoside (GE) chez la souris a révélé que la DL50 était de 2116,6 mg / kg. Les animaux recevant l'injection de GE souffrant de contractions musculaires, d'augmentation du rythme respiratoire, de sédation, de calme et de contractions des muscles abdominaux ont été observés, qui ont persisté pendant

quelques heures. À la 6 heure, ils étaient somnolents, moins réactifs et dyspnéiques avant la mort ou ils récupéraient après 48 heures. Cependant, à la 48e heure, la plupart des survivants avaient récupéré de ces symptômes. Les symptômes de sédation et de contractions des muscles abdominaux concordent avec d'autres études (So et *al.*, 2010). Cette DL50 élevée indique la sécurité de l'utilisation de ce composé chez les animaux de laboratoire (Sakarkar et *al.*, 2004)



Chapitre II

*Présentation de la
région d'étude*



Promotion 2023

II. Cadre géographique et géologique des régions d'étude

II.1 Situation géographique de la région du Ouargla

La région d'Ouargla (31°58 N., 5° 20' E.) se trouve au Sud-est de l'Algérie, le chef-lieu de wilaya est à 800 Km d'Alger. La ville d'Ouargla est située à une altitude de 134 m (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975).

Elle est limitée :

Au Nord : par la Wilaya de Djelfa, de El Oued et de Biskra.

A l'Est : par la Tunisie.

A l'Ouest : par la Wilaya de Ghardaïa.

Au Sud : par la Wilaya de Tamanrasset et Illizi (D.P.A.T, 2006).

La région d'étude se trouve dans la palmeraie ; dont les extrémités sont représentées à l'Ouest par Beni h'cene, au Nord par Bouamer, à l'Est par Al Qasr et au Sud par Mekhadma et sidi amran (figure 06).



Figure 06 : Localisation de la Wilaya de Ouargla (Google maps 2023)

II .1.1 Paramètres climatiques de la région du Ouargla

Le climat désertique d’Ouargla est caractérisé par un déficit hydrique dû au manque de précipitations, à une évaporation intense et à des températures élevées (TOUTAIN, 1979).

Nous avons utilisé les données climatiques fournies par l’Office National de Météorologie (O N M) pour la période de (2014-2021) (Tableau 03).

Tableau 03 : Données climatiques de la région d’Ouargla. Période 2014-2021.

Parameters	Température			Humi dity (%)	vent max en Km/h	Precipi tations (mm)	Evaporation (mm)	Insolation (heure)
	T min °C	T max °C	T moy °C					
Janvier	11.01	18.18	6.62	64.54	71.29	8.10	91.80	245.79
Février	14.22	21.08	8.96	52.21	65.13	1.64	130.35	242.74
Mars	18.21	25.81	11.40	47.67	59.95	3.30	204.61	258.22
Avril	23.75	29.38	16.82	40.34	54.60	3.11	254.43	282.90
Mai	28.02	34.89	21.32	33.90	59.73	2.47	328.51	301.03
Juin	33.18	40.28	26.54	30.50	56.45	0.76	391.55	253.22
Juillet	36.68	42.71	28.96	27.79	44.02	0.38	467.48	334.61
Aout	35.20	41.84	28.19	29.84	58.11	1.84	420.22	328.58
Septembre	30.32	37.75	24.63	36.90	54.78	3.59	300.66	272.15
Octobre	24	31.18	18.89	45.42	47.73	5.92	235.69	266.08
Novembre	17.92	23.16	11.31	56.85	46.64	7.21	123.81	252.18
Décembre	12.11	19.23	6.94	60.07	66.53	5.18	86.80	80.79
Moyenne	23.71	30.46	17.54	43.83	57.08	*43.21	*3035.91	239.85

II .1.1.1 Précipitation

Ouargla connaît une variation saisonnière minime en termes de fréquence des jours de précipitation (c'est-à-dire les jours connaissant une précipitation d'eau ou mesurée en eau supérieure à 1 mm). La fréquence varie de 0 à 4 %, avec une valeur moyenne de 2 %.(O N M, 2014-2021) (figure 07).

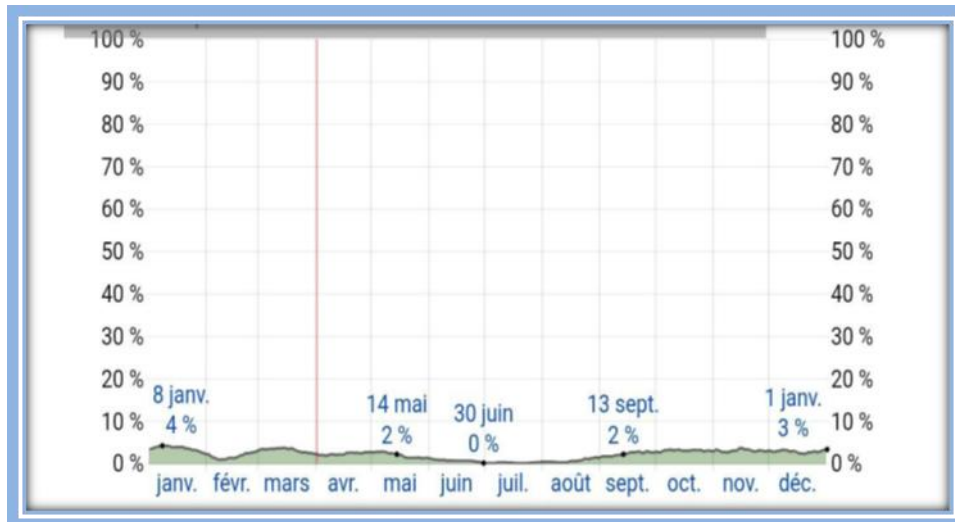


Figure 07 : Probabilité de précipitation quotidienne à Ouargla.

Pour montrer la variation au cours des mois et pas seulement les totaux mensuels, nous montrons l'accumulation de pluie au cours d'une période glissante de 31 jours centrée sur chaque jour de l'année. Ouargla connaît des variations saisonnières modérées en ce qui concerne les précipitations de pluie mensuelles. (O N M, 2014-2021).

Depuis le tableau 04 les grandes quantités sont enregistrées pendant les mois de Janvier et de Novembre avec respectivement 8,10 mm et 7,21 mm Les précipitations étaient très faibles avec un cumul moyen de *43,21 mm (O N M, 2014-2021).

II .1.1.2 Température

L'analyse des valeurs du tableau montre que la Wilaya de Ouargla se caractérise par son climat chaud, où la température peut dépasser 40 °C, le mois le plus chaud est Juillet, où la température moyenne est de 28,96 °C, et le mois le plus froid est Janvier, avec une moyenne de 6,62 °C (O N M, 2014-2021).

II .1.1.3 Vents

La vitesse horaire moyenne du vent à Ouargla connaît une variation saisonnière modérée au cours de l'année (O N M, 2014-2021).

La période la plus venteuse de l'année dure 4,7 mois, du 5 Mars au 27 Juillet, avec des vitesses de vent moyennes supérieures à 14,5 Km/h. Le mois le plus venteux de l'année à Ouargla est Mai, avec une vitesse horaire moyenne du vent de 16,2 Km/h (O N M, 2014-2021).

II.2 Situation géographique de la région d'El Oued

La Région de El-Oued est située au Sud -Est algérien à environ 650 Km d'Alger, entre les 33° et 34° de latitude Nord, et les 6° et 8° de longitude Est, touchant les frontières tunisienne et libyenne (NADJAH, 1971).

Elle est composée de 30 communes. Elle est limitée : (ONS, 2016)

Au Nord : La Wilaya de Khenchela et Biskra

A l'Ouest : La Wilaya de Djelfa

A l'Est : La Tunisie et Tébessa

Au Sud : La wilaya de Ouargla Figure 08

La région d'étude se trouve dans palmeraie ; dont les extrémités sont représentées à l'Ouest par Djamaa , au Nord par chott melghir , à l'Est par Ghamra et au Sud par Guemar et Taghzout .

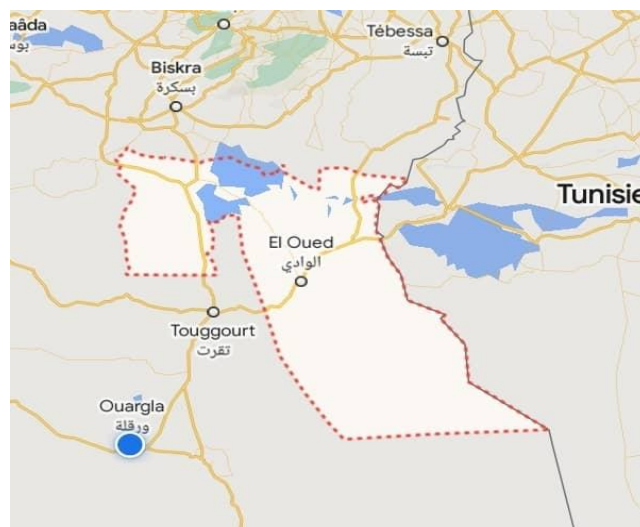


Figure 08 : Localisation de la Wilaya d'El Oued (Google maps 2023)

II .2.1 Paramètres climatiques de la région de l'El Oued

Le climat de la région d'El Oued est de type saharien, Le climat joue un rôle fondamental dans la distribution des êtres vivants (FAURIE et al. 1980). Se caractérise par des variations très importantes des températures et des faibles précipitations.

Donnent les résultants présents dans le tableau les données disponibles à la station d'El Oued durant 10 ans de 2011 à 2020 (ONM.2020) (tableau 04)

Tableau 04 : Valeurs climatiques moyennes et totales annuelles de la Wilaya d'El Oued [01]

Année	T moy	T max	T min	Précipitation (mm)	vent moy en Km/h
2011	22.5	29.2	15.5	30.73	8
2012	22.9	29.9	15.6	23.62	0
2013	22.7	29.6	15.8	32.27	8.2
2014	23.3	30.3	16.5	26.67	0
2015	22.5	29.4	15.6	50.04	3.6
2016	23.3	30.1	16.4	0	9.2
2017	22.5	28.8	15.9	0	11.6
2018	23.0	29.5	16.5	0	12.4
2019	23.0	29.5	16.2	0	12.2
2020	23.1	29.4	16.2	28.95	11.4

II .2.1.1 Précipitations

Les précipitations c'est l'ensemble de particules de liquide ou solide qui tombent en chute libre dans l'atmosphère (sous forme des pluies, neige, grêle) (CLEMENT, 1981). Les précipitations de la région de El Oued saisonnière est extrêmement variable, arrivent a leur maximum en automne, qu'autre période pluviale d'hiver (VOISIN, 2004). La région d'El Oued a connue durant l'année 2020 un cumul de précipitation égal 28.95 (mm). En une période de dix ans allant de 2011 jusqu'à 2020, l'année le plus pluvieuse est 2015 (50.04 mm) (ONM.2020).

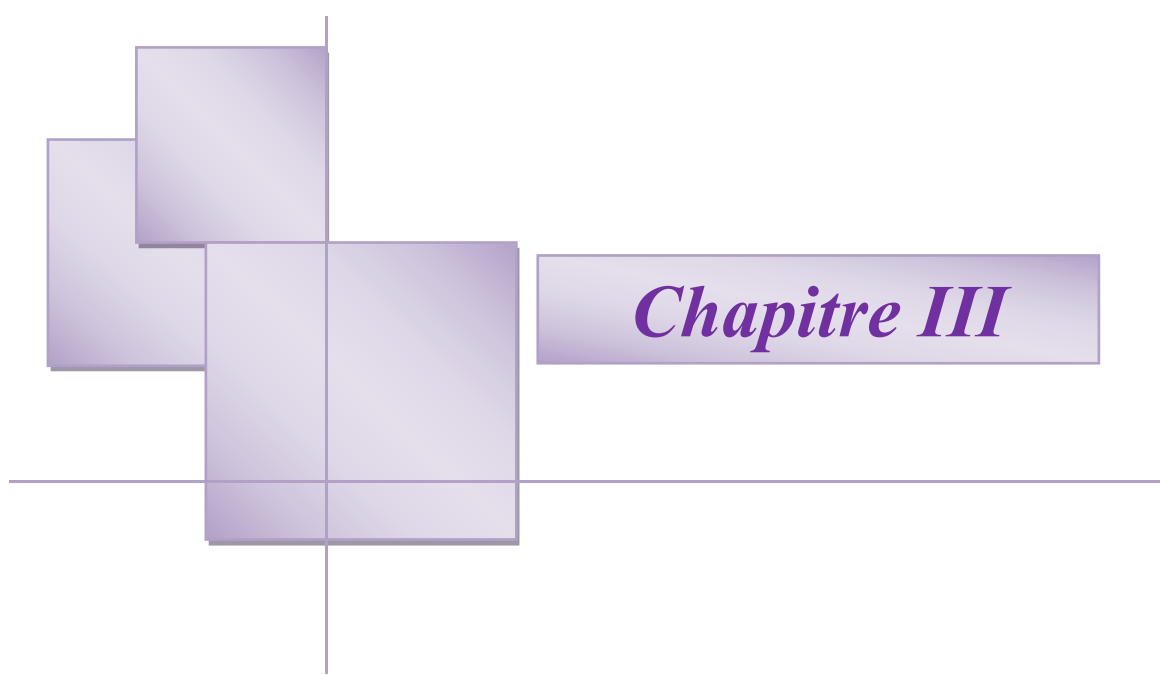
II .2.1.2 Températures

La température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques (RAMADE, 2003). El oued présente de forts maxima de température en été, alors qu'en hiver elles peuvent être très basses (VOISIN, 2004). La température de la région d'El Oued en 2020 varie entre 16.2 (°C.) et 29.4 (°C.). La température moyenne annuelle est 23.1 (°C) (ONM.2020).

II .2.1.3 Vents

Le vent est le composant climatique le plus marquant dans la région du El Oued, c'est un facteur important à considérer dans l'agriculture, il joue un rôle essentiel dans le phénomène de la pollinisation, comme il peut provoquer le flétrissement de certaines espèces végétales sensibles(ONM.2020).

Les vents dominants dans El Oued sont de direction Est Nord, provenant de la méditerranée libyque (DUBIEF, 1964), chargés d'humidité appelés (El-bahri) et qui soufflent très forts au printemps. Ils sont peu appréciés malgré leur fraîcheur, car ils provoquent de la poussière (vents de sable) dans l'air et donnent une couleur jaune au ciel. Tandis que les vents du Sirocco ou "Chihili" qui apparaissent durant la période estivale ont une direction Sud Nord et Sud- Ouest, il se manifeste par des chaleurs excessives. La valeur de vitesse du vent d'El Oued durant l'année 2020 est 11.4 (Km/h) (ONM.2020).



Chapitre III

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1 Matériel végétal

III .1.1 Echantillonnage

Nous avons d'abord utilisé la méthode d'extraction des huiles essentielles des feuilles de henné par la méthode hydro distillation mais nous n'avons pas obtenu de résultat.

La plante du henné *Lawsonia inermis L.* Les données des deux plantes nous ont été fournies par des agriculteurs habitant la région d'Ouargla et la région d'El Oued.

Le premier échantillon a été récolté dans la palmeraie de la commune de Gharbouz, dans la région d'Ouargla, pendant le mois de mars 2023.

Le deuxième échantillon a été récolté dans la palmeraie de la commune de Reguiba, dans la région d'El Oued, pendant le mois de mars 2023.

Au cours de notre travail, nous nous sommes intéressés à évaluer les paramètres suivant :

- Extraits naturels obtenus par macération des feuilles de Henné à l'aide de différents solvants.
- l'activité antibactérienne et antifongique des feuilles de Henné.

III .1.2 Technique de séchage

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Afin de s'assurer de la bonne conservation des échantillons, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant 3 jours a été réalisé.

Elles sont, ensuite, broyées par mortier en cuivre. Après broyage, la poudre des plantes a été conservée dans des flacons hermétique en verre afin de garder leur couleur, goût et principalement leur effet thérapeutique, elles ont été stocké soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur des analyses (photo 01).



Photo 01 : Broyage de henné

III .1.3 Extraction

L'extrait de henné est préparé par macération à froid selon le Protocole de (Sharma, 1990).

L'avantage majeur de l'extraction par agitation à froids est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants et de contrôler la température d'extraction pour éviter le risque de destruction des composés thermolabiles.

III .1.3.1. Préparation des extraits

III .1.3.1.1 Choix du solvant

Le choix du solvant d'extraction est basé sur le rapport de certains auteurs qui indiquent que les composants actifs des plantes à activité antimicrobiennes font partie des composés organiques obtenues par une extraction initiale à l'éthanol ou un méthanol (Zhang et Lewis, 1997).

III .1.3.1.2 Mise en contact du solvant avec la poudre de henné

L'opération d'extraction a été réalisée dans le Laboratoire au Centre de Recherche Scientifique de l'Université de Kasdi Merbah Ouargla.

La préparation des extraits à été réalisés par l'utilisation des solvants suivant : éthanol à 70% et 30% eau distillé pour chacun de nos deux échantillons.

- Echantillon d'Ouargla : 50g de poudre dans 120 ml d'eau et 280 ml d'éthanol.
- Echantillon d'El Oued : 50g de poudre dans 120 ml d'eau et 280 ml d'éthanol.

La préparation d'un extrait de plante présente un nombre variable d'étapes selon l'objectif suivi. Dans le présent travail, nous avons ciblé les métabolites secondaires (essentiellement les principes actifs) du henné, composant naturel du végétal.

Les étapes d'extraction sont résumées comme suit :

(a) Macération à froid en milieu éthanol

Les extraits hydro-alcooliques sont préparés par macération à froid de 50 g de la poudre végétale de chaque échantillon (Ech. Ouargla et Ech. El oued) dans 400 ml de solution hydro alcoolique à 70% d'éthanol agitée à température ambiante sur une plaque magnétique (700 tr/mn) pendant 24 heures. Les extraits sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman numéro 1.

(b) Macération à froid en milieu Aqueux

Les extraits aqueux ont été préparés pour de 50 g de la poudre végétale des échantillons (Ech. Ouargla et Ech. El Oued). Les échantillons sont préparés par macération à froid dans 400 ml d'eau distillé puis agitée à température ambiante sur une plaque magnétique (700 tr/mn) pendant 24 heures.

Les extraits sont récupérés après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman numéro1 (photo 02).

Les deux filtrats de chaque échantillon et de chaque solvant ; sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota-vapeur à 40°C. Les quatre (04) extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à leurs utilisations (Photo 03 et 04).



Début d'Agitation



Fin d'agitation

A. Agitation des extraits

Filtration de solution hydro alcoolique



filtration de solution aqueuse

B. Pendant la filtration**Photo 02** : Etapes de l'extraction par macération à froids

Remarque : Les filtrats obtenus ont montré une différence nette de couleur :

- Vert foncé pour l'extraction par éthanol
- Brun pour l'extraction à l'eau distillée

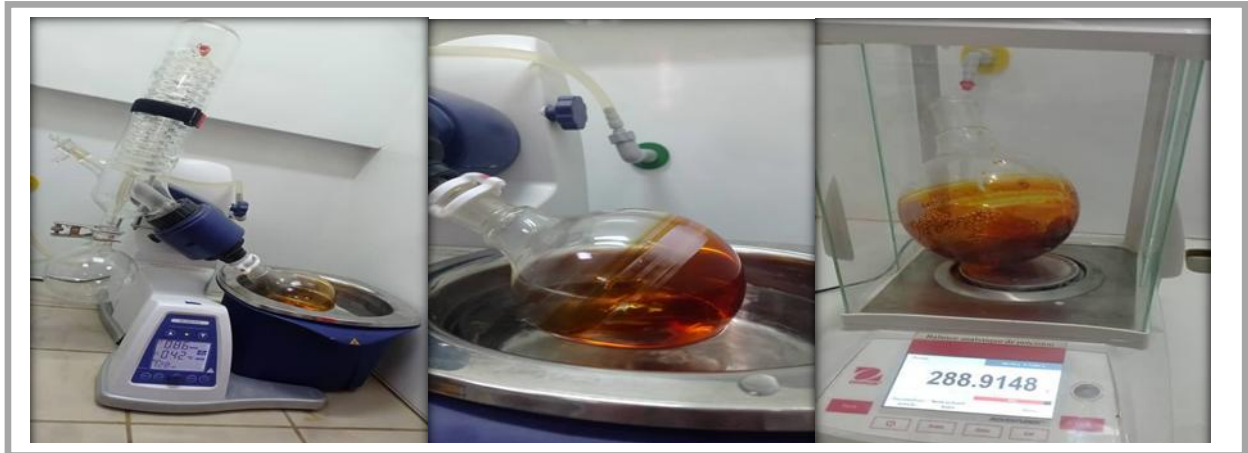


Photo 03 : Concentration sous pression réduite au rota-vapeur à 40°C



Photo 04 : Résultats de la concentration sous rota-vapeur

III .2 Détermination des rendements d'extraction

Le rendement d'extraction a été estimé par rapport au poids de l'extrait brut et de la masse de matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Ait et *al.*, 2012) :

$$\text{RE (\%)} = \frac{\text{PBE} - \text{PBV}}{\text{PP}} \times 100$$

RE : rendement d'extraction en pourcentage.

PBE : poids des boîtes pleines après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.

PBV : poids des boîtes vides en gramme.

PP : poids des plantes sèches en gramme.

III .2 .1 Activité antioxydant

III .2 .1.1 Principe

Le principe du test du DPPH qui est un radical stable de couleur pourpre, accepte un atome d'hydrogène (H) de la molécule piègeur, c'est-à-dire un antioxydant, ayant pour résultat la réduction de DPPH (2-2diphényl-1-picrylhydrazyle) en DPPH2 (2-2-diphényl-1-picrylhydrazin) (Mishra et al., 2012).

L'effet de l'antioxydant est proportionnel à la disparition du radical DPPH et à la décoloration de la solution du violet au jaune. L'activité antioxydant s'exprime par le PI de l'absorbance à **517 nm** (Moon et Shibamot, 2009) (Photo 05).



Photo 05 : La solution de DPPH.

III .2 .1.2 Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode du DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits éthanoliques des feuilles vis-à-vis du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) été évaluée à l'aide d'une méthode colorimétrique selon la méthode décrite par (Essafi et al., 2007). L'absorbance est lue à **517 nm**. Le pourcentage d'inhibition (**%I**) du radical libre DPPH par l'extrait est déterminé selon formule suivante :

$$\text{Inhibition\%} = [(A' - A) / A'] \times 100$$

Où :

A' : est l'absorbance de la solution de contrôle (DPPH + éthanol),

A : est l'absorbance de l'extrait (**Kirby et Schmidt ,1997**).

L'activité anti radicalaire d'un extrait est généralement exprimée par la détermination de l'IC50, qui correspond à la concentration dont le %I est de 50%, à partir de la courbe présentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon. Dans notre cas IC 50 est exprimée en µg du l'extrait /ml de milieu réactionnel.

III .2 .1.3 Protocole expérimental

Les étapes de l'activité antioxydant sont les suivantes (**Kirby et Schmidt ,1997**) :

- 1) On pèse une quantité égale à 0.004g de DPPH ;
- 2) On met 100ml d'Éthanol dans une fiole jaugée puis on ajoute la quantité pesée de DPPH ;
- 3) On mélange la solution (Éthanol, DPPH), on laisse agir pendant 30min ;
- 4) Préparer un extrait de concentration égale 0.125 mg/ml avec une solution hydro-alcoolique 10 ml ;
- 5) Ensuite, vous prenez 10 tube à essai et vous y mettez notre solution d'extraction , chaque tube a une concentration spécifique, les concentrations sont différentes (de 100µl à 1000µl...) ;
- 6) On rajoute de la solution hydro-alcoolique dans tous les tubes pour avoir un volume de 1ml dans chaque tube ;
- 7) On ajoute 1ml de la solution (Éthanol, DPPH) dans chaque tube ;
- 8) Un tube à essai est pris comme témoin contenant 1ml de la solution hydro-alcoolique additionnée d' 1 ml de la solution (Éthanol, DPPH)
- 9) Nous agitons tous les tubes avec le Vortex et on les recouvre avec du papier d'aluminium ; et nous les laissons pendant 30 min ;

- 10) A la fin, nous mettons la solution obtenue dans tous les tubes à essai d'un appareil spectrophotométrie afin de connaître le pourcentage d'oxydation.

III .3 Activité antimicrobienne

III .3.1 Les Souches bactériennes utilisées

Les tests de l'évaluation de l'activité antibactérienne ont été réalisés dans le laboratoire de Microbiologie de faculté des sciences de la nature et de la vie d'Ouargla. Les deux souches bactériennes testées ont été récupéré du laboratoire «CRAPC» de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, en mai 2023. Les bactéries utilisées sont les suivantes :

- une souche à Gram négative
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027
- une souche à Gram positive
 - ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC25923

III .3.2 Les souches antifongiques utilisées

- une souche
 - ✓ *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404

III .3.3 L'évaluation de l'activité antibactérienne

Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne sont inspirées de celles écrites par les recommandations du comité européen des tests de sensibilité antimicrobienne et de la société française de microbiologie (**Ca-SFM, 2017**).

III .3.4 Le mode opératoire de l'activité antimicrobienne

a) Préparation des milieux de culture

Après préparation et stérilisation du milieu Mueller Hinton, 20 ml du milieu sont coulés dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre et l'épaisseur doit être impérativement de 4 mm Le milieu est laissé se solidifier sur une surface froide dans des conditions aseptiques. Il faut éviter que des gouttelettes d'eau se forment à la surface de la Mueller Hinton, phénomène pouvant altérer les qualités de diffusion sur le milieu (photo 06).



Photo 06 : Préparation des milieux de culture

b) Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir de papier Wattman N° 3 d'un diamètre de 6 mm puis placés dans un flacon fermé pour la stérilisation à l'Autoclave pendant 20 minutes à une température de 120°C.

c) Préparation de la suspension bactérienne

On prélève une colonie bactérienne et nous l'introduisant dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérilisée issue d'une culture bactérienne à l'aide d'une anse de platine, et on agite bien le tube pour obtenir une suspension bactérienne homogène. (Photo 07).



Photo 07 : Préparation de la suspension bactérienne

d) Méthode de culture

Après 15 minutes de la préparation de la suspension bactérienne, une pipette pasteur est immergée dans le tube la suspension bactérienne contenant la suspension bactérienne ensuite nous avons étalé toute la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton (Photo 08).



Photo 08 : Ensemencement des souches bactériennes choisies

e) Répartition des disques

Les disques sont distribués à l'aide d'un prince stérile, qui sont disposés sur l'extrémité de la boîte en laissant 2 cm (de l'extrémité vers le disque) ensuite chaque disque est imbibé de 10 μ l de chaque concentration d'extraits de plantes (photo 09).

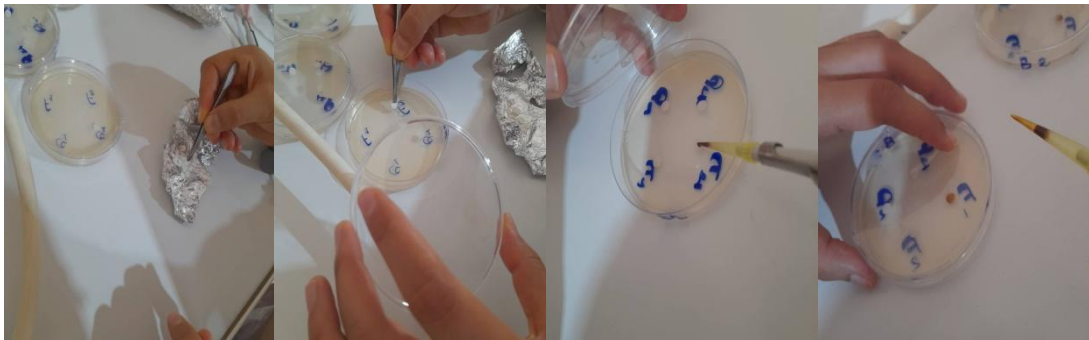


Photo 09 : Répartition des disques

F) processus d'incubation

Après avoir terminé le placement des disques, les boîtes de Pétri sont placées dans l'incubateur à 37 °C pendant une période de 24 heures (photo 10).



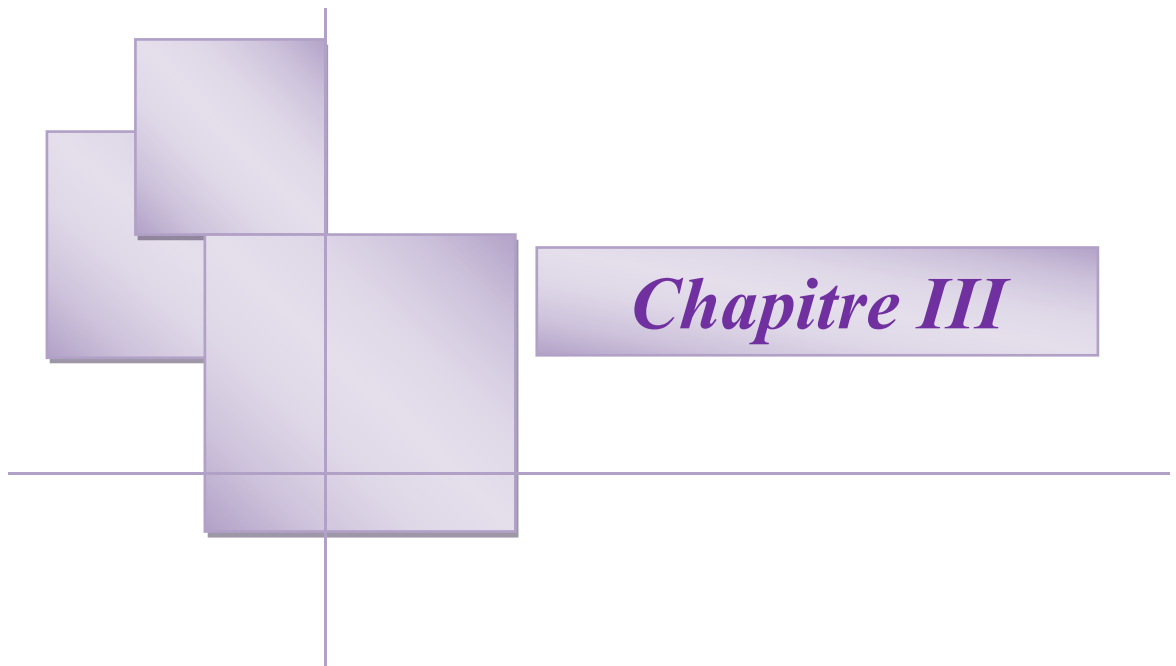
Photo 10 : L'incubation des milieux bactérienne

III .3.5 Lecture des résultats

Pour la lecture, la bordure de la zone d'inhibition correspond à une inhibition complète de la culture observée à l'œil nu (**Janakat et al., 2005**). Lire les géloses Mueller Hinton à l'envers sur un fond noir avec une lumière réfléchissante (**EUCAST, 2010**). La mesure du diamètre d'inhibition est la moyenne de trois mesures.

L'activité antibactérienne est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm (**Nath et al., 2008 ; Rahmoun, 2009**). Ce produit peut avoir :

- Très forte activité : diamètre = 30 mm ; forte activité diamètre 21-29 mm
- Moyenne activité : diamètre 16-20 mm ; faible activité diamètre 10-15mm
- Petite ou pas d'activité : diamètre =9 mm



Chapitre III

Résultats et discussions

IV. Résultats et discussions

IV.1 Rendement de l'extraction

IV.1.1 Résultats de rendement de l'extraction

Les résultats des quatre rendements d'extraction calculés à partir de la matière végétale sèche des feuilles de *Lawsonia inermis L.* sont représentés ci-dessous (Figure 09).

Après 24 h de macération à froid, les calculs du rendement par rapport au poids sec de la poudre végétale montrent que l'extrait éthanol du henné de la région d'Ouargla a donné un rendement de 10.06%, par contre l'échantillon d'El Oued du même solvant a donné un rendement de 14.76 %.

Concernant le rendement de l'extrait aqueux de l'échantillon d'Ouargla est égale à 7.89 % et pour celui de El Oued est de 13.83 %.

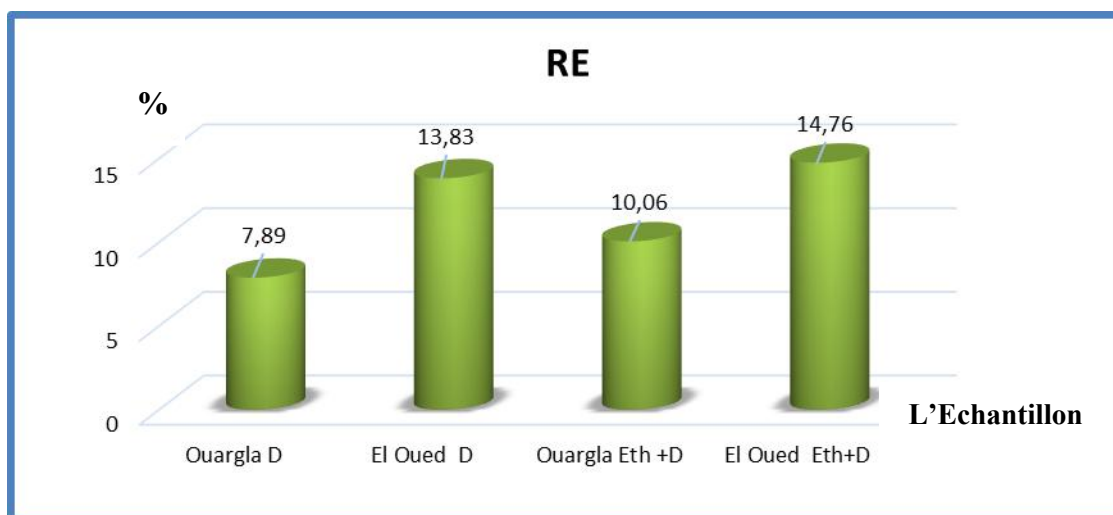


Figure 09 : Rendement des extractions par les solvants utilisés.

D : Extrait aqueuse

Eth+ D : Extrait éthanolique

IV.1.2 Discussion du rendement d'extraction

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'extrait eau/éthanol de la plante d'El Oued représente un rendement plus élevé par rapport à celui de la plante d'Ouargla avec des valeurs égales à 14.76% et 10.06% respectivement, de même pour les résultats des extraits aqueux où les valeurs de la plante d'El Oued est égale à 13.83% et celui de la plante d'Ouargla est égale 7.89%, le rendement de la plante d'El Oued sont nettement meilleurs que celui de la plante d'Ouargla.

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale tel le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur activités biologiques diverses en particulier leur propriétés anti oxydantes (**Boufeldja et al., 2017**).

D'après les études et les résultats obtenus par les auteurs nous déduisons que le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, du contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction (**Bruneton, 2009**).

Ces différences dans le rendement varient d'une espèce végétale à une autre et en fonction des solvants utilisés, des facteurs extrinsèques, des conditions environnementales, de la période de récolte, de l'âge du matériel végétal et de la partie utilisée (**Smallfield, 2001**).

Selon (**Kahlouche, 2013**) Pour chaque espèce végétale et au sein de la même espèce, la nature des composants phytochimiques est à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou fraction. Ces activités dépendent aussi de la teneur de la substance ou l'ensemble des substances biologiquement actives.

IV.2 Détermination et comparaison de l'activité antioxydant**IV.2.1 Résultats de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'Ouargla et El Oued**

Après 30 min de test, on remarque :

Le changement de couleur est suivi par spectrophotométrie à 517nm (qui vire au jaune)

Le résultat obtenu à la plante d'Ouargla (voir la photo 11).

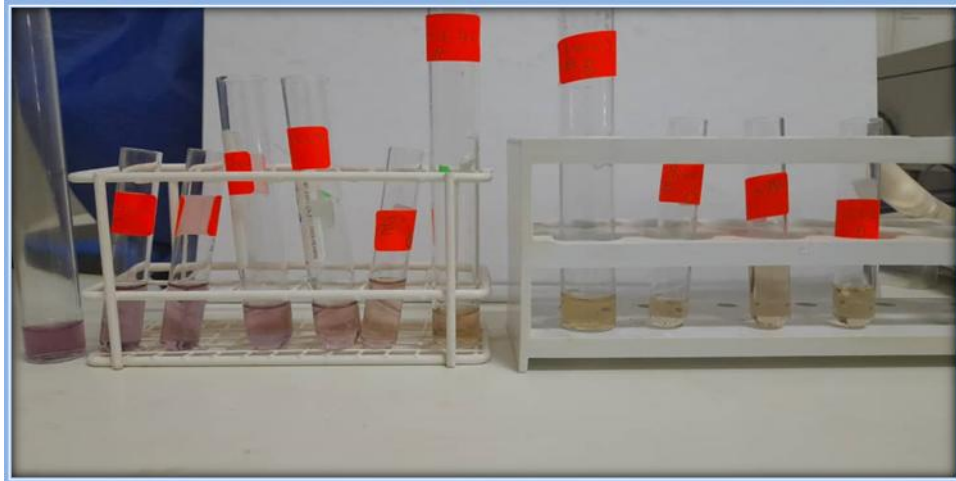


Photo 11 : Les résultats de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'Ouargla.

Le résultat obtenu de la plante d'El Oued (voir la photo 12).

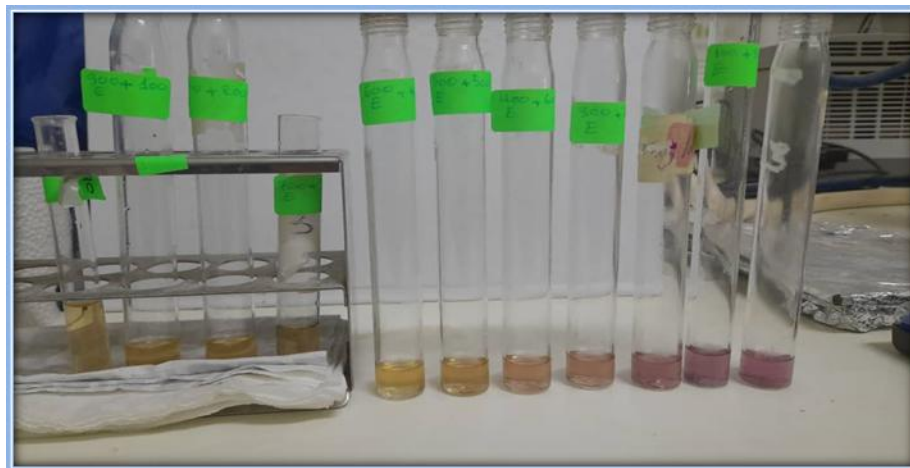


Photo 12 : Les résultats de l'activité antioxydant (Test au DPPH) d'El Oued.

Pratiquement l'extrait du *Lawsonia inermis L.* (henné) a réagi positivement au test anti radicalaire avec le DPPH.

Ceci s'explique par les valeurs de concentration notées dans le tableau (05) du plant de région d'Ouargla.

Tableau 05 : Les concentrations d'inhibition de l'extrait du *Lawsonia inermis L.* d'Ouargla.

X	Y	A	A'
0.0125	4.53781513	0.568	0.595
0.025	9.24369748	0.54	0.595
0.0375	12.7731092	0.519	0.595
0.05	20.6722689	0.472	0.595
0.0625	42.3529412	0.343	0.595
0.075	37.9831933	0.369	0.595
0.0875	59.6638655	0.24	0.595
0.1	55.2941176	0.266	0.595
0.1125	54.2857143	0.272	0.595
0.125	67.0588235	0.196	0.595

Les valeurs de concentration notées dans le tableau (06) de la plante de la région d'El Oued.

Tableau 06 : Les concentrations d'inhibition de l'extrait du *Lawsonia inermis L.* d'El Oued.

X	Y	A	A'
0.0125	2.24	0.611	0.625
0.025	18.88	0.507	0.625
0.0375	24.8	0.47	0.625
0.05	33.6	0.415	0.625
0.0625	40.32	0.373	0.625
0.075	49.92	0.313	0.625
0.0875	63.2	0.23	0.625
0.1	56.96	0.269	0.625
0.1125	66.4	0.21	0.625
0.125	68.32	0.198	0.625

L'extrait de *Lawsonia inermis* testé pour la détermination de l'activité antioxydant, a donné après calculs et détermination graphique les résultats suivants :

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH sont représentés dans les photos 06 et 07. Nous illustrons respectivement l'efficacité des extraits des feuilles de *Lawsonia inermis L. (henné)* à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (I %) en fonction des différentes concentrations.

D'après les résultats, l'évolution de l'activité anti radicalaire est dose-dépendante, car elle augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait dans le milieu réactionnel. Considérant que le (x) est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre.

Les Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis L.* d'Ouargla dans la courbe suivante (figure 10) :

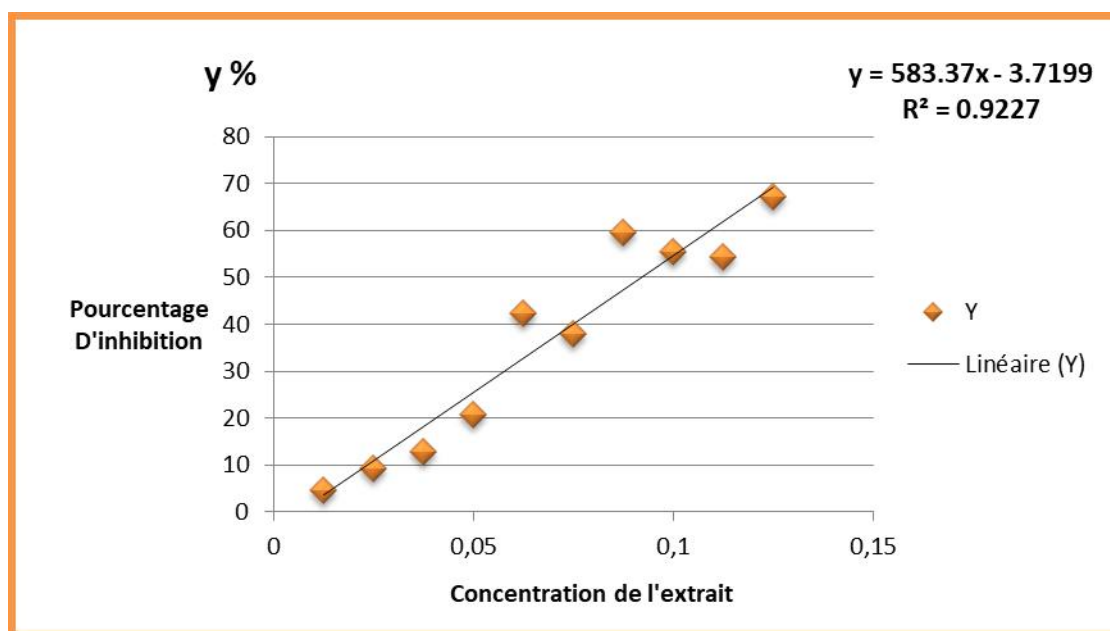


Figure 10 : Courbe de Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis L.* d'Ouargla.

Les Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis L.* d'El Oued dans la courbe suivante (figure 11) :

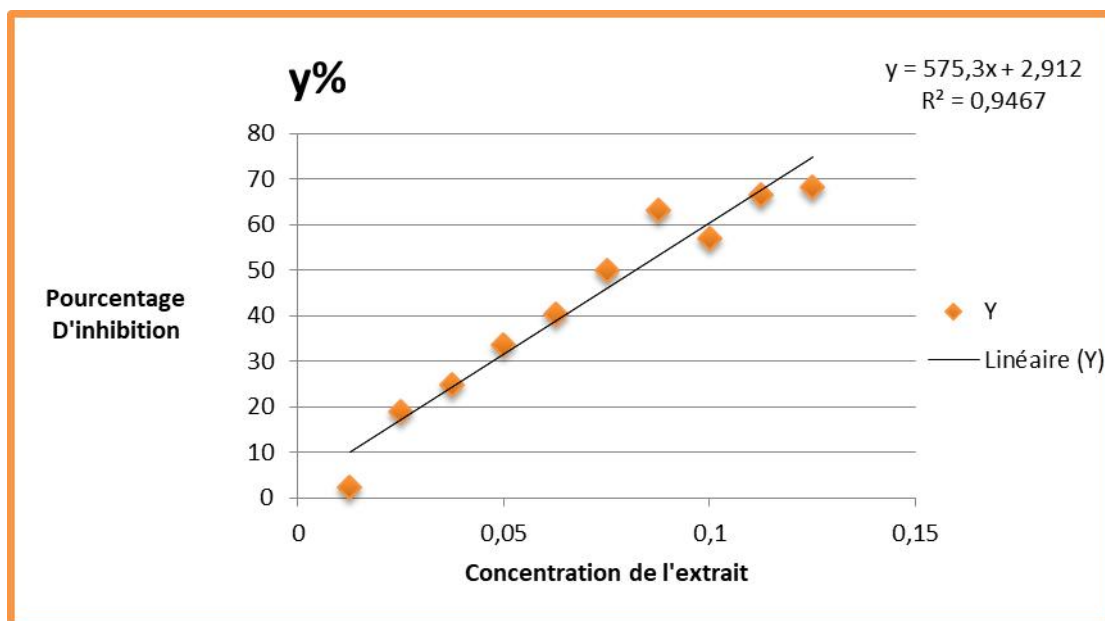


Figure 11 : Courbe de Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) en fonction des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis L.* d'El Oued.

Les courbes expriment les pourcentages d'inhibition de l'extrait de *Lawsonia inermis L.* (Ouargla et El Oued) sur le DPPH en fonction de sa concentration, en augmentant la concentration de cette dernière, le taux d'inhibition de DPPH augmente ce qui explique que notre extrait est un antioxydant Efficace.

Pour calculer le pourcentage d'inhibition, on applique la relation suivant :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = [(A'-A)/A'] \times 100$$

Où :

A' : est l'absorbance de la solution de contrôle (DPPH + éthanol),

A : est l'absorbance de l'extrait

A travers les courbes, les pourcentages de 50% de radical libre a été déterminé comme valeur de référence pour connaître le pourcentage d'inhibition de l'extrait. L'inhibition est exprimée en pourcentage selon la formule suivante :

➤ **la formule de la courbe d'Ouargla**

$$Y=583.37 X- 3.7199$$

On calcule le pourcentage de 50%

$$50 = 583.37 X- 3.7199$$

$$X = (50+3.7199)/583.37 = 0.09 \text{ mg/ml}$$

Donc : **IC50 = 0.09 mg/ml**

➤ **la formule de la courbe d'El Oued**

$$Y=575.3X+2.912$$

On calcule le pourcentage de 50%

$$50 = 575.3X+2.912$$

$$X = (50- 2.912)/ 575.3 = 0.08 \text{ mg/ml}$$

Donc : **IC50 = 0.08 mg/ml**

IV.2.2 Discussion de l'activité antioxydant

L'activité antioxydant de l'extrait de *Lawsonia inermis L.* (henné) a été évaluée par la méthode de DPPH.

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de *Lawsonia inermis L.*

L'IC50 est un paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH, Plus la valeur de L'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme antioxydant puissant (A.Y. Loo et al., 2008).

Et il ressort des résultats obtenus sur la courbe de Pourcentages d'inhibition du radical libre (DPPH) que la valeur de IC50 est de 0,09 mg/ml pour l'extrait éthanolique de feuilles de Ouargla, alors que la valeur de IC 50 pour l'extrait éthanolique de feuilles d'El Oued était de

0,08 mg/ml et de là on note que l'extrait des feuilles d'El Oued a l'activité antioxydant la plus élevée que l'extrait de feuilles d'Ouargla.

Ces résultats sont considérés comme importants en comparaison avec les conclusions de **D. Paramash** et ses collègues selon lesquelles les extraits méthanoliques IC₅₀ des feuilles sont 0,80 g/l (**D. Parakash et al., 2007**) ; Aussi, ce que **A. Wiem** et ses collègues ont trouvé que l'IC 50 des extraits aqueux des feuilles : est de 0,094g/l (**A.wiem., 2014**), tandis que **A.B. Hsouna** et ses collègues ont montré que les extraits de feuilles de *L. inermis* en croissance à Sfax (Tunisie) ont de faibles valeurs d'IC 50. Cela signifie qu'il a une activité antioxydant très élevée par rapport aux études menées sur les feuilles jusqu'à présent, qui sont : 4.8 ug/ml, 9.0 ug/ml et 7.6 ug/ml pour chacun des extraits d'acétate d'éthyle et de butanol et l'extrait aqueux, respectivement (**A. B. Hsouna et al., 2011**)

Cette différence de résultats peut être attribuée à la différence des solvants et de la méthode et des conditions d'extraction utilisées étudiées en plus les conditions environnementales dans lesquelles la plante pousse (sol, climat, eau), que l'activité antioxydant est liée à la quantité de composés phénoliques totaux et également à la structure chimique des flavonoïdes (**A. Wojdylo et al., 2007**).

Ces résultats contredisent ce qu'Aqil et ses collègues ont conclu, car il a été constaté que l'activité antioxydant s'oxyde Le DPPH des extraits de feuilles de *Lawsonia inermis L.* n'était pas corrélé avec la teneur totale en composés phénoliques (**F. Aqil et al., 2006**).

Cette activité antioxydant (effet inhibiteur des radicaux libres) des extraits de plantes est due à la présence de composés naturels efficaces tels que : les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins) ce qui indique que la diversité des phénols extraits des plantes naturelles aide de manière significative pour réduire le processus d'oxydation ou la formation de radicaux libres.

Les composés phénoliques contribuent au mécanisme de l'activité antioxydant en donnant un électron ou un radical hydrogène, ils se transforment donc en radicaux stables en résonance et inhibent ainsi l'activité des radicaux libres (**Kim et al., 2009 ; Cuvelier et al., 1992**), Ainsi, ces composés sont considérés comme un système de défense en supprimant l'effet négatifs des radicaux libres dans l'organisme (**Zohourian et al., 2011**)

Nous constatons d'après les résultats obtenus que le test du DPPH de *Lawsonia inermis L.* cultivé dans la région d'Ouargla et la région d'El Oued possèdent des résultats acceptables

parce que la concentration d'inhibition 50% a pu éliminer 92.08µg/ml et 81.84 µg/ml de radicaux libres respectivement.

IV.3 Détermination et comparaison de l'activité antimicrobienne

IV.3.1 Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm et peuvent être symbolisés par des signes selon (Ponce et al., 2003)

Il a été constaté grâce aux résultats du test d'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque que l'extrait de *Lawsonia inermis L.* n'a pas fourni d'activité antibactérienne contre les deux souches :

Une souche à Gram négative *Pseudomonas aeruginosa* et une souche à Gram positive *Staphylococcus aureus* et n'a pas non plus montré d'activité antifongique contre *Aspergillus brasiliensis*, ces résultats sont présentés dans les photos 13,14 et 15 suivantes :

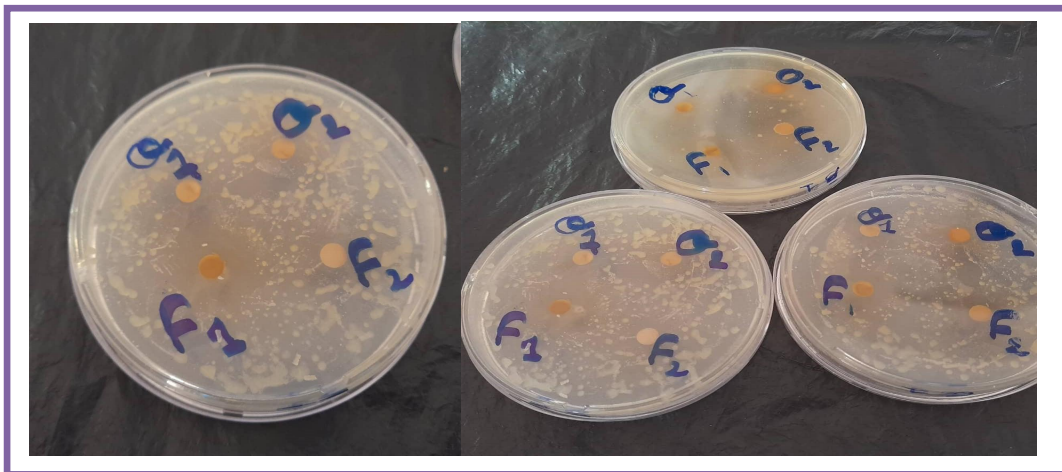


Photo 13 : Résultat de l'activité antibactérienne de *Lawsonia inermis L* (henné) sur *Staphylococcus aureus*

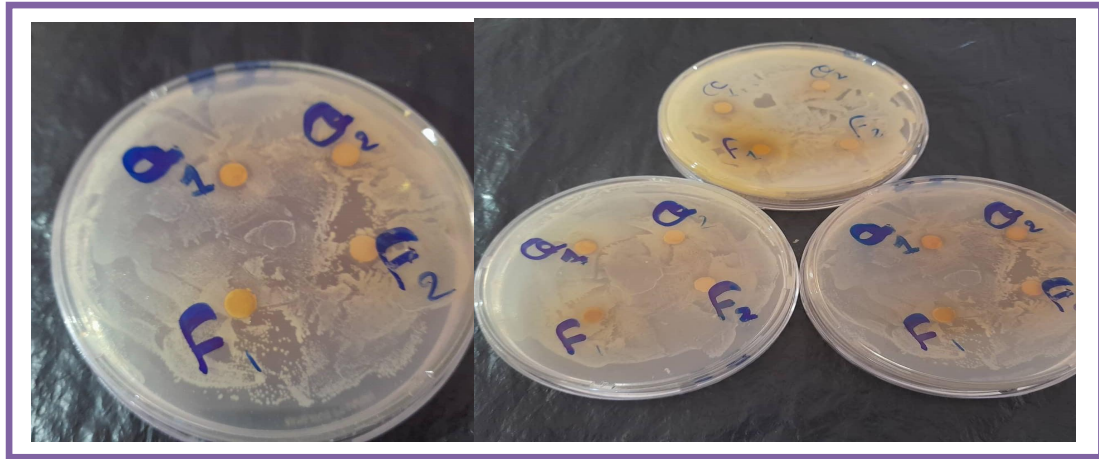


Photo 14 : Résultat de l'activité antibactérienne de *Lawsonia inermis* L. (henné) sur *Pseudomonas aeruginosa*

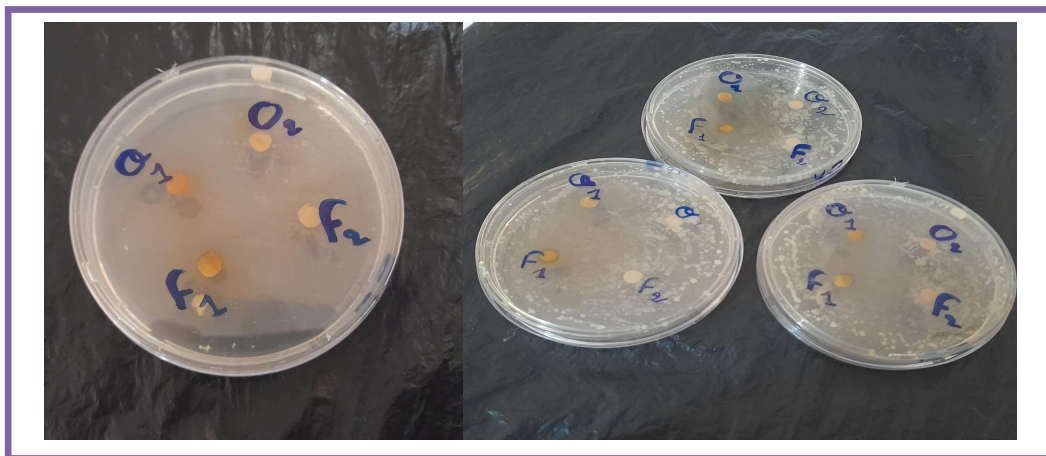


Photo 15 : Résultat de l'activité antifongique de *Lawsonia inermis* L. (henné) sur *Aspergillus brasiliensis*

Nous avons remarqué la propagation d'un grand nombre de bactéries, c'est-à-dire un pourcentage très important, au près de l'endroit où nous avons déposé le disque.

Nous remarquons d'après nos observations que les extraits éthanoliques et les extraits aqueux de la plante d'Ouargla et celle d'El Oued n'ont montré aucune activité antibactérienne et antifongique (absence de zone d'inhibition) (tableau 07).

Tableau 07 : Résultats de l'effet des extraits de *Lawsonia inermis* L. (henné) sur les souches.

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>
L'extrait éthanolique Ouargla	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition
L'extrait aqueux d'Ouargla	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition
L'extrait éthanolique d' El Oued	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition
L'extrait aqueux d' El Oued	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition

IV.3.2 Discussion de l'activité antibactérienne

Le traitement antibiotique peut être le principal facteur de risque d'infection par des bactéries résistantes aux antibiotiques, ce qui conduit à une épidémie d'infection et à une augmentation de la gravité. Des cas de maladies graves ont été enregistrés dans des pays du monde entier causés par des schémas bactériens résistants aux antibiotiques (**Anderson Wh et al., 1979**).

Les plantes médicinales contiennent de nombreux composés efficaces tels que : les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthrachidones, les saponines, les alcaloïdes et les lipides Chacun de ces composés a la capacité d'inhiber les micro-organismes pathogènes (**Ellof., N.J. 1999**), notre étude visait donc à connaître le rôle inhibiteur Les extraits éthanoliques et aqueuses des feuilles de *Lawsonia* sur les souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* Les résultats obtenus sont qu'il n'y a eu aucun effet sur la croissance de ces espèces à toutes les concentrations.

Ces résultats sont en accord avec ce qui a été obtenu par Alyaa. Sebti Jasim dans son étude a montré que l'efficacité des extraits éthanoliques de feuilles de *Lawsonia inermis* était faible contre les bactéries testées (**Alyaa Sebti Jasim 2010**).

Selon **(Rahmoun et al., 2010)** a confirmé l'activité antibactérienne du Lawsonie contre les souches de bactéries pathogènes, à savoir *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

L'étude de Varaprasad Bobbarala et ses collègues a indiqué que les extraits de chloroforme, d'hexane et méthanol de *Lawsonia inermis L.* n'a pas affecté la croissance *Staphylococcus aureus*, à l'exception de l'extrait au méthanol **(Varaprasad Bobbarala et al., 2010)**.

Selon Santhanamart et ses collègues, où il a été constaté que le diamètre de la zone d'inhibition des extraits éthanoliques de *Lawsonia inermis L.* variait entre 8 mm et 18 mm contre *Staphylococcus aureus* et de 0 mm à 11 mm contre *Pseudomonas aeruginosa* à des concentrations entre 100 mg/ml à 500 **(Santhanamart et al., 2011)**.

Ces résultats obtenus contredisent les résultats de nombreuses études précédentes, qui ont montré que les extraits éthanoliques de la plante *Lawsonia inermis L.* pour plusieurs régions d'Oman avaient une activité antibactérienne élevée contre la *Pseudomonas aeruginosa* **(Habbal O et al., 2011)**.

Cette divergence dans les résultats peut être due au type de solvant (polarité du solvant) utilisé et à la méthode d'extraction, ainsi qu'au méthode d'évaluation de l'efficacité antibactérienne utilisée, de la concentration de l'extrait, du moment de la récolte des plantes et de l'âge de la plante, ainsi que des conditions environnementales (Climat, eau, sol) dans lequel la plante pousse également un rôle important **(E.Christy Jeyaseelan et al., 2012)**

Des résultats négatifs n'indiquent pas un manque des composants biologiquement actifs ni que la plante est inactive, car les composés actifs peuvent être présents en quantités insuffisantes dans les extraits pour montrer l'efficacité au niveau de dose utilisé **(Igbal et al., 2011; Taylor et al., 2001)**

L'absence de l'effet de la plupart des extraits sur la croissance des bactéries Gram-négatives peut s'interpréter par le fait qu'elles possèdent une couche de la membrane externe constituée de lipopolysaccharides entourant la membrane cellulaire bactérienne **(Ratledage et Wilkinson ,1988)**

Nous concluons des résultats des études précédentes que la plante de henné peut être une source importante de produits capables de contrôler les germes résistants aux antibiotiques et

avoir grande importance pour le développement de médicaments efficaces, sûrs et bon marché qui ont un fort effet thérapeutique contre un grand nombre de maladies.

IV.3.3 Discussion de l'activité antifongique

Actuellement, peu de médicaments efficaces sont disponibles pour le traitement des infections fongiques. Depuis la connaissance des principes actifs, contenus dans des plantes, et qui sont doués de propriétés pharmacologiques, plusieurs auteurs se sont orientés vers la recherche de plantes à activité antifongique (**Attala , 2019**)

Notre étude visait donc à connaître le rôle inhibiteur Les extraits éthanoliques et aqueuses des feuilles de Lawsonia de cette souche fongique *Aspergillus brasiliensis* Les résultats obtenus sont qu'il n'y a eu aucun effet sur la croissance de ces espèces à toutes les concentrations.

Nos résultats obtenus sont incompatibles avec (**Misra et Dixit ,1979**) où ils ont confirmé que l'extrait éthanolique de la plante a été trouvé dans certaines études pour avoir une activité antifongique. Aussi, (**Muhammad et Muhammad, 2005**) ont réalisé une étude où ils ont testé l'activité de *Lawsonia inermis L.* part contre la souche hospitalière originaire : *Aspergillus niger* et *Fusarium oxosporum*.

Une étude a également montré que l'extrait brut aqueux était actif jusqu'à la concentration de 80 mg/ml contre *Aspergillus niger* et jusqu'à 30 mg/ml contre *Fusarium oxosporum* (**Rahmoun et al., 2013**).

L'étude n'a pas non plus été faite pour l'extrait de *Lawsonia inermis L.* sur la souche *Aspergillus brasiliensis*.

Enfin, les résultats suggèrent que l'extrait de henné pourrait être utilisé comme source alternative d'agents antifongiques pour la protection des humains contre les infections fongiques. La Lawson est l'un des composés bioactifs qui mérite d'être pris en considération en raison de ses activités in vitro intéressantes. Il est important, par la suite, de renforcer de recherche dans plus d'un modèle d'espèces fongiques afin d'établir une base pour l'introduction d'un extrait ou d'une préparation dans la médecine alternative (**Rahmoun et al., 2013**)

IV.4 Effets environnementaux

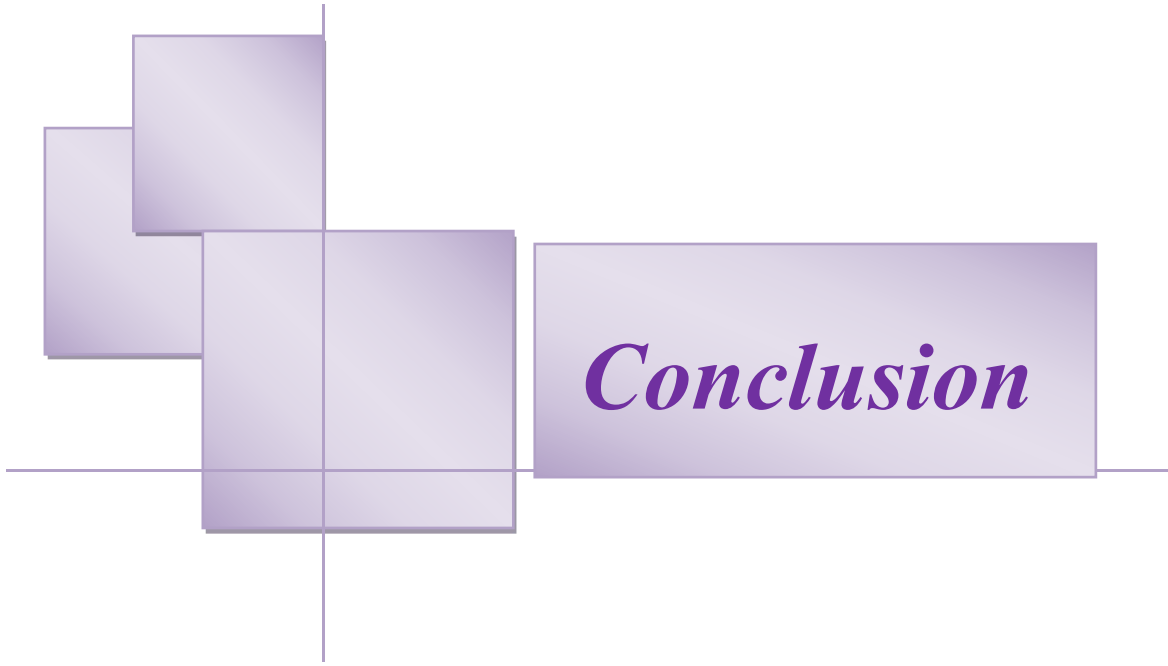
Les plantes médicinales jouent un rôle central dans le développement humain et ont été utilisées depuis la préhistoire jusqu'à nos jours. Selon (O.M.S), 80 % de la population humaine des pays en développement dépendent des médecines traditionnelles, principalement des plantes médicinales, pour leurs soins de santé primaires. Actuellement, au moins 25 médicaments dans le monde sont dérivés directement ou indirectement de plantes médicinales, qui restent la principale source de médicaments (**Ansari et al., 2013**).

On sait que les facteurs abiotiques et biotiques affectent la composition chimique des plantes. L'effet des facteurs abiotiques tels que les conditions de croissance, la température, la lumière, les nutriments, l'eau, etc. a été bien étudié pour déterminer l'impact sur le profil des métabolites secondaire, entraînant souvent une production accrue (**Selmar et Kleinwächter , 2013**).

Les plantes sont physiquement attaquées par de nombreux agents biologiques comme les insectes, les champignons, les virus, les bactéries, les nématodes, ...etc. Certains métabolites secondaires ont des activités antimicrobiennes qui fonctionnent un système défensif chez les plantes contre les agents pathogènes (**Lincoln et Zeiger, 2006**).

Le climat par ses différentes composantes conduit fortement sur la répartition des végétaux et sur leur croissance, leur métabolisme, leur reproduction (**Faurie et al., 2005**)

A travers les résultats obtenus et les études précédentes, nous ne constatons que *Lawsonia inermis* L. à un rôle important comme antibactérien et antifongique dans la lutte biologique.



Conclusion

Les plantes médicinales comme *Lawsonia inermis L.* (le henné) représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs dont on a besoin pour la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. La partie aérienne de la plante est caractérisée par la teneur la plus élevée en polyphénols et tanin tandis que les quantités les plus basses se trouvent au niveau de la partie sous-terrainne. Les feuilles et les racines sont caractérisées par des valeurs plus élevées en flavonoïdes que les tiges. Les résultats obtenus nous mènent à viser loin et à ouvrir des horizons pour réaliser la valorisation de la plante de *Lawsonia inermis L.* et exploiter ses polyphénols dans le domaine thérapeutique.

Ces dernières années, on s'est beaucoup intéressé aux antioxydants et antimicrobiens naturels. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés à des extraits de plantes.

A travers notre travail, des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de la plante du henné ont été obtenus de deux régions la région d'Ouargla et la région d'El Oued par la méthode de macération à froid, ce qui a conduit à l'obtention de rendements variant entre 7,89% et 14,76% pour chacune des deux régions.

Lawsonia inermis L. se caractérise par un fort pouvoir antioxydant Le pourcentage d'inhibition des extraits éthanoliques était de $IC_{50} = 0,09$ mg/ml de l'extrait d'Ouargla et $IC_{50} = 0,08$ mg/ml de l'extrait d'El Oued ,lui permettant d'être employée dans des applications thérapeutiques sachant que les agents antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies du système digestif , de déférentes maladies cancéreuses, de l'athérosclérose et autres...etc.

Dans l'ordre, donc, l'extrait de *Lawsonia inermis L.* est un antioxydant acceptable par rapport aux résultats obtenus.

Quant à l'activité antimicrobienne, nous avons constaté que les extraits éthanoliques et aqueux n'ont pas montré un effet inhibiteur contre les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* et la souche fongique *Aspergillus brasiliensis*.

Mais ces résultats n'empêchent pas que la plante de henné peut être une alternative potentielle aux antibiotiques ; et cela justifie l'utilisation traditionnelle de l'extrait de *Lawsonia inarmis* L. Dans le traitement des maladies, d'où la nécessité de protéger et de promouvoir cette plante.

References bibliographiques

- [01] (<https://fr.tutiempo.net/climat/ws-605590.html>)
- Abbasi M. A. (2010). Investigation on the volatile constituents of *Juglans regia* and their in vitro antioxidant potential. *Pakistan Acad. Sci.*
- Ahmed Ibrahim, Abdel-Fattah, Mona Hafez Hetta (2000). Comparison between the effect of *Lawsonia inermis* and flubendazole on *Strongyloides species* using scanning electron microscopy. *J ParasitDis.* 2016 Jun; 40(2): 415–422. Springer.
- Ait Taadaouit, N., Hsaine, M., Rochdi, A., Nilahyane, A., & Bouharroud, R. (2012). Effet des extraits végétaux méthanoliques de certaines plantes marocaines sur *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). *EPPO bulletin*, 42(2), 275-280.
- Akoègninou A., Vander Burg W.J. and Vander Maesen L.J.G. (2006). Flore Analytique du Bénin, Backhuys Publishers, Leiden. Netherlands, p 1034.
- Ali AN, Attif OA, Mohammed MI. (1999). Herbal medicine in two Yemeni provinces. *Yemen Med J*, 3, 13–20.
- Ali Na, Julich Wd, Kusnick C, Lindequistu , (2001) .Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activity. *Ethnopharmacol*; 74: 173-179 .
- Almeida IF, Fernandes E, Lima JLFC, Costa PC, Bahia MF. (2008). Walnut [*Juglans regia*] leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species.
- Anderson, W. H., Krzanowski, J. J., Polson, J. B., & Szentivanyi, A. (1979). Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle: A possible prostaglandin mediated phenomenon. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 308, 117-125.

- Ansari, S., Wijen, F., & Gray, B. (2013). Constructing a climate change logic: An institutional perspective on the “tragedy of the commons”. *Organisation Science*, 24(4), 1014-1040.
- Aqil, F., Ahmad, I., & Mahmoud, Z. (2006). Propriétés antioxydantes et anti-radicaux libres de douze plantes médicinales indiennes traditionnellement utilisées. *Revue turque de biologie*, 30(3), 177-183.
- Atawodi SE, Ameh DA, Ibrahim S, Andrew, JN, Nzelibe, HC, Onyike E, Anigo KM, Abu EA, James DB, Njoku GC, Sallau AB (2002). Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 79: 279 – 282.
- ATTALA .N, (2019): L’effet de Lawsonia inermis L sur la flore dermique ; étude In vitro et In vivo chez le rat. (Thèse doctorat) Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem p105.
- Botineau., (2010) Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs édition Lavoisier 501pp.
- BOUFELDJA, W. (2017). Evaluation du potentiel nutritionnel et antioxydant de quelques variétés de truffes du désert, effet antimicrobien et anti-inflammatoire (Doctoral dissertation).
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, lavoisier, Paris.
- Bruneton, J. (2009) Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes Médicinales. Lavoisier 4e éd, revue et augmentée, Tec & Dac-Editions médicinales internationales, Paris, 1288 p.

- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and chemical toxicology.
- Carvalho M. (2010). Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of Juglans regia L. Food Chem. Toxicol.
- Casfm/EucasT. (2017) .Compte de l'antibiogramme. In : Société Française de Microbiologie Ed ; 2017 :p. XX-XX.
- Chaudhary G, Goyal S, Poonia P (2010) Lawsonia inermis Linnaeus: A Psychopharmacological Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 2: 91-98.
- Chauhan MG and Pillai APG. (2007). Microscopic profile of powdered drug used in Indian system of medicine, Jamnagar, Gujarat. 84-85.
- Cherbi .R,(2017) :Etude de l'activité antioxydante des fractions lipidiques et phénoliques des feuilles et des graines de Lawsonia inermis d'Algérie .(thèse de doctorat) Université kasdi Merbah Ouargla .P 22_23.
- Chetty KM (2008) Flowering plants of Chittoor, Edn 1, Andhra Pradesh, pp 132.
- CHRISTENSEN, Niklas S., WOOD, Andrew W., VOISIN, Nathalie, et al. The effects of climate change on the hydrology and water resources of the Colorado River basin. Climatic change, 2004, vol. 62, p. 337-363.
- CLEMENT J.M., 1981 *Le Larousse agricole*. Ed. Montparnasse, Paris, 1207 P.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1992). Comparison of the ant oxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. Biosci. Biotechnol. Biochem, 56(2), 324-325.
- D.P.A.T, 2006. Annuaire statistique de la wilaya d'Ouargla, 193p.

- Dasgupta T, Rao AR, Yadava PK. (2003). Modulatory effect of henna leaf (*Lawsonia inermis*) on drug metabolising phase I and phase II enzymes, antioxidant enzymes, lipid peroxidation and chemically induced skin and forestomach papillomagenesis in mice. *Mol Cell Biochem* 245: 11–22.
- DUBIEF., 1964. Essai sur l'hydrogéologie superficielle au Sahara, Institut de météorologie étude physique du globe de l'Algérie, Alger, 384p.
- El Babili F, Valentin A, Chatelaine C., (2013). *Lawsonia Inermis L.: Its Anatomy and its Antimalarial, Antioxidant and Human Breast Cancer Cells MCF7 Activities.*
- El-Fiky FK, Attif O, Aboul Ela M, Gaanem N. (1995). Antimicrobial evaluation of extracts from some Yemeni plants. *Alex J Pharm Sci*, 9, 35–37.
- Ellof, J.N. 1999. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 355-360.
- Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., & Ferchichi, A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis L.*). *Journal of New Sciences*, 20.
- Essafi NE, Ghidouche S, Ducrot PH (2007) Flavonoids: hemi synthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity. *Molecules*, pp 2228-2258.
- FAURIE C., FERRA C. ET MEDORI P., 1980 - *Ecologie*. Ed. Baillière, Paris, 168 p.
- Faurie, C., & Raymond, M. (2005). Handedness, homicide and negative frequency-dependent selection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1558), 25-28.
- Gbolade AA. (2009). Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria. *J Ethnopharmacol* 121: 135–139.

- Goetz, P., & Busser, C. (2007). *La phytocosmétologie thérapeutique*. Paris : Springer.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents : an overview. *Archives of toxicology*.
- Gupta S., AH M., Alam M., Niwa M. et Sakai T., 1992. 24,0 ethylcholest-4-en-33-ol from the roots of *Lawsonia inermis*. *Phytochemistry*; 31: 2558 -2560.
- Habbal, O., S. S. Hasson, et al. (2011). "Antibacterial activity of *Lawsonia inermis* Linn (Henna) against *Pseudomonas aeruginosa*." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1(3): 173-176.
- Hsouna, A. B., Trigui, M., Mansour, R. B., Jarraya, R. M., Damak, M., & Jaoua, S. (2011). Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International journal of food microbiology*, 148(1), 66-72.
- Iqbal, M. Z., Y; Nazir, F; Ali, S; Iqbal, J; Asif, MA; Rashid, O; Ali, GM (2011). "Over expression of bacterial chitinase gene in Pakistani peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivar Golden." *African Journal of Biotechnology* 10(31): 5838.
- Jain VC, Shah DP, Sonani NG, Dhakara S, Patel NM (2010) Pharmacognostical and preliminary phytochemical investigation of *Lawsonia inermis* L. leaf. *Romanian Journal of Biology – Plant Biology* 55: 127–133.
- Janakat, S. M., Al-Fakhiri, S. M., & Sallal, A. K. (2005). Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia clavaryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi Medical Journal*, 26(6), 952-955.
- JASIM, Alyaa Sebti. Evaluation of Antimicrobial activity of flavonoides Extract from *Lawsonia inermis*. *Misan Journal of Academic Studies*, (2010), vol. 9, no 17.

- Jeyaseelan, E. C., Jenothiny, S., Pathmanathan, M. K., & Jayadevan, J. P. (2012). Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of *Lawsonia inermis* L. from Jaffna. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(10), 798-802.
- Kadiatou, malle (2011) Durabilité de la culture du henné dans la région de Koulikoro, au Mali : cas des communes rurales du Méguétan et de Banamba (<http://archimede.bibl.ulaval.ca/archimede/fichiers/28428/28428.pdf>) ; Mémoire de maîtrise en agroforesterie pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.) ; Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université Laval - voir page 24 sur 119
- Kahlouche R., (2013). Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. (thèse de doctorat). Université de Constantine 1.
- Kamaraj, C., Elango, G., Zahir, A.A., Rajakumar, G., Velayutham, K., 2012. Lousicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Lawsonia inermis* leaf aqueous extract against *Pediculus humanus capitis* and *Bovicola ovis*. *Parasitol. Res.* 111, 2023–2033.
- Kathem K. Al-Rubiay, Nawres N Jaber, Al-Mhaawebh, laith K. Alrubaiy. (2008). Antimicrobial Efficacy of Henna Extracts.
- Kim, W., Mohrig, D., Twilley, R., Paola, C., & Parker, G. (2009). Is it feasible to build new land in the Mississippi River Delta?. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, 90(42), 373-374.
- Kirby, A.J., et Schmidt, R.J. (1997). L'activité antioxydante des herbes chinoises pour l'eczéma et les herbes placebo. *Journal d'ethnopharmacologie*, 56(2), 103–108.
- Koppula, S., Ammani, K., & Bobbarala, V. (2010). In vitro screening of nine Indian medicinal plant species against selected clinical pathogens. Research Article. *Journal of Pharmacy Research*, 3(1), 166-168.

- Lachniet, J., Afanasev, A., Arenhövel, H., Brooks, W. K., Gilfoyle, G. P., Higinbotham, D., ... & Lima, A. C. S. (2009). Precise Measurement of the Neutron Magnetic Form Factor G_M^n in the Few-GeV² Region. *Physical review letters*, 102(19), 192001.
- Leva E, Amarb Z. (2008). "Fossils" of practical medical knowledge from medieval Cairo. *J Ethnopharmacol* 119: 24–40.
- Lincoln, T. A. I. Z., & Zeiger, E. D. U. A. R. D. O. (2006). Secondary metabolites and plant defense. *Plant Physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. Capítulo, 13, 125.
- Loo, A. Y., Jain, K., & Darah, I. (2008). Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. *Food chemistry*, 107(3), 1151-1160.
- Maatoug H (1990) « Nos plantes médicinales ». *Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie*, pp116.
- Makhija IK, Dhananjaya DR, Kumar VS, Devkar R, Khamar D, Manglani N, Chandrakar S (2011) *Lawsonia inermis* – from traditional use to scientific assessment. *African Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacy* 2: 145-165.
- Marc EB, Nelly A, Annick DD, Frederic D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *J Ethnopharmacol* 120: 315–34.
- Mishra K., Ojha H., Chaudhury N.K., (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130: 1036-1043.
- Misra SS, Dixit SN. (1979). Antifungal activity of leaf extract of some higher plants. *Acta Bot Indica*, 7, 147–150.

- Moon J-K, Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agric. Food Chem.*, 57(5): 1655-1666.
- Morena, M., Cristol, J. P., Bosc, J. Y., Tetta, C., Forret, G., Leger, C. L., & Canaud, B. (2002). Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in hemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*.
- Mostefa-Kara B, Ziani-Cherif C, Benabdallah M, Rahmoun NM, Villemin D, Choukchou-Braham N, Boucherit K. (2010). New chemical tools for the assessment of hemolytic anemia induced by naphthoquinones. *Der Pharma Chemica*, 2, 14–21.
- Mpondo E, Dibong DS, Priso RJ, Ngoye A, Ladoh YCF(2012) État actuel de la médecine traditionnelle dans le système de santé des populations rurales et urbaines de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* 55 : 4036-4045.
- Muhammad, H. S., & Muhammad, S. (2005). The use of *Lawsonia inermis* Linn.(henna) in the management of burn wound infections. *African Journal of Biotechnology*, 4(9).
- Nabli MA (1991) Diversité floristique en Tunisie. In: conservation des ressources végétales, (Eds.), Rejdali M. et Heywood V. H. Actes Editions Rabat, Maroc.
- NAJAH A, (1971). Le Souf des oasis. Edit la maison du livre. Alger. 1971. 174p.
- Nakhala, A.M., Zakin, N., Mahrous, T.S., Ghali, M.and Youssef, A.M.; (1980). Isolation and identification of four aromatic compounds from henna leaves. *Chem. Microbial. Technol. Lebenson*.
- NathM.Song x., Eng g. etKumar A., (2008). Synthesis and spectral studies of Organotin (IV) 4-amino-3-alkyl-1,2,4-triazole-5-thionates: In vitro antimicrobialactivity. *Spectrochimica Acta Part A* ;70 : 766–774.

- Nayak B. Shivananda , Godwin Isitor , E. M. Davis et G. K. Pillai.(2007). The Evidence based Wound Healing Activity of Lawsonia inermis Linn. phytotherapy research Phytother. Res. 21, 827–831 (2007) Published online 29 May 2007 in Wiley Inter Science (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/ptr.2181.
- O.N.M., (2021). Données climatologique. office national de la météorologie Ouargla. Algérie.
- Okpekon, T., Yolou, S., Gleye, C., Roblot, F., Loiseau, P., Bories, C., Grellier, P., Frappier, F., Laurens, A., Hocquemiller, R., (2004). Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. J. Ethnopharmacol. 90, 9197. Bosoglu, A., Birdane, F., Solmaz, H., (1998). The effect of Henna (Folium lawsoniae) paste in ringworm in calves. Indian Vet. J. 75, 83–84.
- Oliveira I. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food Chem. Toxicol.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (2009); <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>.
- Paris R. R et Moysé. (1965). Précis de matière médicale Edition Paris : Masson.
- Pereira J.A. (2008). Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Food Chem. Toxicol.
- Perinet, I., Lioson, E., Tichadou, L., Glaizal, M., & de Haro, L. (2011). Ingestion volontaire de decoction de henné (*Lawsonia inermis*) d'un déficit en G6PD. Med Trop (Mars), 71(3), 292-4.
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination : a review. Biochem Anal Biochem.

- Pitchaon, Maisuthisakul, Maitree, Suttajit, Rungnaphar, Pongsawatmanit (2007) Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* 100: 1409-1418 Sereme A.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Ponnusamy, K., Petchiammal, C., Mohankumar, R., Hopper, W., (2010). In vitro anti-fungal activity of indirubin isolated from a South Indian ethnomedicinal plant *Wrightia tinctoria* R. Br. *J. Ethnopharmacol.* 132, 349–354.
- Prakash, D., Singh, B. N., & Upadhyay, G. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). *Food chemistry*, 102(4), 1389-1393.
- Qamar W., et Sultana S. (2011). Polyphenols from *Juglans regia*. (Walnut) kernel modulate cigarette smoke extract induced acute inflammation, oxidative stress and lung injury in Wistar rats. *Hum. Exp. Toxicol.*
- Rahimipannah M. (2010). Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. *Afr. J. Food Sci. Technol.*
- Rahmoun Mohamed .Nadjib.(2009) .Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des produits dérivés de la LAWSONE .thèse de doctorat .p 104.PP14.
- Rahmoun, M. N., Benabdallah, M., Villemin, D., Boucherit, K., Mostefa-Kara, B., Ziani-Cherif, C., & Choukchou-Braham, N. (2010). Antimicrobial screening of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Der Pharma Chemica*, 2(6), 320-326.
- Rahmoun, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., & Choukchou-Braham, N. (2013). Antifungal activity of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Pharmaceutical biology*, 51(1), 131-135.

- RAMADE F., (2003) *Éléments d'écologie-écologie fondamentale*, Ed. Dunod. Paris, 690.
- Ratledge, C. and S. G. Wilkinson (1988). *Microbial lipids*. London [etc.], Academic Press.
- ROUVILLOIS-BRIGOL M., (1975). *Le pays d'Ouargla (Sahara algérien : Variations et organisation d'un espace rural en milieu désertique*. Publications du Département de géographie de l'Université de Paris-Sorbonne, 389 p.
- Sakarkar,D.;Sakarkar,U.;Shrikhande,U.;Vyas,V.;Mandavgade,S.;Jaiswal,S.and Purohit,R.(2004).Wound healing properties of henna leaves.Natural Product Radiance ,3(6):406-411.
- Salido, G. M., Sage, S. O., & Rosado, J. A. (2009). TRPC channels and storeoperated Ca²⁺ entry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*.
- Santhanamari, T., Meenakshi, P.R., Velayutham, S., (2011). "in vitro antibacterial activity of extracts of Lawsonia inermis and Punica granatum against clinicall isolated antibiotic resistant Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 4: 62-65.
- Selmar, D., Kleinwächter, M., (2013). 'Influencer le produit qualité en appliquant délibérément un stress hydrique lors de la culture des plantes médicinales'. *Ind Crops Prod* 42:558–566.
- Sepúlveda, L., A. Ascacio, et al. (2013). "Ellagic acid: Biological properties and biotechnological development for production processes" . *African Journal of Biotechnology* **10**(22): 4518-4523.

- Sharma V.K .(1990).Tuberculostatic activity of henna (lawsonia inermis Linn).71 :293295.henna remedy for candida yeast infections. Article in candida hub review .The Best Natural Henna Yeast Infection Cure. <https://candidahub.com/Herbal-Cures/Henna-Remedy-forCandida-Yeast-Infections>.
- Sharma, J., Gairola, S., Gaur, R.D., Painuli, R.M., (2012). The treatment of jaundice with medicinal plants in indigenous communities of the Sub-Himalayan region of Uttarakhand, India. Journal of Ethnopharmacology 143, 262 – 291 .
- Sijelmassi A (1993) - Les plantes médicinales du Maroc, 6ème édition. Fenec. Casablanca. pp285.
- Smallfield B., (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research (45): p1-4.
- So,B.; Bashar, I.; Muhammad , B. and Onyeyili ,P.(2010). Acute toxicity and uterotonic activity of aqueous extract of Lawsonia inermis (Lythraceae). RJPBCS :1 (3):790-798.
- Tauheed AM et al. In vivo ameliorativ e effects of meth anol leaf extract of Lawsonia inermis Linn on experimental Try panosoma congolense infection in Wistar ra ts, Int J of Vet Sci Med (2016), ht tp://dx.doi.org /10.1016/j.i jvsm.2016.10.005.
- Taylor, J., T. Rabe, et al. (2001). "Towards the scientific validation of traditional medicinal plants." Plant growth regulation 34(1): 23-37.
- TOUTAIN G., (1979). R éléments d'agronomie saharienne de la recherche au developpement. ed .toutain , paris , 276p.
- Wicht l M., (1999). Plantes thérapeutiques: Tradition, pratique officinale. Science et thérapeutique3ème édition. Edition française par Robert Anton. Technique et documentation. p: 262-264.

- Wiem, A., Smail, A., Wissem, M., Faleiro, M., & Miguel, M. (2014). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of leaf, flower and seed aqueous extracts of *Lawsonia inermis* from Tunisia. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6(5), 975-1491.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
- Wong KC, Teng YE (1995) Volatile Components of *Lawsonia inermis* L. Flowers. *J Essent Oil Res* 7 : 425-428.
- Yogisha S., Samiulla S. D., Prashanth D., Padmaja R., Amit A., (2002). Trypsininhibitory activity of *Lawsonia inermis*. *Filoterapia*; 73 :690-691.
- Zhang Y. et Lewis K.,(1997). Fabatins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiol.Lett* ; 149:59–64.
- Zhang Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia*).
- Zohourian, T. H., Quitain, A. T., Sasaki, M., & Goto, M. (2011). Polyphenolic contents and antioxidant activities of *Lawsonia inermis* leaf extracts obtained by microwave-assisted hydrothermal method. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 45(4), 193-204.
- Zumrutdal ME, Ozaslan M, Tu zcu M, Kalender ME, Dag lioglu K, Akova A, Karagoz ID, Kilic IH, Colak O, Koksall F (2008) Effect of *Lawsonia inermis* treatment on mice with sarcoma. *African Journal of Biotechnology* 7 : 2781-2786.