



République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et  
de la Recherche Scientifique  
Université Abbes Laghrou  
Khenchela



Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département Biologie moléculaire et cellulaire

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER Académique**

**FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES**

**OPTION : BIOTECHNOLOGIE ET AMELIORATION DES PLANTES**

**Thème**

*Evaluation de l'activité antioxydante de la plante  
Hyoscyamus albus L .traitée par les phytorohormones  
( 2,4-D et K)*

**Présenté par :**

Nasri zakia djenette

**Jury de Soutenance**

|                  |               |     |                               |
|------------------|---------------|-----|-------------------------------|
| <b>Président</b> | Mme HAMLII .S | MCB | Univ. Abbes Laghrou Khenchela |
| <b>Encadreur</b> | Mme KADI K.   | MCA | Univ. Abbes Laghrou Khenchela |
| <b>Examineur</b> | Mme ZITOUNI.W | MAA | Univ. Abbes Laghrou Khenchela |

*Année universitaire 2016/2017*

# Remerciement

*Ce travail est d'abord le fruit et la volonté de DIEU*

*Le tout puissant, le Miséricordieux, le Clément par*

*Qui nous sommes et qui nous devons être. Je vous rends grâce de m'avoir permis d'en arriver là aujourd'hui, je vous remercie mon DIEU et vous prie de continuer à m'assister et à donner la force et le courage nécessaire à la réalisation de mes ambitions.*

*Nos vifs remerciements à notre encadreur Dr.KADI KANZA, de nous avoir données l'opportunité de faire ce mémoire dans de bonnes conditions et de nous avoir soutenues tout au long de ce travail.*

*On a exprimé nos profonds remerciements et notre gratitude aux membres du jury La présidente Dr. HAMLIS. et l'examinatrice Mme ZITOUNI W. , qui ont bien voulu nous faire l'honneur de consacrer de leur temps à l'examen de ce travail*

*A toute personnes qui nous ont aidés de près ou de loin.*



# dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*


*A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien,  
son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le  
déroulement de mes études.*

*A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de  
vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

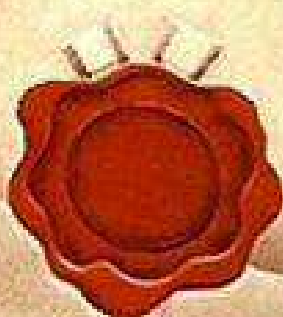
*A mes frères et mes sœurs.*

*A jhed*

*A mon ange lolooo*



*Aussi, je dédie ce travail à tous mes chères amies sur  
tout :Soumia ,Lamia, Nadia, Radhia,khawla,Aicha*



# Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Partie théorique

## CHAPITRE I : Généralités sur la plante *Hyoscyamus albus*L

|  |    |
|--|----|
| I.1. La famille des SOLANACEAE.....                                  | 03 |
| I.2. L' <i>Hyoscyamus albus</i> L .....                              | 03 |
| I.2.1. Présentation du genre <i>Hyoscyamus</i> .....                 | 04 |
| I.2.2. Les espèces de la jusquiame.....                              | 04 |
| I.2.3. Habitat des jusquiames.....                                   | 05 |
| I.2.4. Composition chimique des jusquiames.....                      | 05 |
| I.2.5. La phytothérapie et usage traditionnel des jusquiames.....    | 05 |
| I.2.6. L'espèce <i>Hyoscyamus albus</i> L.....                       | 06 |
| I.2.7. Systématique.....   | 07 |
| I.2.8. Utilisation de la plante dans la médecine traditionnelle..... | 08 |

## CHAPITRE II : Les composés phénoliques

|  |    |
|--|----|
| II.1. Les métabolites secondaires.....                 | 09 |
| II.2. Rôle biologique des métabolites secondaires..... | 09 |
| II.3. Les composés phénoliques.....                    | 09 |
| II.3.2. La biosynthèse des composés phénoliques.....   | 09 |
| II.3.2.1. La voie de shikimate.....                    | 09 |
| II.3.2.2. La voie de phénylpropanoïde.....             | 10 |
| II.3.3. Classification des composés phénoliques.....   | 11 |
| II.3.4. Rôle des polyphénols.....                      | 12 |
| II.3.5. Les flavonoides.....                           | 12 |
| II.3.5.1. Structure chimique des flavonoides .....     | 13 |

|  |    |
|--|----|
| II.3.5.2 Classification des flavonoides.....       | 13 |
| II.3.5.2.1. Les flavones.....                      | 13 |
| II.3.5.2.2. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)..... | 14 |
| II.3.5.2.3. Les isoflavones.....                   | 14 |
| II.3.5.2.4. Les flavanones.....                    | 14 |
| II.3.5.2.5. Les flavanes.....                      | 14 |
| II.3.5.2.6. Les anthocyanes.....                   | 15 |
| II.3.5.3. Localisation et distribution.....        | 15 |
| II.3.5.4. Quelques propriétés des flavonoïdes..... | 16 |
| II.3.6. Les tanins.....                            | 16 |
| II.3.6.1. Classification.....                      | 16 |
| II.3.6.1.1. Tanins hydrolysables.....              | 16 |
| II.3.6.1.2. Tanins condensés.....                  | 17 |
| II.3.6.2. Utilisation des tanins.....              | 17 |
| II.3.6.2.1. En pharmacie.....                      | 17 |
| II.3.6.2.2. Dans l'industrie.....                  | 17 |
| II.4. Les activités biologiques de la plantes..... | 17 |

### **CHAPITRE III : L'activité antioxydante**

|  |    |
|--|----|
| III. L'activité antioxydante.....                                      | 19 |
| III.1. Généralité .....  | 19 |
| III.2. Définition des antioxydants.....                                | 20 |
| III.3. Mécanismes d'action des antioxydants.....                       | 21 |
| III.4. Les types des antioxydants.....                                 | 20 |
| III.4.1. Les antioxydants primaires.....                               | 20 |
| III.4.2. Les antioxydants secondaire.....                              | 21 |
| III.5. Classification des antioxydants suivant la nature chimique..... | 21 |
| III.5.1. Les antioxydants enzymatiques.....                            | 21 |
| III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques.....                        | 22 |
| III.6. Radicaux libres.....  | 22 |
| III.6.1. Définition.....   | 22 |
| III.6.2. Nature des radicaux libres.....                               | 22 |

|  |    |
|--|----|
| III.6.3. Rôles biologique des radicaux .....                                       | 23 |
| III.7. Les methodes de l'évolution de l'activité anticixidante.....                | 23 |
| III.7.1. Test DPPH.....  | 23 |
| III.7.1.1. Principe.....   | 24 |
| III.7.1.2. Dosage.....   | 24 |
| III.7.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)..... | 25 |
| III.7.2.1. Principe.....   | 25 |
| III.7.3. Méthode de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter).....       | 25 |
| III.7.3.1. Principe.....   | 25 |
| III.7.4. Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....                       | 26 |
| III.7.4.1. Principe.....   | 26 |
| III.7.5. Méthode de DEPG (N,N-dimethyl-p-phenylene diaminedihydrochloride).....    | 27 |
| III.7.5.1. Principe.....   | 27 |

## **Chapitre IV : Les phytohormones**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>IV.1. Définition d'une phytohormone.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>IV.1.1. Les cytokonines.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>IV.1.3. Fonction et rôle des cytokinines.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>IV.1.2. La kinetine (6-furfurylaminopurine) C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>O.....</b>           | <b>28</b> |
| <b>IV.1.3. Fonction et rôle des cytokinines.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>IV.2.1. Les auxines.....</b>   | <b>29</b> |
| <b>IV.2.2. 2,4-D ACIDE (2,4-DICHLOROPHENOXY) C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>CL<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.....</b> | <b>29</b> |
| <b>IV.2.3. Fonction et rôle.....</b>  | <b>30</b> |

## **Parties pratiques :**

|  |    |
|--|----|
| I. Matériel et Méthodes.....                 | 31 |
| I.1. Objectif du travail.....                | 31 |
| I.2. Etude phytochimique de la plante.....   | 31 |
| I.2.1. Matériel végétal.....                 | 31 |
| I.2.2. Préparation des extraits.....         | 32 |
| I.2.3. Calcul du rendement des extraits..... | 32 |
| I.2.4. Screening phytochimique.....          | 32 |

|   |    |
|---|----|
| I.2.4. Mise en évidence des tanins.....   | 32 |
| I.2.4.2. Mise en évidence des saponosides.....  | 32 |
| I.2.4.3.Mise en évidence des flavonoïdes.....   | 33 |
| I.2.4.4.Mise en évidence des composés réducteurs.....                                       | 33 |
| I.2.4.5. Mise en évidence des coumarines.....   | 33 |
| I.2.4.6.Mise en évidence des alcaloïdes.....  | 33 |
| I.2.4.7.. Mise en évidence des quinones.....  | 33 |
| I.2.4.8. Mise en évidence des coumarines.....   | 34 |
| I.2.5. Etude quantitative des extraits de la plante <i>H. albus</i> .....                   | 3  |
| I.2.5.1. Dosage des polyphénols.....  | 34 |
| I.2.5.2. Dosage des Flavonoïdes.....  | 35 |
| I.2.5.3. Dosage des Tanins.....   | 35 |
| I.3. Evaluation de l'activité antiradicalaire.....  | 36 |
| I.4. Analyse statistique des données.....   | 37 |
| II-Résultats et discussion.....   | 38 |
| II.1.Rendements des extraits bruts.....   | 38 |
| II.2.Etude phytochimique de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones..... | 39 |
| II.2.1-Screening phytochimique.....   | 39 |
| II.2.2.Etude quantitative des composés phénoliques.....                                     | 40 |
| II.2.2.1. la teneur en polyphénols.....   | 40 |
| II.2.2.2. la teneur en flavonoides.....   | 42 |
| II.2.2.3. la teneur en tanins.....  | 43 |
| II.3.Evaluation de l'activité antioxydante relative.....                                    | 45 |
| II.4. L'analyse des composantes principales (ACP).....                                      | 47 |
| Conclusion.....   | 49 |
| Références.....   | 51 |
| Annexe  |    |
| Résumé  |    |

## 2Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1 :</b> les rendements des extraits.....   | 38 |
| <b>Tableau 2 :</b> Résultats du screening phytochimique des extraits méthanoliques de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones..... | 39 |
| <b>Tableau 3 :</b> Teneur en polyphénols de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones.....   | 40 |
| <b>Tableau 4 :</b> Teneur en flavonoides de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones.....   | 42 |
| <b>Tableau 5 :</b> Teneur en tanins de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones.....  | 44 |
| <b>Tableau 6 :</b> Les pourcentages d'inhibition des extraits de la plante <i>H. albus</i> L. traitée par les phytohormones.....                      | 46 |

**Liste des figures**

**Figure .1.** Les différentes espèces de la famille de solanacae.....03

**Figure .2.** *Hyoscyamus albus* avec ses différentes parties.....07

**Figure .3.** La voie de shikimate.....10

**Figure .4.** La voie de phénylpropanoïde.....11

**Figure .5.** Structure chimique de base des flavonoïdes.....13

**Figure .6.** Structure de flavones.....13

**Figure .7.** Structure des flavonols.....14

**Figure .8.** Structure de base des isoflavones.....14

**Figure .9.** Structure de base des anthocyanidines .....15

**Figure .10.** Classification des tanins.....17

**Figure.11.** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....21

**Figure. 12.** les systèmes de défense contre les radicaux libres.....22

**Figure .13.** Structure chimique du radical libre DPPH<sup>\*</sup> (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle.....25

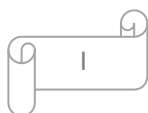
**Figure .14.** Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1picrylhydrazyl).....25

**Figure .15.** Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) .....26

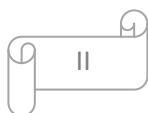
|   |    |
|---|----|
| <b>Figure .16.</b> Structure chimique du K.....   | 30 |
| <b>Figure.17.</b> Structure chimique du 2,4-D.....  | 31 |
| <b>Figure .18.</b> Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.....   | 34 |
| <b>Figure .19.</b> Courbe d'étalonnage de la Quercitine.....  | 35 |
| <b>Figure .20.</b> Courbe d'étalonnage de la Catéchine.....   | 36 |
| <b>Figure.21.</b> Les teneurs en polyphénols.....   | 41 |
| <b>Figure .22.</b> Teneurs en flavonoides.....  | 43 |
| <b>Figure .23.</b> Teneurs en tanins.....   | 45 |
| <b>Figure .24.</b> l'activité antioxydante relative des extraits des différents traitements par les phytohormones de la plante <i>H. albus</i> L..... | 46 |
| <b>Figure .25.</b> Projection des paramètres mesurés sur le plan engendré par les axes 1 et 2.....  | 48 |
| <b>Figure .26.</b> Projection des traitements sur le plan engendré par les axes 1 et 2.....   | 48 |

## Liste des abréviations

- °C : degré de Celsius
- **2,4-D** : 2,4- Dichloro Phénoxy Acétique
- **Abs** : Absorbance
- **AlCl<sub>3</sub>** : Aluminium Chloride
- **AUC** : Aire sous la courbe
- **CAT** : la catalase
- **-CO-** : monoxyde de carbone
- **DEPG** : N,N-dimethyl-p-phenylene diaminedihydrochloride
- **DO**: Densité optique
- **DPPH** : 2,2 Diphenyl 1-picryl-hydrazyl
- **ENR** : espèces azotées radicalaires
- **EOR** : espèces oxygénées radicalaires
- **Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques
- **FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer
- **FRAP** : Ferric reducing-antioxidant power
- **g** : gramme
- **GPx** : la glutathion peroxydase
- **GSH** : Glutathion réduit
- **H.** : Hyoscyamus
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène
- **HAMeOH** :Extrait méthanolique d'Hyoscyamus albus
- **HbA1** : hemoglobine glyqué
- **Hgel** : Chlorure de mercure
- **K** : kénetine
- **KI** : Iodure de potassium
- **L** : Linné
- **ml**: Millilitre
- **NaOH** :Hydroxyde de sodium
- **NBT<sup>2+</sup>** : Nitro-Blue Tétrazolium
- **NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium



- **-O<sub>2</sub>** : l'anion superoxyde
- **OH** : Hydroxyde
- **ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity
- **P<sub>A</sub>** : poids de la plante (g)
- **P<sub>E</sub>** : Poids de l'extrait (g)
- **Phe** : la phénylalanine
- **R %** : rendement de l'extrait en pourcentage
- **R•** : Radical d'acide gras
- **RL** : Radicaux libres
- **RO•** : Radical alkoxyde
- **ROO•** : Radical peroxyde
- **ROS** : espèces réactives oxygénées
- **R-PE** : R-phycoérythrine
- **SAS** : société par action simplifiée
- **SOD** : superoxyde dismutase
- **TEAC** : Trolox équivalent antioxidant capacity
- **TPTZ** : ferric2,4,6-tripyridyl-s-triazine
- **TRAP** : Total radical-trapping antioxidant parameter
- **UV** : Radiations Ultra violet



# *Introduction*

### Introduction

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**). Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières reviennent au premier lieu car l'efficacité des médicaments décroît vue leurs effets secondaires sur la santé publique.

Actuellement l'utilisation des substances bioactives couvre un vaste domaine, allant de la bactériologie, virologie à l'hématologie. ... traduisant leur importance en médecine humaine surtout. Parmi ces substances, on trouve les alcaloïdes, les composés phénoliques. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement aux structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles (**Nur Alam et al., 2013**).

La toxicité des antioxydants synthétiques, a conduit de chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne et antioxydante. Les radicaux libres (RL) en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardio-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde, le diabète et le processus d'apoptose ; en plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécules.

En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement tant dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer) que dans l'industrie agro-alimentaire.

l'espèce *Hyoscyamus albus* appartient à la famille des Solanacées qui est reconnue par sa richesse en métabolites secondaires et particulièrement en alcaloïdes tropaniques; elle est utilisée comme un parasympatholytique et comme un sédatif nerveux (**Fransworth et al., 1985**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de la plante *Hyoscyamus albus* L. traitée par les phytohormones (une auxine : 2,4-D et une cytokinine : la kinetine) séparées et interagées avec les doses 0,10 et 20 mg/L.

Dans la première partie après une introduction générale et en premier chapitre de ce mémoire, nous avons commencé par une étude bibliographique comporte des généralités sur l'espèce utilisée dans cette étude.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons les composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés. Le troisième chapitre portera sur l'étude des radicaux libres, ceci est suivi par un rappel de quelques méthodes les plus utilisées (piégeage du radical DPPH, réduction de fer...) pour évaluer le pouvoir antioxydant *in vitro*.

Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui se déroule en deux axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tannins). Dans le deuxième axe, nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de la plante par la méthode de piégeage par DPPH.

Enfin, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante des extraits de la plante .et nous avons terminé par une conclusion recupulative .

# Chapitre I:

Généralités sur la plante *Hyoscyamus albus* L.

## I. Généralités sur la plante *Hyoscyamus albus* L.

### I.1. La famille des SOLANACEAE

Cette famille rassemble 147 genres et environ 2 900 espèces réparties dans les régions chaudes et tempérées, avec un important centre de dispersion en Amérique du Sud, d'où sont originaires les pommes de terre, les aubergines, les tomates, les piments... ( **Botineau, 2010**).

Les SOLANACEAE sont généralement divisées en 2 sous-familles : les *Solanoideae* et les *Cestroideae*. A Madagascar toutes les espèces de SOLANACEAE appartiennent aux *Solanoideae* à l'exception de *Tsoala* et des espèces introduites appartenant aux genres *Brunfelsia*, *Cestrum*, *Nicotiana* et *Petunia* ( **D'arcy et al., 1994**).

A Madagascar, les SOLANACEAE sont importantes sur le plan économique et par le nombre d'espèces qui ont été introduites dans de nouvelles régions durant ces derniers siècles. Les espèces de cette famille sont des plantes alimentaires, médicinales ou ornementales et beaucoup d'entre-elles sont nuisibles ( **D'arcy et al., 1994**) (**Figure 1**).



- **Figure.1.** Quelques espèces de la famille des solanaceae (<http://www.potgercaillebotte.fr/vie-du-potager/theme-annuel/>)

### I.2. L' *Hyoscyamus albus* L

La jusquiame appartient à la famille des Solanacées, est l'une des plantes des anciens. Initialement utilisée à la fois comme un poison et stupéfiant, elle a été largement adoptée par les sorcières et les devins comme un élément de leurs onguents d'hallucination et de vol (Lee, 2006).

Historiquement, l'utilisation d'extraits de plantes contenant des alcaloïdes comme des potions, des médicaments et des poisons peut-être retracée presque depuis le début de la civilisation (Lee, 2006).

La toxicité des jusquiames était déjà signalée par le médecin et le botaniste Dioscoride (Quetin Leclercq, 2002). Au Moyen-âge, les sorcières s'enduisaient la peau d'onguents à base des Jusquiames pour provoquer des hallucinations ou dans des séances de lévitation.

La jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus* L.) a été également utilisée par les empoisonneurs célèbres comme Madame Voisin en France. Finalement, dans le dix-neuvième siècle, Landenburg a isolé le principe actif de *H. albus* et il l'a appelé l'Hyoscine. Il s'est avéré être un alcaloïde tropane très similaire à l'atropine, ces deux alcaloïdes s'est avéré très important dans l'étude du parasymphatique, composant du système nerveux autonome (Quetin Leclercq., 2002)

### I.2.1. Présentation du genre *Hyoscyamus*

*Hyoscyamus*, «La Jusquiame», est une plante à fleurs monopétales, qui a des rapports avec les nicotines et les molènes et qui comprend des herbes à feuilles alternes, entières ou découpées, et a fleurs un peu irrégulières, axillaires et terminales. Le caractère essentiel de ce genre et d'avoir un calice quinqueside, une corolle infundibuliforme, à limbe oblique, obtus et à cinq lobes ; cinq étamine inclinées, une capsule operculée, et biliculaire (Mahmood et al., 2001).

Toutes les jusquiames sont toxiques. Deux sont très utilisées en pharmacie *Hyoscyamus niger* et *Hyoscyamus muticu* (Jouzier, 2000)

### I.2.2. Les espèces de la jusquiame

Selon (Quézel et al., 1963), les espèces les plus connus dans le monde sont :

- *Hyoscyamus canariensis* Ker Gawl.
- *Hyoscyamus clusii* G.Don.
- *Hyoscyamus luridus* Salisb.

- *Hyoscyamus major* Mill.
- *Hyoscyamus minor* Mill.
- *Hyoscyamus saguntinus* Pau.
- *Hyoscyamus varians*.
- *Hyoscyamus albus* L.

### I.2.3. Habitat des jusquiames

Le genre *Hyoscyamus* comporte une vingtaine d'espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces, vivant sur les talus, les falaises, les friches et les plages de galets, les décombres, et les murs, surtout représentées dans le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale (Jouzier, 2000 ; Goullé *et al.*, 2004).

### I.2.4. Composition chimique des jusquiames

Ces plantes sont toxiques, contenant divers alcaloïdes tels que l'atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine. Elle est cependant moins dangereuse que le datura ou la belladone, qui contiennent les mêmes alcaloïdes mais en plus grandes proportions.

La drogue provient surtout des plantes sauvages d'Egypte, et elle est exportée dans divers pays en vue de l'extraction des alcaloïdes. La drogue d'origine égyptienne se reconnaît aisément à la présence de poils caractéristiques. Elle fournit une plus forte proportion d'alcaloïdes totaux que l'espèce officinale, *H. niger* L .

Selon le Codex pharmaceutique britannique (Quézel *et al.*, 1963) , la Jusquiame d'Egypte contient 0,6 à 1 % d'alcaloïdes totaux, dont 90 % d'hyoscyamine. D'après la pharmacopée indienne (Goullé *et al.*, 2004), elle doit renfermer au moins 0,5 % d'hyoscyamine.

### I.2.5. La phytothérapie et usage traditionnel des jusquiames

Les jusquiames noires (*Hyoscyamus niger*) et jaunes (*Hyoscyamus muticus*) ont été considérées comme des espèces très dangereuses alors que la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus*) a été préférée à des fins médicinales, en fonction de ses effets narcotiques, anti-inflammatoires et désinfectantes dues à la présence d'hyoscyamine et de scopolamine

(Daunay *et al.*, 2007).

Le genre *Hyoscyamus*, est surtout l'espèce niger est bien documentée dans le système traditionnel de la médecine chinoise pour son utilisation dans les crampes d'estomac, la toux lourde, les névralgies et la psychose (Kirtikar *et al.*, 1984).

Dans la médecine tibétaine, les graines sont utilisées comme vermifuge, fébrifuge et anti-tumorale. Ils sont également avérés utiles dans le traitement de l'estomac ou les douleurs intestinales, mal de dents, inflammation de la région pulmonaire et les tumeurs (Sajeli *et al.*, 2006).

### I.2.6. L'espèce *Hyoscyamus albus* L

Le nom générique de l'espèce *Hyoscyamus albus* L. est dérivé du grec Hyos (le cochon) et Kiamos (haricot) et le nom de l'espèce (*albus*) blanc (Lee, 2006).

*Hyoscyamus albus* L. est une plante annuelle ou bisannuelle, qui mesure de 30 à 90 cm de hauteur, à port dressé, a des feuilles plus petites que la jusquiame noire (5 à 10 cm de long), elles sont larges, ovales, collantes et de couleur vert clair. Au printemps, la floraison, donne des fleurs de 1 à 3 cm de long, bilabiées, irrégulièrement lobées, de couleur vert pâle

(Mahmood *et al.*, 2001)(Figure 2).

La jusquiame blanche a une odeur vireuse, nauséabonde et presque aussi forte que celle de la jusquiame noire, la saveur de ses feuilles est herbacée, très peu acre. L'odeur nauséabonde caractéristique du genre *Hyoscyamus* est due aux composés tetrahydroputrescines qui rappellent celui de la chair en décomposition et qui probablement attirent les insectes pollinisateurs (Lee, 2006).

Les noms communs de *H. albus* sont : en arabe : sakaran, en Chaoui: Guinguith, en français : Jusquiame blanche, en anglais : White Henbane.



**Figure .2.** *Hyoscyamus albus* L. avec ses différentes parties (Valdes et al., 1987)

### **I.2.7. Systématique (Trease et al., 1983)**

**Règne :** Végétal.

**Sous règne :** Eucaryotes.

**Embranchement :** phanérogamae.

**Sous embranchement :** Angiospermae.

**Classe :** Dicotylédones.

**Série :** sympétales.

**Ordre :** tubiflores.

**Famille :** solanaceae.

**Genre :** *Hyoscyamus*.

**Espèce :** *Hyoscyamus albus* L.

### I.2.8. Utilisation de la plante dans la médecine traditionnelle

L'emploi de la jusquiame blanche n'est pas aussi répandu que celui de la noire, ou plutôt elle est moins souvent recommandée. Car étant très fréquemment confondu avec l'autre dans le commerce, elle est à cause de cela également employée. Ce qui est sans beaucoup d'inconvénients, parce que ses propriétés diffèrent peu. Toutefois, il serait préférable de ne se servir que de la noire, parce que c'est l'espèce que la majorité des expériences ont été faites pour déterminer les doses thérapeutiques (**Jouzier, 2000**).

À dose thérapeutique, la jusquiame est employée comme parasympholytique et sédatif nerveux (**Jouzier, 2000**). Les feuilles sont utilisées comme anodin, narcotique, sédatif dans les affections nerveuses. Il est souvent utilisé comme un substitut de *H. muticus* (**Daunay et al., 2007**).

# **Chapitre II:**

**Les composés phénoliques**

## II. Les composés phénoliques

### II.1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002, Abderrazak et Joël., 2007**).

### II.2. Rôle biologique des métabolites secondaires

1. Défense contre les virus.
2. Défense contre les herbivores (insectes, vertèbres...)
3. Défense contre les moisissures et les bactéries.
4. Défense contre autre plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs (Allelopatie).
5. Composés du signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graine (disseminateur).
6. La protection contre les UV ou autre stress physique (**Wink , 2010**).

### II.3. Les composés phénoliques

#### II.3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (**Bruneton, 1999 ; Lugasi et al ., 2003**).

#### II.3.2. La biosynthèse des composés phénoliques

##### II.3.2.1. La voie de shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie dephénylpropanoide (**Kening et al., 1995**) (**Figure3**).

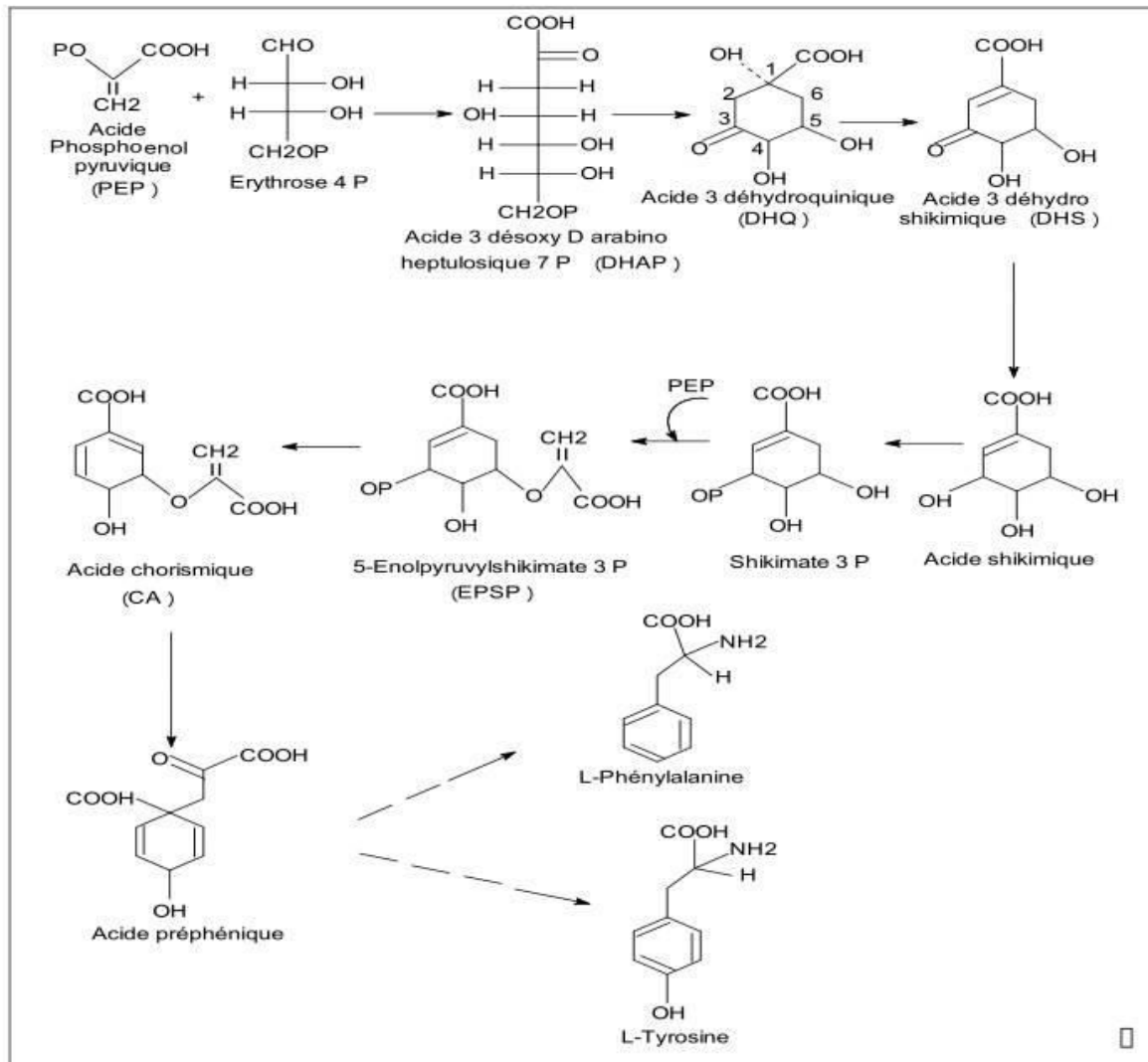


Figure.3. La voie de shikimate (Floss, 1997).

### II.3.2.2. La voie de phénylpropanoïde

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, iso flavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second bio polymère le plus important après la cellulose (Hoffmann et al., 2004) (Figure 4).

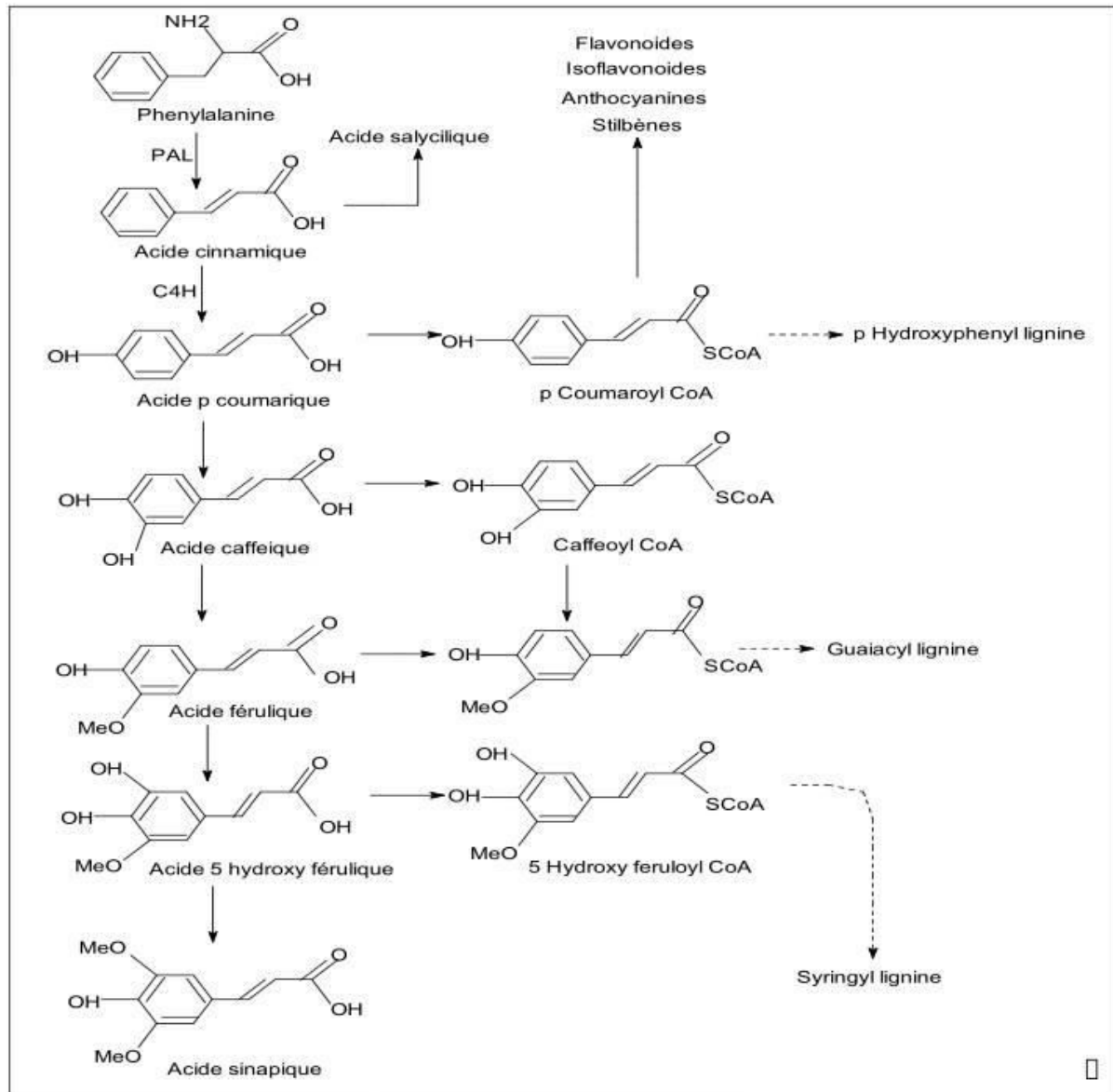


Figure 4. La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann *et al.*, 2004).

### II.3.3. Classification des composés phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols, (Calabrese, 2003). Ils sont classés en

- Les acides phénoliques ;
- Les acides hydroxycinnimiques ;
- Les flavonoïdes ;
- Les tanins ;

### II.3.4. Rôle des polyphénols

#### *Chez les plantes*

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

- ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graine,
- représentent un système de défense contre les organismes micro pathogènes, protègent les plantes contre les radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées.
- interviendraient dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (**Stalikas, 2007**).

#### *Chez l'homme*

Plusieurs propriétés biologiques ont été attribuées aux polyphénols:

- Anticancérigènes : flavonoïdes (**Ko et al., 2000 ; Tripoli et al., 2007 ; Li et al., 2008 ; Hirata et al., 2009**). coumarines (**Ito et al., 2005 ; Win et al., 2008 ; Hirata et al., 2009**).
- anti-ulcéreuses : flavonoïdes et acides phénoliques (**Martin et al., 1993 , Sannomiya et al., 2005 ; De Barros et al., 2008 ;Gurbuz et al., 2009**).

### II.3.5. Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange(**Ghedira, 2005**), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus = jaune) (**Male\_Év et al., 2007**).

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées, Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (**Ghedira, 2005**).

### II.3.5.1. Structure chimique des flavonoïdes

structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phenyl-benzo- $\gamma$ -pyrane) mais de point de vue classification, le groupe des flavonoïdes peut être divisé en plusieurs catégories. Cette division dépend de l'hydroxylation du noyau du flavonoïde aussi bien que du sucre lié (Ghedira, 2005).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane (Figure 5).

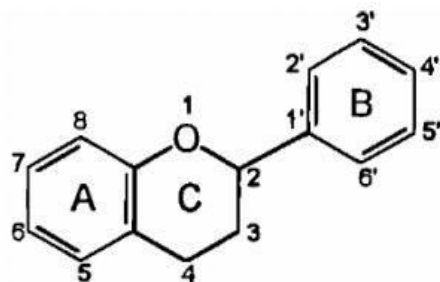


Figure .5. Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001).

### II.3.5.2. Classification des flavonoïdes

#### II.3.5.2.1. Les flavones

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que les flavonols ; cependant l'apigénine et la lutéoline, dont l'hydroxylation correspond respectivement à celle du kaempferol et la quercétine, sont des constituants assez fréquents dans les différentes familles d'Angiospermes (Ribéreau-Gayon, 1968)( Figure 6).

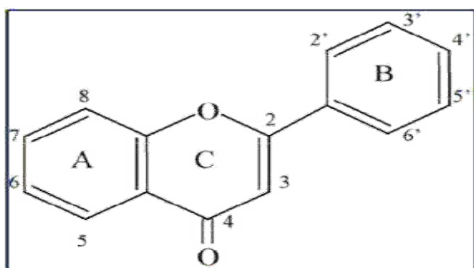


Figure.6. Structure de base des flavones

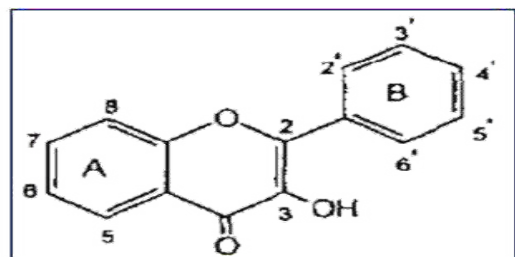


Figure.7. Structure de base des flavonols(Giulia

et al., 1999).

### II.3.5.2.2. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)

Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus ; les trois principales structures sont le kaempferol, la quercétine et la myricétine. La quercétine est sans doute le composé phénolique le plus répandu dans la nature (Ribéreau-Gayon, 1968)( Figure 7).

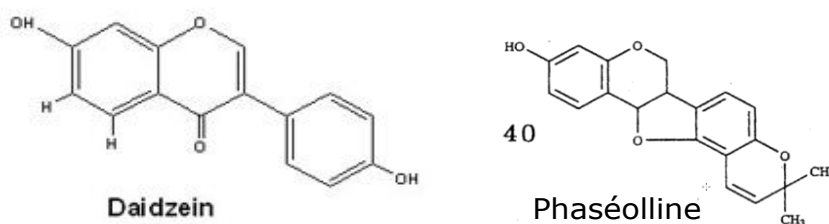


Figure .8. Structure de base des isoflavones

### II.3.5.2.3. Les isoflavones

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> des autres flavonoïdes ; elles sont beaucoup moins répandues que les précédentes, mais il existe dans cette famille un grand nombre de structures peu classiques (Gayon, 1968) (Figure 8).

### II.3.5.2.4. Les flavanones

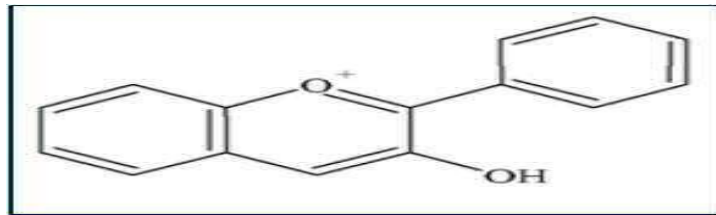
Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringénine , l'hésperidine et l'eridictyol (Alais et al., 1997).

### II.3.5.2.5. Les flavanes

Les flavanes contiennent un hétérocycle central, dont, d'une part est entièrement saturée, d'autre part ne possède pas de groupement -CO- ; on rencontre fréquemment dans les tissus végétaux des flavanols (catéchine) et surtout des flavane-di-ols3-4(ou leuconthocyanidines) qui interviennent dans la constitution des tanins condensés. Les flavanes les plus importants

sont les catéchines et les gallocatéchines, la leucocyanidine et la leucodélfidine (Alais et al., 1997).

Les flavanes se différencient des autres composés phénoliques en ce sens qu'elles existent dans la nature sous forme d'aglycones, le plus souvent polymérisés, alors que les flavones, flavonols et composés voisins sont toujours sous forme hétérosidique.



**Figure.9.** .Structure de base des anthocyanidines (Giulia et al., 1999).

### II.3.5.2.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (Guignard, 1996). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (Harbone, 1967) Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C<sub>3</sub> (Ribereau, 1968). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Figure 9).

### II.3.5.3. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes. Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1999).

#### II.3.5.4. Quelques propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des co-pigments. Peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Subramanian *et al.*, 2007).

#### II.3.6. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Paris *et al.*, 1981).

##### II.3.6.1. Classification

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

##### II.3.6.1.1. Tanins hydrolysable

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (Paris *et al.*, 1981).

##### \*Tanins galliques (Gallo tanins)

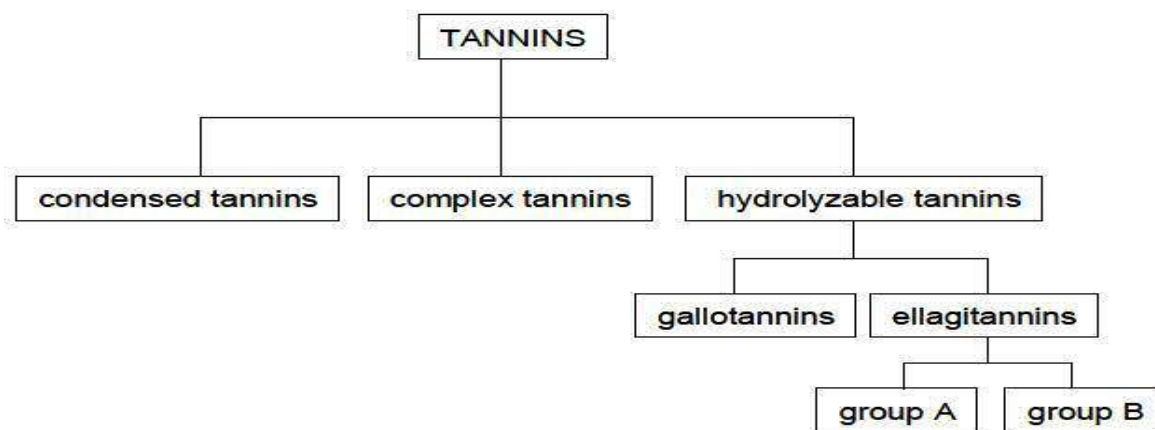
Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique (Paris *et al.*, 1981).

##### \*Tanins ellagiques (Ellagitanins)

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (Paris *et al.*, 1981).

### II.3.6.1.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plusSouvent épicatechine et catéchine (**Khanbabaea et al., 2001**). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle., 1981**) (**Figure10**).



**Figur.10.** Classification des tanins (**Wilfred et al., 2006**).

### II.3.6.2. Utilisation des tanins

#### II.3.6.2.1. En pharmacie

Grâce à leurs astringente les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes (**Paris et al., 1981**).

#### II.3.6.2.2. Dans l'industrie

Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (**Paris et al., 1981**).

### II.4. Les activités biologiques de la plantes

Selon l'étude des activités pharmacobiologiques des extraits d'*umbilicus rupestris* (Salisb Dandy) et *Hyoscyamus albus* L. présentée par :Mlle.( **Benhouda A, 2014**)

Les résultats de l'activité analgésique montre que l'extraits HAMEOH a un effet analgésique centrale par la méthode de stimulus thermique et encore une activité antinoceptive périphérique avec le test de l'acide acétique et le test formalin dans l'activité antipyrétique, HAMEOH a réduit la température corporelle d'une façon significative et d'une manière dose-dépendante la fièvre induite par la levure de bière

Concernant l'activité anti-inflammatoire, l'extraits HAMEOH a pu inhiber l'inflammation induite par la carragenane, les médiateurs chimiques (histamine et sérotonine) et la solution formale d'une façon significative ( $p < 0.05$ ) et dose-dépendante .

Tandis que l'activité antidiabétique de ce extrait, le diabète millitus induit par le streptozotocine, suivi par l'administration orale des deux doses 100 et 200 mg/kg p.c. de HAMEOH aux rats diabétiques durant 30 jours a réduit d'une manière significative le taux de glucose, le bilan lipidique ainsi que HbA1c ont favorise la sécrétion de l'insuline et l'élévation du taux de glycogène hépatique .

A propos de l'activité cytotoxique de HAMEOH vis à vis aux lignées cellulaires MCF7, Hela et PC-3, les concentrations testés de HAMEOH montrent une  $IC_{50} = 112.01 \mu\text{g/ml}$ ,  $129.23 \mu\text{g/ml}$  et  $142.35 \mu\text{g/ml}$  contre PC-3, Hela et MCF7 respectivement ,Mercapto montre une  $IC_{50} = 30.17 \mu\text{g/ml}$  ,  $IC_{50} = 40.21 \mu\text{g/ml}$  et  $46.01 \mu\text{g/ml}$  pour PC-3, Hela MCF7, respectivement.

Les extraits (EEp, EChl et EMe) de la plante étudiée ont montré un effet antioxidant important par le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène et le test au DPPH et avec une forte activité antibactérienne mais sans effet anticandidose .

# **Chapitre III:**

**L'activité antioxydante**

### III. L'activité antioxydante

#### III.1. Généralité

L'activité antioxydant ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. Et en pratique, plusieurs essais in vitro procédures sont menés pour évaluer les activités antioxydants avec les échantillons d'intérêt. Un autre aspect est qu'antioxydant des modèles de test varient dans les différents points de vue. Par conséquent, il est difficile pour comparer une méthode entièrement à autre. Dans une certaine mesure, la comparaison entre différentes méthodes in vitro a été effectuée par ( **Nur Alam et al., 2013**).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydant, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline 6-sulphonate) et DPPH<sup>+</sup> (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (**Georgieva et al., 2010**).

#### III.2. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont définis par HALLIWELL comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat» (**Pastre et al., 2007**). Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires (**Benbrook, 2005**) (**Figure 11**).

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (**Tanguy et al., 2009**).

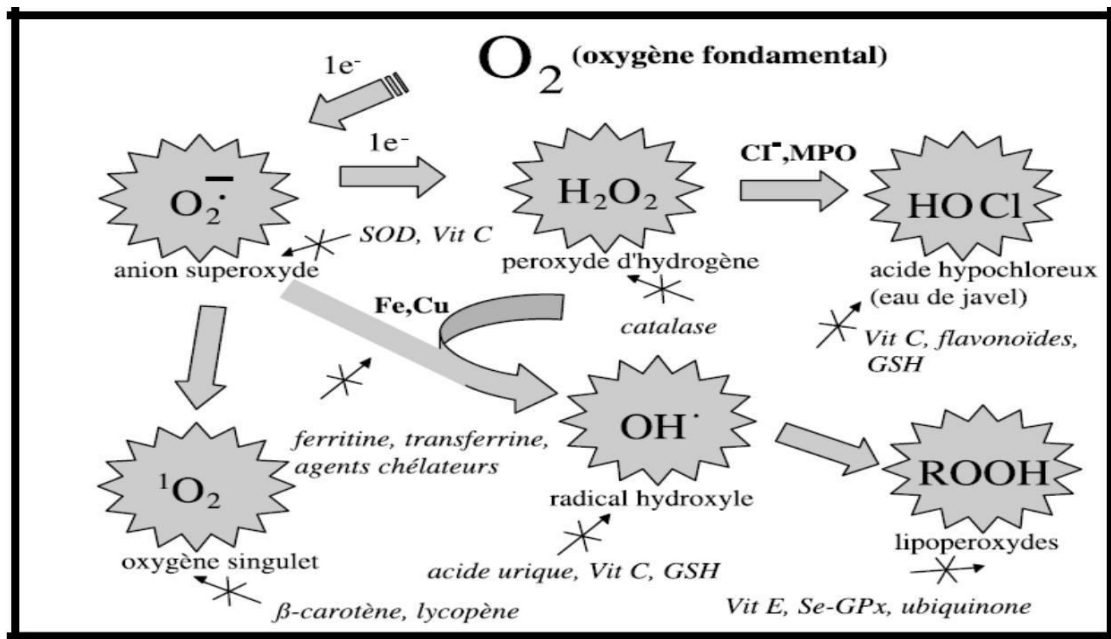


Figure .11. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et al., 2008)

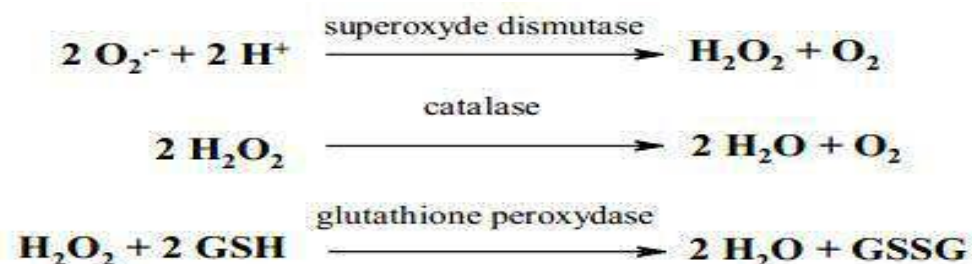
### III.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

### III.4. Les types des antioxydants

#### I.4.1. Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

### III.4.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003) (Figure 12) .

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés.

Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (Kohen et al., 2002).

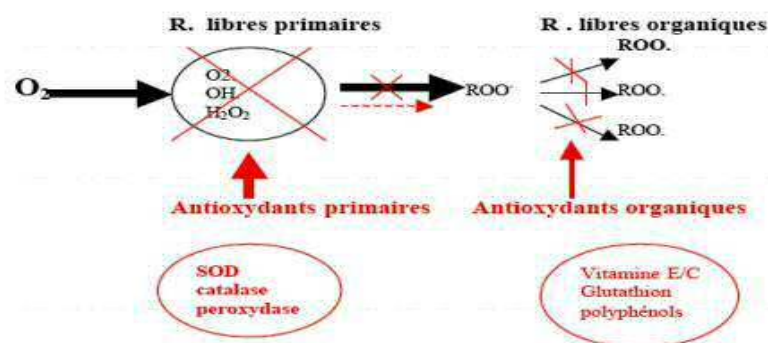


Figure .12. les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et., 2002).

## III.5. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

### III.5.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques s'agit principalement de trois enzymes ; la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du  $O_2$  et du  $H_2O_2$ , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).

### III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

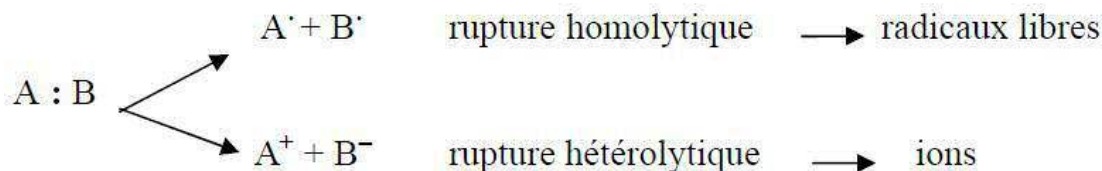
Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (**Kanoun, 2011**).

## III.6. Radicaux libres

### III.6.1. Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (**Meziti, 2007**).

Selon la définition proposée par (**Halliwell et al., 1996**). Les radicaux libres sont des espèces capables d'exister indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant :



Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres (**Meziti, 2007**).

### III.6.2. Nature des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

### III.6.3. Rôles biologique des radicaux libres

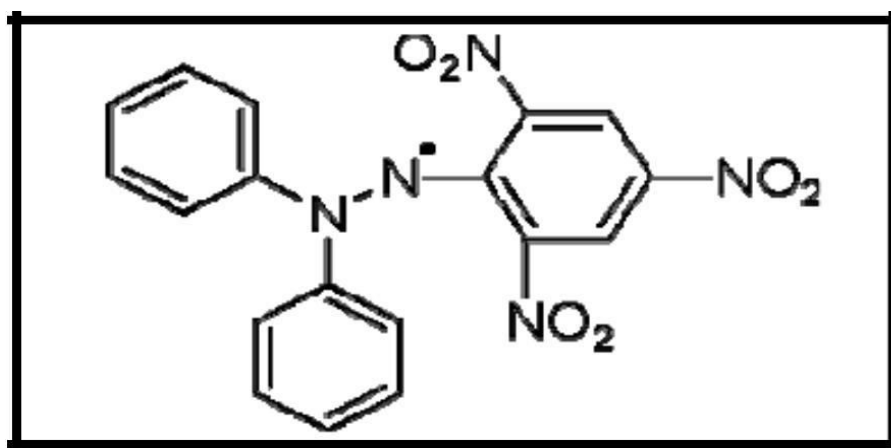
Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani *et al.*, 2007 ; Touafek, 2010 ; Marfak, 2011).

### III .7. Les methodes de l'évolution de l'activité antioxydante

#### III .7.1. Test du DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl $\beta$  picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilise pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composes phénoliques (Blois, 1958. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Popovici *et al.*, 2009) (Figure 13).



**Figure .13.** Structure chimique du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici *et al.*, 2009).

### III.7.1.1.Principe

La réduction du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui et al., 2006) (Figure 14).

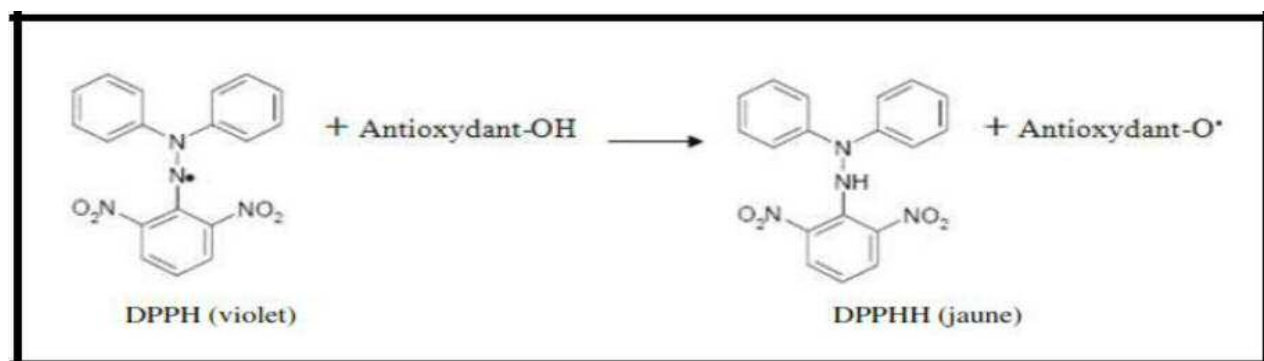


Figure .14. Réaction de test DPPH (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

### III.7.1.2. Dosage

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz et al., 2008 ; Athamena et al., 2010). 50µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Bougandoura, 2013). Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

$$I \% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

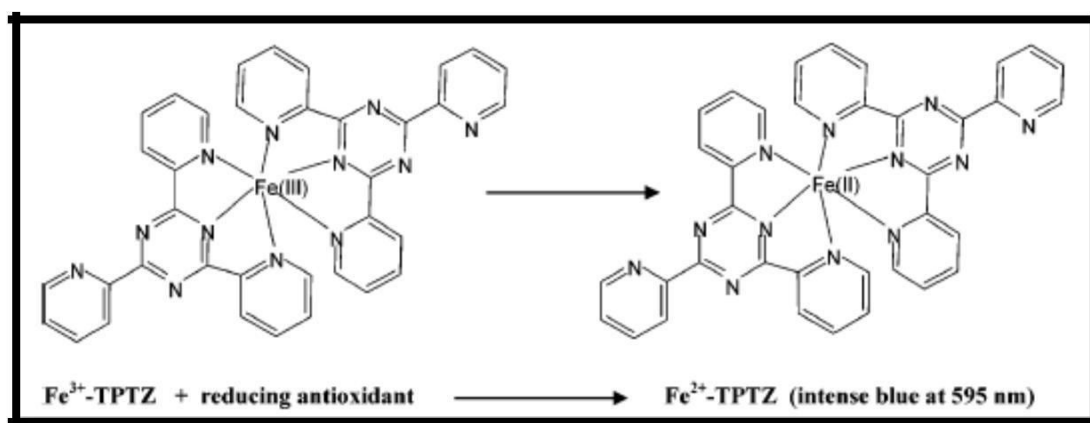
Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif (Meddour, 2013).

### III.7.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

#### III.7.2.1. Principe

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (Bougandoura, 2013). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (Ou *et al.*, 2001) selon la (Figure 15).



**Figure .15.** Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (Prior *et al.*, 2005)

TPTZ : ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

$\text{Fe}^{2+}$  : Ions ferreux.

$\text{Fe}^{3+}$  : Ions ferriques (Prior *et al.*, 2005)

### III.7.3. Méthode de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)

#### III.7.3.1. Principe

Cette méthode est basée sur la protection fournie par les antioxydants sur la décroissance de la fluorescence de la R-phycoérythrine (R-PE) au cours d'une réaction de peroxydation

contrôlée. La fluorescence de R-phycoérythrine est désactivée par ABAP (2,2' - azo-bis (2 - amidino- propane) de chlorhydrate en tant que générateur de radicaux.

Ce stoppage de la réaction est mesuré en présence d'antioxydants. Le potentiel antioxydant est évalué en mesurant la décroissance de la décoloration selon (Nur Alam *et al.*, 2013).

### III.7.4. Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

#### III.7.4.1. Principe

La mesure ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) permet de déterminer si une source organique possède un effet antioxydant en le comparant à un analogue de la vitamine E : le trolox. Dans cet essai, l'AAPH (2.2'-azobis-2-aminopropane dihydrochloride) est utilisé comme source génératrice de radicaux peroxydes. L'addition de fluorescéine comme sonde fluorescente permet de quantifier, à l'aide d'une analyse spectrophotométrique, en fonction du temps, la perte de fluorescence associée à la réaction avec les radicaux libres fournis par l'AAPH par un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène. La présence d'antioxydants empêche ou ralentit la perte de fluorescence qui est calculée par l'aire sous la courbe en fonction du temps. Celle-ci peut être détectée à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et d'émission de 520 nm. Il s'agit donc d'une méthode permettant de mesurer la capacité antioxydant contre les radicaux peroxydes (Ou *et al.*, 2001). Lorsqu'un capteur de radicaux libres est incorporé dans le milieu, les radicaux libres sont captés, et la fluorescence persiste, donnant ainsi une idée précise du pouvoir anti-radical libre, donc antioxydant de l'échantillon (Rolland, 2004).

$$(AUC \text{ échantillon} - AUC \text{ blanc}) \times (\text{molarité du standard})$$

Valeur relative ORAC =

$$(AUC \text{ standard} - AUC \text{ blanc}) \times (\text{molarité de l'échantillon})$$

AUC = Aire sous la courbe (Rolland, 2004).

### III.7.5.Méthode de DEPG (N,N-dimethyl-p-phenylene diaminedihydrochloride)

#### III.7.5.1. Principe

Cette méthode est basé sur la réduction de couleur de la solution tamponnée de DEPG dans un tampon acétate et le chlorure ferrique. La procédure implique la mesure de la diminution de l'absorbance de DEPG en présence d'accepteurs avec maximum d'absorption de 505 nm.L'activité a été exprimée en pourcentage de réduction de DEPG (**Nur Alam et al., 2012**).

# **Chapitre IV:**

**Les phytohormones**

## IV. Les phytohormones

### IV.1. Définition d'une phytohormone

Les hormones sont des substances chimiques synthétisées par le végétale. Elles sont oligodynamiques : actives à faible dose. Elles agissent parfois à distance du lieu de synthèse : elles ont une influence sur le fonctionnement du végétal (**Hopkins, 2003; Robert et Rolland, 1999**).

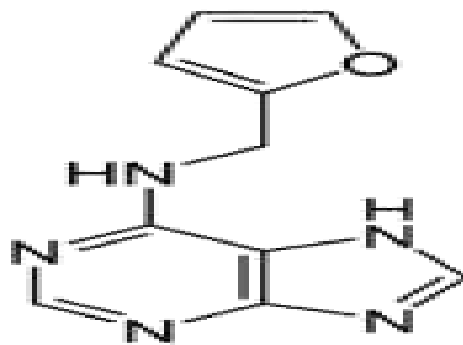
#### IV.1.1. Les cytokonines

Celles-ci sont synthétisées dans les apex des racines, mais on les trouve aussi dans les parties aériennes, les semences et les fruits n'ayant pas atteint la maturité physiologique. Elles sont transloquées dans le xylème depuis les racines jusqu'aux parties aériennes.

Au niveau des parties aériennes, les cytokinines circulent lentement de cellule à cellule (**Milleret al., 1956; Werner et.,2001**).

#### IV.1.2. La kinetine (6-furfurylaminopurine) $C_{10}H_9N_5O$

Sous forme d'une poudre blanche obtenue en 1955 à partir de sperme de hareng. La masse molaire est de  $215,2114 \text{ G.MOL}^{-1}$  (**Nultsh, 1989**)(Figure.16).



**Figure.16.** Structure chimique du K(**Nultsh, 1989**)

#### IV.1.3.Fonction et rôle des cytokinines

-Les cytokinines jouent un rôle important dans la germination et favorisent la division cellulaire.

-Elles activent l'initiation des feuilles, des tiges et des stolons, et favorisent l'extension des feuilles et des cotylédons ainsi que la translocation des assimilats.

-Leur rôle dans la transpiration est également rapporté.

-Les cytokinines inhibent la sénescence des feuilles et permettent la levée de la dormance des graines ainsi que celle de la dominance apicale des bourgeons axillaires chez certaines plantes (Hopkins, 2003; Robert et Rolland, 1999).

#### IV.2.1. Les auxines

Celles-ci sont essentiellement produites dans les méristèmes et régions de croissance active au niveau des parties aériennes. Elles se trouvent dans la plupart des tissus de la plante y compris dans les feuilles en sénescence.

Le transport des auxines se fait dans le phloème, des parties aériennes vers les parties racinaires, mais également de cellule à cellule (transport orienté) (Nultsch, 1998 ; Prat, 1994).

#### IV.2.2. 2,4-D ACIDE (2,4-DICHLOROPHENOXY) $C_8H_6Cl_2O_3$ :

Herbicide systémique sélectif, le plus utilisé dans le monde, qui imite une hormone de croissance mais en induisant une croissance incontrôlée qui aboutit à la destruction de la plante. La masse molaire est de 221,038 G.MOL<sup>-1</sup>. Il est soluble dans l'éthanol ; légèrement soluble dans le benzène et le DMSO ; insoluble dans l'eau (Heller, 1985 ; Dolan, 2006) (Figure 17)

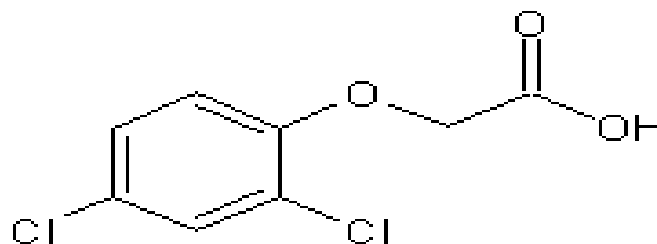


Figure.17. Structure chimique du 2,4-D (Dolan, 2006)

**IV.2.3. Fonction et rôle**

-Les auxines activent l'élongation des coléoptiles et des tiges et favorisent le phototropisme et le géotropisme.

-Elles jouent un rôle important dans l'initiation et la formation des racines adventives et dans la différenciation du xylème.

-Elles retardent la sénescence des feuilles et la chute des fruits.

-Elles inhibent l'élongation racinaire (**Prat, 1994**).

## I. Matériel et Méthodes

### I.1. Objectif du travail

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la plante *Hyoscyamus albus* L. traitée par les deux phytohormones (un auxine : 2,4-D et une cytokinine :K) avec différentes doses 0,10 et 20 mg/L séparés et interagés, dont la réalisation de cette évaluation a été divisée sur deux laboratoires : laboratoire pédagogique de l'université Abbes Laghrour de Khenchela et le laboratoire de dosage des substances bioactives des ressources naturelles à l'Unité de Technologie Alimentaire de l'Institut National des recherches agronomiques RABAT MAROC.

### I.2. Etude phytochimique de la plante

#### I.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal de l'espèce *Hyoscyamus albus* L., utilisé dans cette étude fait partie la culture de l'étude de recherche pour la préparation de la thèse de doctorat du Dr. KADI K. intitulé : Contribution à l'étude de l'effet des phytohormones sur l'accumulation des alcaloïdes de la plante *Hyoscyamus albus* L. ; soutenue en 2010 à l'université de constantine; le pratique a été réalisé en 2004 dont les graines utilisées dans cette culture ont été récoltées de la région de Ferjioua (W. MILA), la culture a été mise en pots de 3 Kg après un mois de la germination des graines les plantules ont été transmis à des pots (plantule par pot) sous les condition de la serre (localisée à l'université Larbi Ben M'Hidi –Oum el Bouaghi) en appliquant l'irrigation par 1/2de la capacité au champs , les plants ont été traitées par les phytohormones deux fois dans la période de floraison (de mi Avril à mi Mai) par un auxine 2,4-D et une cytokinine K (Kinitine) séparés et interagés avec les doses : 0, 10 et 20mg/L pour chacun avec 03 répétitions pour chaque traitement .

Après la récolte en mois de Juin ; Le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante. Le séchage est de 15 jours en moyenne pour les différentes plantes, puis conservées dans des sacs en papier.

## I.2.2. Préparation des extraits

Dans le présent travail, nous avons ciblé les composés phénoliques (poly phénols et flavonoïdes et tanins puisque les alcaloïdes ont été étudiés en thèse de doctorat).

On a préparé l'extraits hydro-alcoolique (méthanol 70%) dont 10 g de poudre végétale de chaque traitement a été reprise avec 100 ml de méthanol à 70% dans un erlenmeyer de 200 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 24 heures (deux fois pour la même poudre) à la température du laboratoire. Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur (HAHNVAPOR) sous vide à la température de 40 °C. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut (EMet).

## I.2.3. Calcul du rendement des extraits

Le rendement en extraits de la plante est le rapport entre le poids de l'extrait est le poids de la plante (**Carré, 1953**). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante :

$$R\% = P_E / P_A \times 100$$

R% : rendement de l'extrait en pourcentage

P<sub>E</sub> : Poids de l'extrait (g)

P<sub>A</sub> : poids de la plante (g)

## I.2.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante (**Bammou et al ., 2015 ; Nouioua, 2012**).

### I.2.4.1. Mise en évidence des tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 2 ml de la solution à tester, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> à 2%.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (Laisser reposer quelques minutes) (**Karumi et al., 2004**).

### I.2.4.2. Mise en évidence des saponosides

5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min.

La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (**Karumi et al., 2004**).

### I.2.4.3. Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml de l'extrait butanolique sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%).

La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Edeaga, 2005).

### I.2.4.4. Mise en évidence des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani.

A 1 ml de l'extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$ .

La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (Edeaga, 2005). Parmi les composés réducteurs on note les coumarines.

### I.2.4.5. Mise en évidence des coumarines

La mise en évidence de ces dernières se fait selon la méthode décrite par (Benmehdi, 2000).

Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de  $\text{NaOH}$  et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes.

Ajouter 0,5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines.

### I.2.4.6. Mise en évidence des alcaloïdes

#### ➤ Test de Mayer

- $\text{HgCl}_2$  (13,5g) dans 40ml de eau distillée.
- $\text{KI}$  (49,8g) dans 40ml de eau distillée.

Après l'agitation de chaque solution, on mélange les deux solutions.

5ml de solution ou extrait brut, ajouter quelques gouttes du réactif Mayer. La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

### I.2.4.7. Mise en évidence des quinones

1g de matériel végétale sec et broyé et placé dans des tubes avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole après agitation et une repose de 24 heures, après les extraits sont filtrés la présence de

quinones libers est confirmée par l'ajoute quelque goutte de NaOH 10% lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Ribérreau, 1968**).

#### **I.2.4.8. Mise en évidence des coumarines**

La présence de coumarines (composées polyphénolique) est réalisée en évaporant à sec 5 ml d'extrait éthéré, 2ml d'eau chaude sont ajoutés puis 1ml de NH<sub>4</sub>OH 25%, le mélange est observé sous UV à 366 nm.

L'observation d'une fluorescence bleue intense indique que leur présence (**Wong et al ., 2006**).

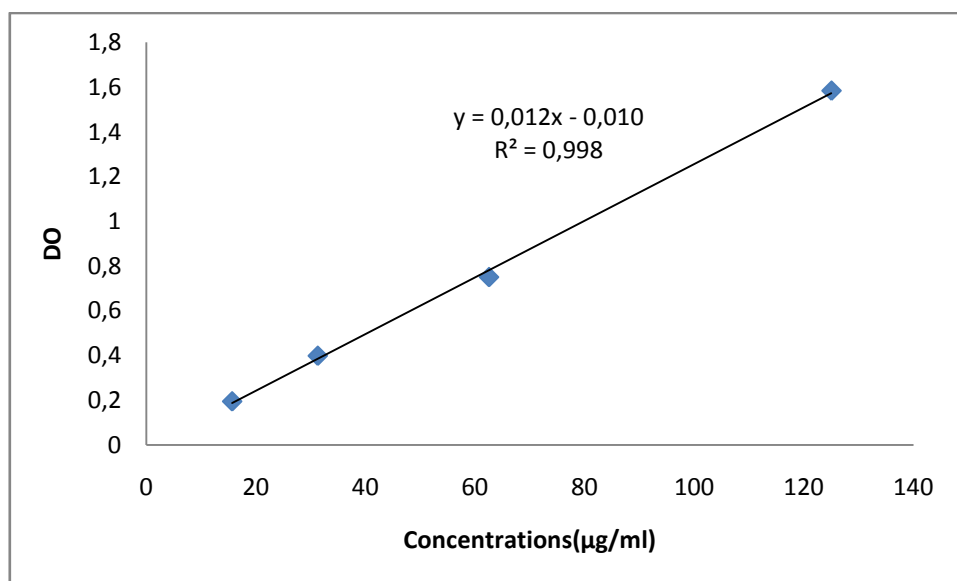
### **I.2.5. Etude quantitative des extraits de la plante *H. albus***

#### **I.2.5.1. Dosage des polyphénols**

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu (**Wong et al ., 2006**). Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit, ce réactif en un mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol pour les extraits organiques, et l'eau distillée pour l'extrait aqueux) sont ajoutés à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois, après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate du sodium (75g/l) sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 765 nm après 2h d'incubation en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic).

La teneur en polyphénols a été exprimée en microgrammes équivalents de l'acide gallique par grammes du poids d'extrait (µg EAG/mgE) à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique présentée dans la **figure 18** ci-dessous.

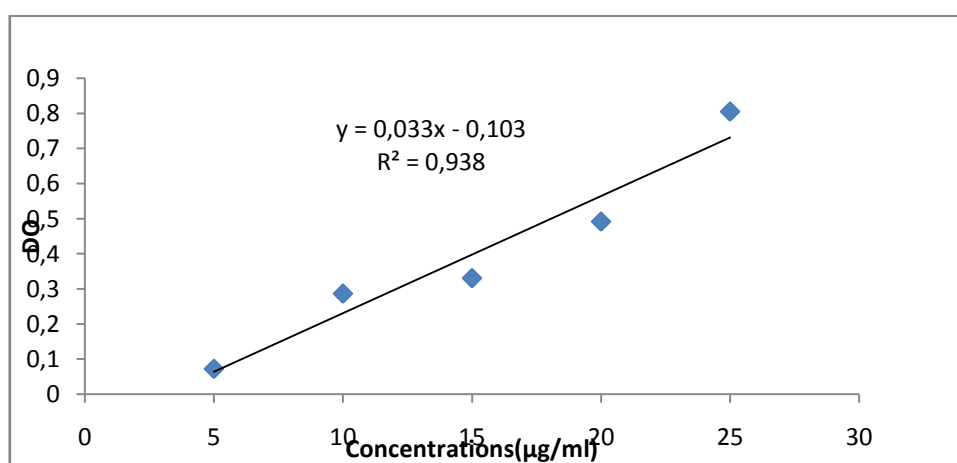


**Figure.18.** Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique

### I.2.5.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al ., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de la plante *H. albus* traitée par 2,4-D et K séparés et interagés. 1 ml de chaque traitement et du standard avec dilutions convenables sont ajoutés à 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  (2 % dans le méthanol). Après 10 min d'incubation, la lecture s'effectue à 420nm en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic).

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mgE}$ ) à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine présentée dans la **figure 19** ci-dessous.



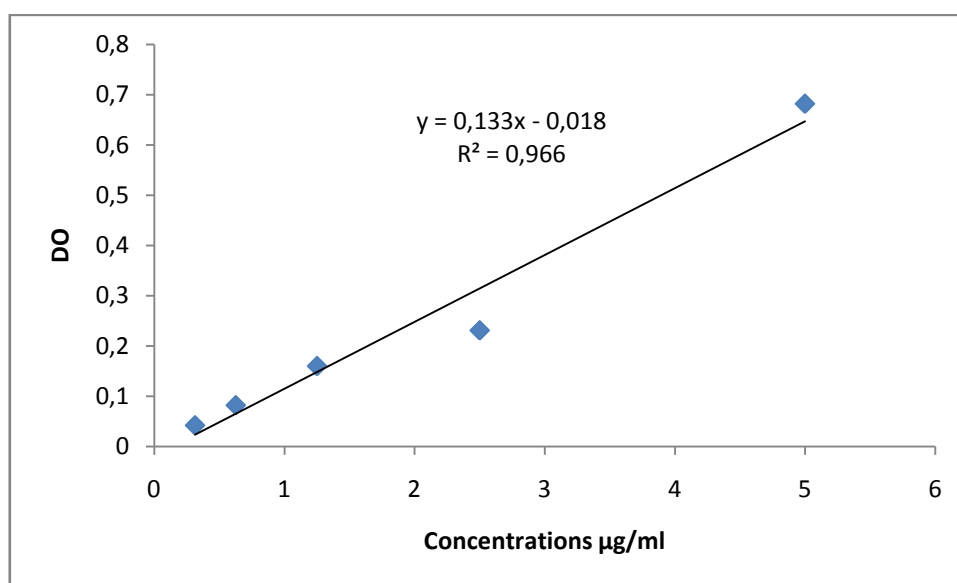
**Figure.19.** Courbe d'étalonnage de la Quercétine

### I.2.5.3. Dosage des Tanins

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de la plante *H. albus* est effectué selon la méthode de (Broadhurst et al., 1978), modifiée par (Heimler et al., 2006). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (Schofield et al., 2001)

Pour 400µl de chaque échantillon ou standard, on ajoute 3ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500nm. La lecture s'effectue en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic).

La teneur en Tanins a été exprimée en microgrammes équivalents de catéchine par grammes du poids d'extrait (µg ECT/mgE) à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine présentée dans la **figure 20** ci-dessous.



**Figure.20.** Courbe d'étalonnage de la Catéchine

### I.3.Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Le test de DPPH est réalisé selon la méthode décrite par (Schofield et al., 2001)

où 200µl de chacun des extraits méthanoliques de la plante traitée par les phytohormones sont mélangées avec 1,8ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après 30 min d'incubation, l'absorbance est lue à 517nm. Dont le contrôle positif est l'acide ascorbique.

### **Pourcentage d'inhibition (I%)**

Pourcentage d'inhibition : Pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé de la manière suivante (Sharififar, 2007) :

$$I\% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ blanc}$$

**A blanc** : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol)

**A échantillon** : Absorbance du composé d'extrait

### **I.4. Analyse statistique des données**

Les analyses de variance et l'analyse des composantes principales des résultats ont été réalisées par les logiciels statistiques SAS et STATISTICA.

Les différences considérées très hautement significatives à  $p < 0.01$ .

## II-Résultats et discussion

### II-1-Rendements des extraits bruts

Les extraits de la plante *H. abus* L. traitée par les différents phytohormones 2,4-D et K avec les doses 0,10 et 20 mg/L, nous a permet de déterminé les rendements de leurs extraits bruts

**Tableau 01**

**Tableau 01** : les rendements des extraits

| Les traitements*** | Le rendement (%)*** |
|--------------------|---------------------|
| Témoin             | 14,93               |
| K(10mg/l)          | 22,93               |
| K(20mg/l)          | 17,88               |
| 2,4-D(10mg/l)      | 16,92               |
| 2,4-D(20mg/l)      | 25,62               |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | 25,29               |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | 22,93               |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | 17,88               |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | 17,32               |

D'après les résultats mentionnés dans le **Tableau 01** les rendements des extraits des traitements par les phytohormones séparées et interagées ont augmentés le rendement des extraits par rapport au témoin non traité dont le meilleur rendement est donné par le traitement avec le 2,4-D (20mg/L)( 25,62%) et le traitement 2,4-D X K(10x10) mg/l et le faible rendement est enregistré par le témoin avec (14,93%). Donc on peut dire que le traitement avec phytohormones utilisées soit séparées ou interagées a un effet positif sur le rendement des extraits.

## II-2-Etude phytochimique de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones

### II-2-1-Screening phytochimique :

Les résultats du screening phytochimique des extraits des différents traitements (2,4-D et K) avec les doses 0,10 et 20mg/l séparées et interagées présentés dans le **Tableau 02** ci-dessous montrent que tout les extraits des traitements contient des : alcaloïde et flavonoïdes et qu'il n'y a pas une différence entre eux. Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par (**Benhouda et al., 2014**) qu'ils ont trouvé que l'espèce *H. albus* L. récoltée de la commune d'ARRIS W. de BATNA contient des alcaloïdes, polyphénols, et des terpènes.

**Tableau 02** : Résultats du screening phytochimique des extraits méthanoliques de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones.

| Les traitements    | Les flavonoïdes | Les tanins | les saponosides | les coumarines | les alcaloïdes | les quinones | les composés réducteurs |
|--------------------|-----------------|------------|-----------------|----------------|----------------|--------------|-------------------------|
| Témoin             | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| K(10mg/l)          | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| K(20mg/l)          | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| 2,4-D(10mg/l)      | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| 2,4-D(20mg/l)      | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | ++              | +          | -               | +              | +++            | +            | +                       |

Tous les résultats du screening phytochimique des différents extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones sont similaires donc il n'y a pas un effet des phytohormones sur la présence des différents métabolites secondaires testés et ces résultats montrent que les

différents extraits méthanoliques de la plante *H. albus* L. contiennent du : flavonoïdes, tanins, coumarines, quinones, composés réducteurs et alcaloïdes et ne contiennent pas des saponosides. Ce qui confirme les travaux de (KADI, 2010), qui a révélé la présence de flavonoïdes, saponosides, tanins et alcaloïdes chez l'*Hyoscyamus albus* L.

La richesse du pante *H. albus* L. par les métabolites secondaires à intérêt thérapeutique pourrait expliquer son usage traditionnelle (Kirtikar *et al.*, 1984).

## II-2-2-Etude quantitative des composés phénoliques :

### II-2-2-1- la teneur en polyphénols :

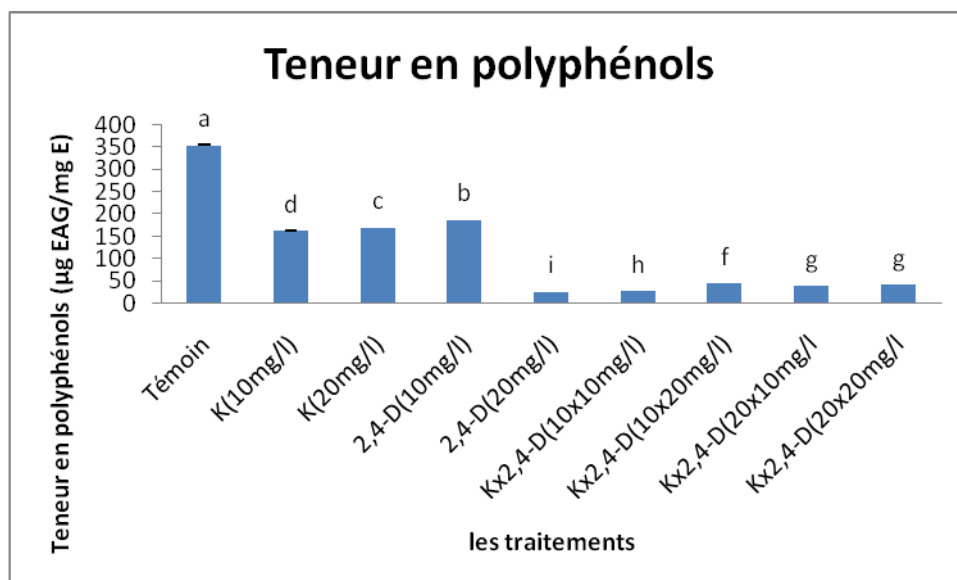
L'analyse quantitative des extraits des traitements de la plante *H. albus* L. par les phytohormones en polyphénols a été déterminée à partir de l'équation de la régression de la courbe d'étalonnage exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent de l'acide gallique par mg de **Tableau 03**

**Tableau 03** : Teneur en polyphénols de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones

| Les traitements    | Teneur en polyphénols ( $\mu\text{gEAG/mg E}$ ) |
|--------------------|---|
| Témoin             | 354,26 $\pm$ 1,36                               |
| K(10mg/l)          | 161,03 $\pm$ 0,66                               |
| K(20mg/l)          | 169,26 $\pm$ 0,47                               |
| 2,4-D(10mg/l)      | 186,45 $\pm$ 0,52                               |
| 2,4-D(20mg/l)      | 24,12 $\pm$ 0,64                                |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | 26 $\pm$ 0,51                                   |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | 42,37 $\pm$ 0,54                                |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | 36,50 $\pm$ 0,6                                 |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | 39,44 $\pm$ 0,6                                 |

L'analyse de variance des différents traitements montre qu'il y a une différence significative entre les différents traitements ( $p \leq 0,000$  annexe 01) et les teneurs en polyphénols des extraits de ces traitements, car les groupes homogènes sont bien représentés dans la (**figure21**).

La (**figure21**) montre les résultats de la teneur en polyphénols des extraits des différents traitements dont la meilleure teneur est obtenue par le témoin non traité avec une teneur égale à  $(354,26 \pm 1,36) \mu\text{g EAG/mg E}$  suivi par le traitement par 2,4-D avec la dose (10mg/l) par une moyenne de  $(186,45 \pm 0,52) \mu\text{g EAG/mg E}$ ; Car nous constatons que toutes les teneurs en polyphénols des différents traitements sont inférieures à celle présentée par le témoin non traité ce qui explique l'effet des phytohormones utilisées l'auxine: IAA et le cytokinine: BAP qui ont un effet de diminution sur l'accumulation des polyphénols contrairement à ce qui est trouvé par (**KADI et al., 2013**) qui ont montré que le traitement par les mêmes phytohormones la quantité des alcaloïdes est doublée deux fois dans la partie aérienne de la plante. On peut dire d'après tout ça que l'effet des phytohormones utilisées a orienté la plante vers la production et l'accumulation des alcaloïdes en premier temps que la production des polyphénols et ces phytohormones ont activé le gène de la production des autres métabolites secondaires :les alcaloïdes (**Elizab et Sarah., 2009**).



**Figure.21.** Les teneurs en polyphénols

**II-2-2-2- la teneur en flavonoïdes :**

L'analyse quantitative des extraits des traitements de la plante *H. albus* L. par les phytohormones en flavonoïdes a été déterminée à partir de l'équation de la régression de la courbe d'étalonnage exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent à la quercétine par mg de l'extrait.

L'analyse de variance des différents traitements a montré qu'il y a une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes et entre les traitements ( $p \leq 0,000$  Annexe 02) ce qui reflète la distribution des groupes homogènes présentés dans la (**figure 22**)

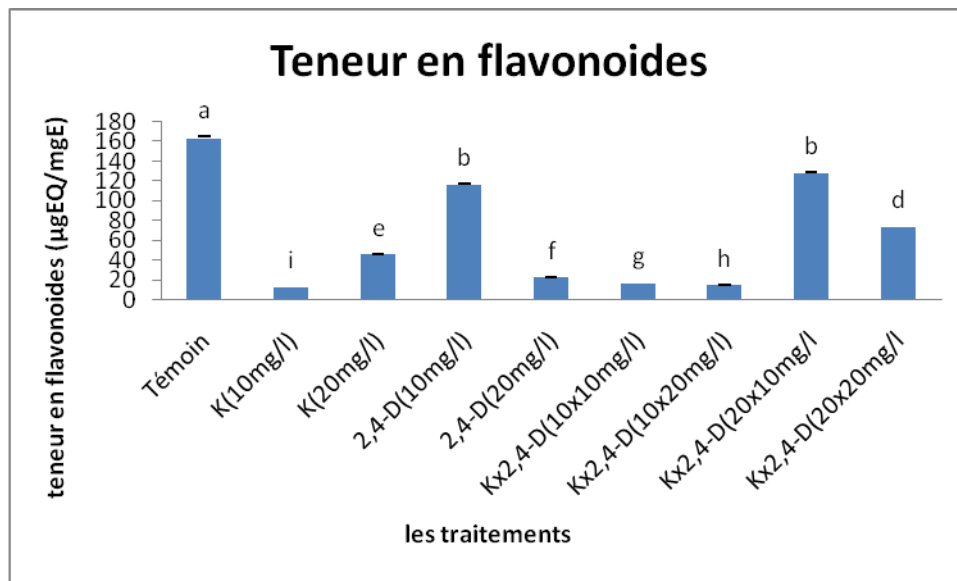
**Tableau 04 :** Teneur en flavonoïdes de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones

| Les traitements*** | Teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{gEQ}/\text{mg E}$ )*** |
|--------------------|--|
| Témoin             | 163,65 $\pm$ 1,73  |
| K(10mg/l)          | 12,29 $\pm$ 0,43   |
| K(20mg/l)          | 45,14 $\pm$ 0,69   |
| 2,4-D(10mg/l)      | 116,45 $\pm$ 0,65  |
| 2,4-D(20mg/l)      | 21,76 $\pm$ 0,53   |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | 15,99 $\pm$ 0,65   |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | 13,9 $\pm$ 0,88  |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | 128,7 $\pm$ 0,47   |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | 73,03 $\pm$ 0,8  |

Les résultats de la teneur en flavonoïdes sont présentés dans le **Tableau 04** et la **figure 22** le témoin non traité possède une teneur la plus élevée de l'ordre de (163,65 $\pm$ 1,73 $\mu\text{g EQ}/\text{mgE}$ ) suivi par le traitement par 2,4-DXK(20x10mg/l) (128,7 $\pm$ 0,47 $\mu\text{g EQ}/\text{mgE}$ ), ces teneurs sont assez importantes par rapport aux autres traitements. Le faible rendement est trouvé chez le traitement par la cytokininine K(10mg/l) avec (12,29 $\pm$ 0,43 $\mu\text{gEQ}/\text{mgE}$ ).

Les résultats trouvés sont tous presque supérieurs à ceux trouvés par (**Benhouda et al., 2014**) qui ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *H. albus* L. récoltée à Batna a donné une teneur en flavonoïdes égale à (24.31  $\pm$  0.62)  $\mu\text{g EQ}/\text{mgE}$ . On peut expliquer cette

variance des teneurs en flavonoïdes entre la plante spontanée et traitée par l'effet des phytohormones utilisées aussi bien aux conditions de culture sous serre.



**Figure.22.** Teneurs en flavonoïdes

### II-2-2-3- la teneur en tanins :

L'analyse quantitative des extraits des traitements de la plante *H. albus* L. par les phytohormones de teneurs en tanins a été déterminée à partir de l'équation de la régression de la courbe d'étalonnage exprimée en µg équivalent à la catéchine par mg de l'extrait.

L'analyse de variance des différents traitements a montré qu'il y a une différence significative entre les traitements et entre les teneurs en tanins et de ces traitements ( $p \leq 0,000$  Annexe 03).

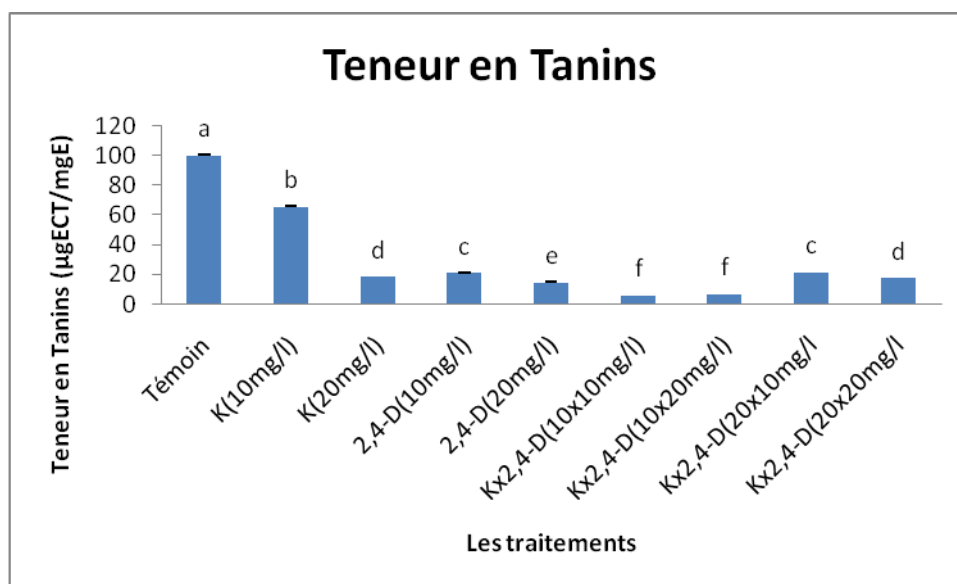
Les résultats de la teneur en tanins sont présentés dans le **tableau 05** et la (**figure 23**), la meilleure teneur en tanins est enregistrée.

**Tableau 05** : Teneur en tanins de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones

| Les traitements*** | Teneur en tanins ( $\mu\text{gECT/mg E}$ )*** |
|--------------------|---|
| Témoin             | 100 $\pm$ 1                                   |
| K(10mg/l)          | <b>65,37<math>\pm</math>0,48</b>              |
| K(20mg/l)          | 18,13 $\pm$ 0,58                              |
| 2,4-D(10mg/l)      | 20,66 $\pm$ 0,67                              |
| 2,4-D(20mg/l)      | 14,33 $\pm$ 0,5                               |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | 15,54 $\pm$ 0,3                               |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | 6,18 $\pm$ 0,18                               |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | 21,16 $\pm$ 0,04                              |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | 17,32 $\pm$ 0,6                               |

Les tanins de tous les extraits ont des teneurs varient entre (100 $\pm$ 1) et (6,18 $\pm$ 0,18)  $\mu\text{g ECT/mgE}$  dont l'extrait du témoin possède teneur la plus importante par rapport aux autre traitements. Les phytohormones utilisées 2,4-D et K ont présenté un effet de diminution sur l'accumulation des tanins par rapport au témoin non traité et la faible teneur est enregistrée chez le traitement par 2,4-DXK avec les doses (10x20mg/l).

Ces résultats sont assez importantes par rapport à celles trouvés dans la même espèce mais spontanée et récoltée à Batna par (Benhouda et al., 2014) qui ont trouvé que l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *H. albus* L. a présenté une teneur en tanins plus faible et égale à (24.87  $\pm$  1.57 )  $\mu\text{g ECT/mgE}$ .



**Figure.23.** Teneurs en tanins

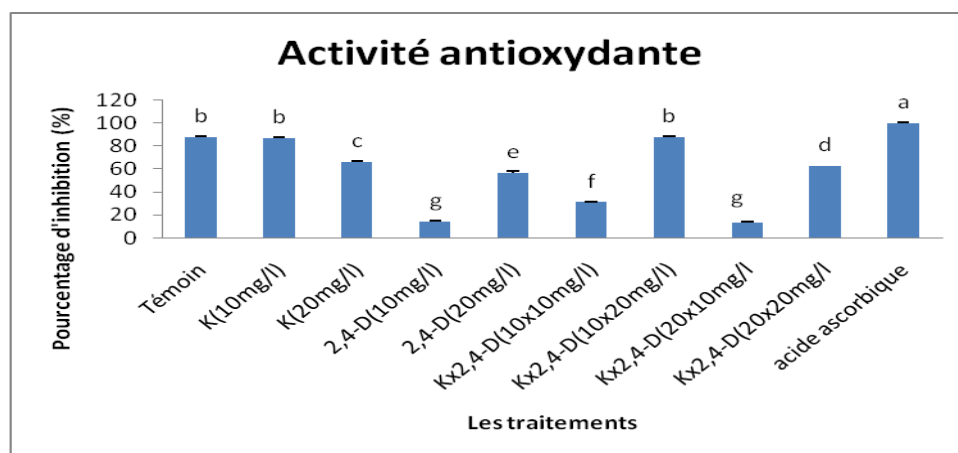
### II-3-Evaluation de l'activité antioxydante relative

La ( **figure 24** ) montre que tous les extraits méthanoliques des différents traitements de la plante *H. albus* L. présentent des activités antioxydantes significativement différentes et les traitements aussi présentent des différences significatives entre eux( Annexes 04). L'extrait méthanolique du témoin non traité par les phytohormones (2,4-D et K) possède le meilleur pourcentage d'inhibition de l'ordre de  $(88 \pm 1) \%$ , c'est un pourcentage très rapproché à ce enregistré par le contrôle: l'acide ascorbique. Les autre extraits révèlent des pourcentages varient entre  $(87 \pm 1) \%$  et  $(13,26 \pm 0,68) \%$  et se sont des pourcentages qui reflètent des activités antioxydantes relatives assez importantes formant des groupes homogènes.

**Tableau 06 :** Les pourcentages d'inhibition des extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones.

| Les traitements*** | Pourcentage d'inhibition (%)*** |
|--------------------|---------------------------------|
| Témoin             | 88±1                            |
| K(10mg/l)          | 87±1                            |
| K(20mg/l)          | 66±1                            |
| 2,4-D(10mg/l)      | 14,33±0,37                      |
| 2,4-D(20mg/l)      | 56,36±1,8                       |
| Kx2,4-D(10x10mg/l) | 31,06±0,64                      |
| Kx2,4-D(10x20mg/l) | 88±1                            |
| Kx2,4-D(20x10mg/l) | 13,26±0,68                      |
| Kx2,4-D(20x20mg/l) | 62,46±0,5                       |
| Acide ascorbique   | 100±1                           |

Les résultats des témoin et les traitements par le K(10mg/L), KX2,4-D (10X20mg/L) sont supérieurs à 76% présenté par l'extrait méthanolique de la plante *H. albus* L. récoltée à Batna par ( Benhouda et al., 2014).



**Figure.24.** l'activité antioxydante relative des extraits des différents traitements par les phytohormones de la plante *H. albus* L.

## II-4- L'analyse des composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales des différents paramètres mesurés (teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins, pourcentage d'inhibition) des différents extraits de la partie aérienne de la plante *H. albus L.* a permis de relever que les deux premiers axes ont les valeurs propres les plus élevées. Ils expliquent 93,69 % de la variabilité détectée, le premier axe absorbe à lui seul 63,95 %, alors que le deuxième explique 30,74 %.

La configuration des paramètres étudiés par l'ACP ( **figure 25**), permet de délimiter deux groupes représentés comme suit:

**Le groupe I :** regroupe l'activité antioxydante et la teneur en tanins des extraits de la plante traitée par les phytohormones qui sont liés positivement au premier et deuxième axe.

**Le groupe II :** regroupe les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et le traitement par les phytohormones qui sont liés positivement au premier et négativement au deuxième axe. La teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins sont reliés positivement entre eux ce qui explique le grand effet des phytohormones utilisées sur la production et l'accumulation des composés phénoliques surtout les flavonoïdes. Ces paramètres sont aussi reliés négativement au pourcentage d'inhibition de ces extraits.

La présentation des différents traitements dans le cercle de corrélation( **figure 26**) nous a conduits à limiter trois groupes comme suit :

**Le groupe I :** il regroupe le témoin et les traitements : K(10mg/L)et (20mg/l), les interactions à faible et à forte dose, qui sont liés positivement avec le premier et le deuxième axe par un pourcentage de corrélation (48,69%).

**Le groupe II :** regroupe le traitement par 2,4-D (10mg/l) et le qui sont liés positivement avec le premier axe et négativement au deuxième axe.

**Le groupe III:** regroupe le traitement avec les deux phytohormones interagées Kx2,4-D(20x10mg/l) qui est relié négativement avec les deux axes.

Et quand on fait la projection des paramètres mesurés des différents extraits des différents traitements sur les traitements utilisés, on peut révéler que le traitement avec les phytohormones surtout le 2,4-D (10mg/l) a un grand effet sur les flavonoïdes. Les composés phénoliques possèdent une activité antioxydante très importante surtout les métabolites polaires comme les tanins qui sont présents en grande quantité dans les solvants polaires comme le méthanol (Yang et al., 2012 ; Roudsari et al., 2009).

L'*H. albus L.* est une plante très riche en alcaloïdes tropaniques et le traitement par les phytohormones 2,4-D et K séparés et interagés a orienté la plante vers la production et

l'accumulation des alcaloïdes au lieu de produire les autres métabolites comme les flavonoïdes (Kadi *et al.*, 2013).

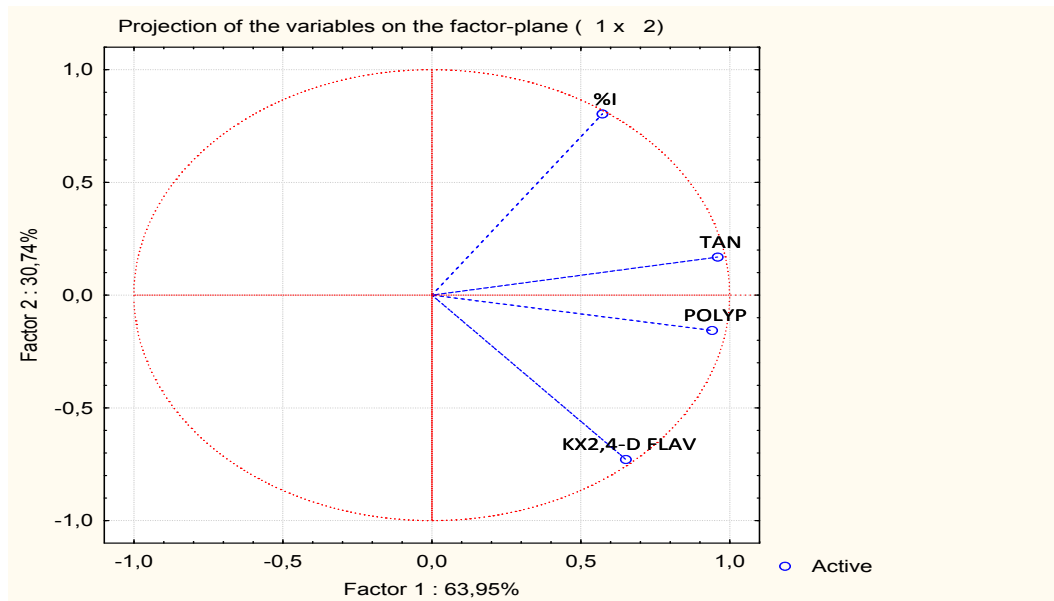


Figure.25. Projection des paramètres mesurés sur le plan engendré par les axes 1 et 2.

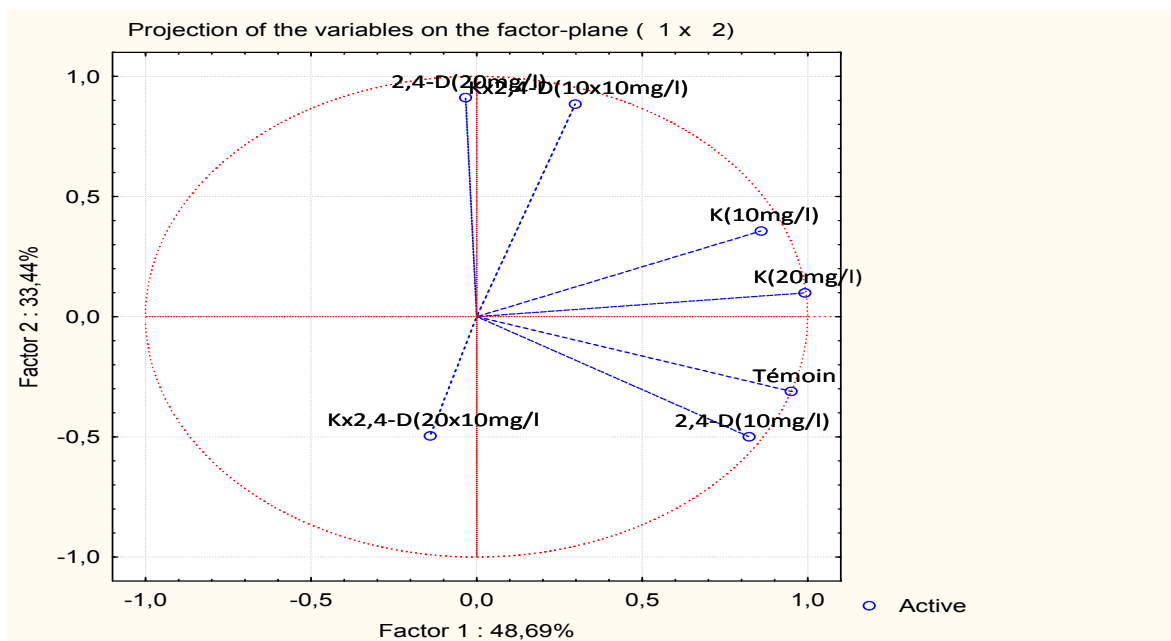


Figure.26. Projection des traitements sur le plan engendré par les axes 1 et 2.

# *Conclusion*

## Conclusion

La diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants. Ces molécules naturelles de nature phénolique sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments (Nur Alam et al., 2013).

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antioxydante de la plante *Hyoscyamus albus* L. traitée par les phytohormones 2,4-D et K séparées et intarctées.

D'après les résultats, les rendements des extraits des traitements par les phytohormones séparées et intarctées ont augmentés le rendement des extraits par rapport au témoin non traité dont le meilleur rendement est donné par le traitement avec le 2,4-D (20mg/L)( 25,62%) et le traitement 2,4-D X K(10x10) mg/l et le faible rendement est enregistré par le témoin avec (14,93%).

L'analyse qualitative des extraits tous les résultats du screening phytochimique des différents extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones sont similaires donc il n'y a pas un effet des phytohormones sur la présence des différent métabolites secondaires testés et ces résultats montrent que les différents extraits méthanoliques de la plante *H. albus* L. contiennent du : flavonoïdes, tanins, coumarines, quinones, composés réducteurs et alcaloïdes et ne contiennent pas des saponosides.

L'analyse quantitative des extraits des traitements de la plante *H. albus* L. par les phytohormones en polyphénols, flavonoïdes et tanins a été déterminée à partir de l'équation de la régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, quercitine et catichine respectivement en ordre.

Les résultats de la teneur en polyphénols des extraits des différents traitements montrent que la meilleure teneur est obtenue par le témoin non traité avec une teneur égale à ( 354,26±1,36) µg EAG/mg E suivi par le traitement par 2,4-D avec la dose (10mg/l) par une moyenne de (186,45±0,52) µg EAG/mgE. Le témoin non traité possède une teneur la plus élevée de l'ordre de (163,65±1,73µg EQ/mgE) suivi par le traitement par 2,4-DXK(20x10mg/l)

( $128,7 \pm 0,47 \mu\text{g EQ/mgE}$ ) et la faible teneur est trouvée chez le traitement par le cytokinine K(10mg/l) avec ( $12,29 \pm 0,43 \mu\text{gEQ/mgE}$ ). Les tanins dans tous les extraits ont des teneurs variant entre ( $100 \pm 1$ ) et ( $6,18 \pm 0,18$ )  $\mu\text{g ECT/mgE}$  dont l'extrait du témoin possède teneur la plus importante par rapport aux autres traitements.

Évaluation de l'activité antioxydante relative montre que tous les extraits méthanoliques des différents traitements de la plante *H. albus* L.. L'extrait méthanolique du témoin non traité par les phytohormones (2,4-D et K) possède le meilleur pourcentage d'inhibition de l'ordre de ( $88 \pm 1$ ) %, c'est un pourcentage très rapproché à ce enregistré par le contrôle: l'acide ascorbique.

D'après notre étude, on peut révéler que le traitement avec les phytohormones surtout le 2,4-D (10mg/l) a un grand effet sur les flavonoïdes.

Les composés phénoliques étudiés possèdent une activité antioxydante très importante surtout les métabolites polaires comme les tanins qui sont présents en grande quantité dans le méthanol.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des molécules à intérêt thérapeutique. Des essais complémentaires seront nécessaires pour confirmer l'activité antioxydante des extraits de cette plante et améliorer ces teneurs en composés phénoliques.

Liste des références

- **Abderrazak m., Joël R., 2007.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris.17 7.
- **Alais ., Linden G., 1997.** Biochimie alimentaire. Ed.Masson, Paris. 120-125.
- **Ardstani A Yazdanparastr., 2007.** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104: 21-29.
- **Athamena s., Chalghem I .,Kassah-Laouar a .,Larouis s .Khebri S .,2010.** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* Lebanese Science Journal. Vol 11 ,1:72.
- **Arro r r j., Develi A., Meijers Van de Westerlo E., Kemp A K., Croes., A F., Wullens G.J., 1995.** Effects of exogenous auxin on root morphology and secondary metabolism in *Tagetes patula* hairy roots cultures. *Phys. Plant.* **93**: 233-240.
- **Bahorun T ,Gressier B.,Trotin F .,Brunete C .,Dine T.,Vasseur T ., Gazin TC .,1996.**Pinkas balsamina (Balsam apple) leaf extract. *J Med Sci* 4, 179-182
- **Bammou M.,2015.**Valorisation du lentisque « Pistacia lentiscus L. » : Étude ethnobotanique,
- **Benbrook M ., 2005.** Accroitre la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.The organic center : 68.
- **Benhouda et al., 2014.** ETUDE DES ACTIVITES PHARMACOBIOLOGIQUES DES EXTRAITS d'*Umbilicus rupestris* (Salisb Dandy) ET *Hyoscyamus albus L.*
- **Benmehdi H ; 2000.** valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire de magistère en chimie organique appliquée. Département de chimie faculté des sciences Université Tlemcen.
- **Blois m s.,1958.** Détermination des activités antioxydantes et antimicrobiennes des champignons médicalement importants utilisant différents solvants et composition chimique par analyse GC / MS
- **Boizot N., and Charpentier JP.** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra.* Pp.79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- **Botineau M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc (Eds.), Lavoisier.
- **Bougandoura N ., Bendimerad N. 2013.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. 9: 15.

- **Brand-Williams W., Cuvelier Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30.
- **Broadhurst R., B., Jones W T., 1978.** Analyses of condensed tannins using acidified vanillin.
- **Brouillard R., 1986.** The flavonoids Advances. In: research since 1993. Harborne J B. Chapman and Hall, London. 525-538.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales .3<sup>ème</sup> Ed Techniques et documentations. Paris.227-310-312-313-314.494.
- **Bunk G J.,1997.** Hormone influences on growth and secondary metabolite production in *A. annua*. M.S. Thesis. Worcester Polytechnic Institute, Worcester, MA.. USA. P 25-31.
- **Calabrese G., 2003.** Valeur nutritionnelle des raisins de table. *Bult Off .Inter. Vin*. 862-864
- **Carrée P., 1953.** Précis de technologie et de chimie industrielle. Paris : Ballière J.B. et Fils, .475
- **Congo M.,2012.** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse en pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42.
- **Carvalho J C T.,and Bastos. , J K. 2005.** Synthesis and biological activity evaluation of lignan lactones derived from (-)-cubebin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15, 1033–1037
- **Dacosta Y.** (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- **D'arcy W G.,Rakotozafy Y A. 1994.** 176<sup>e</sup> Famille – Solanaceae , Morat ; P ; H.Ministère de la Recherche Scientifique et Technologique pour le développement de Madagascar, Missouri Botanical Garden (Eds.), Flore de Madagascare
- **Daunay M C.,Laterrot H., Janick J. 2007.** Iconography of the Solanaceae from Antiquity to the XVII th Century: a Rich Source of Information on Genetic Diversity and Uses. *Vlth International Solanaceae Conference*, 745:59-88.
- **Dolan L. 2006.**Pointing roots in the right direction: the role of auxine transport in response to gravity. *Genes ET development* 12: 2091-2095.
- **Dodds J H., Roberts W (1995).** Expermints in plant tissue culture. Cambridge University press.3rd edition. 189 pp

- **Edeaga H O ., Okwu D E., Mbaebie B O 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian
- **Farnsworth N R., Akerele O., Bingel A S.,Soejarto D D.,Guo Z. (1985).** Medical plants in therapy. *Bull. World Health Organization.* **63:** 965-981.
- **Favier A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.* 108-11.
- **Favier A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr .* Mémoire de Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396.
- **Floss H G., 1997.** Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports.*, 14 : 433-434.
- **Georgieva S ., Boyadzhiev L ., Angelov G. 2010.** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel.* 5:124-132.
- **Ghedira K ., Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytother. 2005; 3: 162-169.**
- **Giulia Di Carlo ., Nicola Mascolo., Angelo A., Izzo ., FrancescoCapasso. 1999.** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 65 .4: 337-353.
- **Goullé J P., Pépin G ., Dumestre T ., V ., Lacroix C. 2004.** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de Toxicologie Analytique.* :22-35.
- **Graven E .,Dean S., Svoboda K .,Mavis ., Gundidza M. 1992.** Antimicrobial and antioxidative properties of the volatile (essential) oil of *Artemisia afra* Jacq. *Flavour. Fragr. J.* 7: 121-123.
- **Guignard J .,1996.** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. 175-192.
- **Gurbuz ; I .,Yesilada .,E ; Ito .,S. 2009.** An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121, 360–365
- **Halliwell B., 1991.** Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* **91(3C):**14S-22S
- **Harbone J B. 1967.** Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York. 1-130 .
- **Heller R.,1985.** Physiologie végétale, développement. 3ed. Masson, Paris, p 85-135

- **Heimler D.** Vignolini ;Giulia Dini M ; Francesco Vincieri F ; Rmani A. 2006. Antiradical
- **Henintsoa Rakotoarivelo.** 2011 Contribution à l'étude phytochimique de *Datura stramonium* Linné (Solanaceae), Mémoire de Recherche pour l'obtention du Certificat d'Aptitude Pédagogique de l'Ecole Normale « C.A.P.EN», 3.4.5t des Comores. Laboratoire de Phanérogamie. Paris., 1–97.
- **Hongo D.,** 2009. Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer Bioorganic & Medicinal Chemistry 17, 25– 28
- **Hoffmann L ., Besseau S ., Geoffroy P ., Ritzenthaler C., Meyer D .,Lapierre C., Pollet B., Legrand M .,** 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*,
- **Hopkins W. G.,** (2003). Physiologie végétale. 1ere édition. Bruxelles ISBN 2-7445-0022-4. p 310-311.
- **Ibrahim A., Abd El Kawi M.,Nower A .,Abd Motaal A., Abd Aal A.,** (2009). Alkaloid production and organogenesis from callus of *Hyoscyamus muticus* L. in vitro. J. of Applied sciences research. 5 (1) : 82-92.
- **Ito C., Itoigawa .,M ; Onoda ., S., Hosokawa ; A., Ruangrunsi ., N., Okuda T., Tokuda H., Nishino H., Furukawa H .,** 2005. Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti-tumor promoting effect., *Phytochemistry* 66, 567–572.
- **Iserin P.,** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Identification, préparations, soins. Masson, Paris. p 220-221.
- **Jiri S .,Marketa R .,Olgak., Petr S., Vojtech J., Libuse T., Ladislavh .,Miroslavab ; Josef Z., Ivop .,Renek K.,** 2010. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molécules* . 15: 8618-8640.
- **Jouzier E.,** 2000. Solanacées médicinales et philatélie *Bull. Soc Pharm Bordeaux*, pp : 144.
- **KADI K.,** 2010. Contribution à l'étude de l'effet des hormones végétales sur l'accumulation de substances actives dans la plante d' *Hyoscyamus albus* L. thèse doctorat. univ Mantouri Constantine. p 124.

- **KADI K, Yahia A, Hamli S, Laiche A, KraAli W., 2013.** In vitro Antibacterial activity and phytochemical Analysis of white Henben treated by phytohormones. *Pakistan journal of Biological science*.
- **Kalkhambkar R G Kulkarni G M ., Shivkumar H ., Rao ., R N2007.** Synthesis of novel triheterocyclic thiazoles as anti-inflammatory and analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 42, 1272 -1276.
- **Kanoun K ., 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie. universite aboubekr belkaid tlemcen. 30-48.
- **Karumi ., Onyeyili ., Ogugbuaja .,2004.** Identification of active principals of M. BLASMIA(BLASAM APPELE) leaf extact. *J.MED.SCI* ,4(3):179\_ 182
- **Khanbabae K ., Ree T R., 2001. Tannins:Classification and Defenition.** *Journal of RoyalSociety of Chemistry*. 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008.
- **Kirtikar K R.,Basu B D .,1984.** Indian medicinal plants. M/S Periodical Experts, *New Delhi*.pp: 1794.
- **Kening Y., Vincenzo D L et Normand B.,1995.** Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the subseptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.,7* : 1787-1799.
- **Ko W G., Kang T H ., Lee S J., Kim N Y .,Kim Y C ., Sohn D H ., and Lee B H.,2000.** Polymethoxy flavonoids from *Vitex rotundifolia* inhibit proliferation by inducing apoptosis in human myeloid leukemia cells; *Food and Chemical Toxicology* 38, 861 – 865.
- **Kohen R., and Nyska A. Invited Review.** Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 2002; 30: 620-650.
- **Krishna D., Chaluvadi M Raj N ., and Sripal R :** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* 2001; 33: 2-16.
- **Küpelı E ., Erdemođlu N ., Yeşilada E., Şener B., 2003.** Anti-inflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of *Taxus baccata* L. *Journal of Ethnopharmacology* 89, 265 – 270
- **Küpelı E .,Yesilada E., 2007.** Fl avonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 524–530

- **Lee M R., 2006.** Solanaceae III: henbane, hags and Hawley Harvey Crippen. *J R Coll Physicians Edinb*,36: 366–373.
- **Lehucher-Michel M P.,Lesgards J F., Delubac O.,Stocker P.,Durand P Prost M., 2001.** Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. 30-1076-1081.
- **Li F., Awale S.,Tezuka Y.,and Kadota S.,2008.** Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure–activity relationship *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16, 5434–5440
- **Lugasi A., Hovari J.,SagiK., and Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.*J.Acta.biologica. szegediensis.* 47 (1-4) :119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005
- **Lutge U., Kluge M., Bauer G., 2002.** Botanique 3<sup>ème</sup> Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211.
- **Lüttge U.,Kluge M., Bauer G., (1994).** Traité fondamental de botanique. Paris, tec. et doc. p 365-385.
- **Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviono C S and Kolodziejczyk PP., (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils.*Phytochemistry.* 69:1732-1738.
- **Luycky M., Gazin M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract
- **Maataoui S., Hmyene A., Hilali S., 2006.** Activités anti-radicalaires d’extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal.* 1:3-8.
- **Male\_Éev D É and Kunti\_ç V.** Investigation of metal--flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal--flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.* 2007; 72: 921-939.
- **Marfak A., 2011.** Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. 6-7-27-45.
- **Mann J.,1996.** Secondary metabolism. Oxford chemistry series, *Clarendon press*, oxford. 260 -300 pp.
- **Martin M J., Motilva., V.,and de la Lastra ; C ; A ;Quercetin and Naringenin; Effects on Ulcer .1993.** Formation and Gastric Secretion in Rats. *Phytotherapy Research* VOL. 7, 150-153

- **Meddour A .,Yahia M., Benkiki N .,Ayachi .,2013.** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparispinosa l. *Lebanese Science Journal*. Vol 14 ,1: 52p.
- **Medic–Saric M ., Jasprica I .,SmolcicBubaloA ., and M omar A., 2003.** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids.*CroaticaChemicaActa* .77 (1-2):361-366. (cited in Mohammedi Z, 2005).
- **Meziti A., 2007.** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna. 30-35-49-67.
- **Millbury P ., Richer A .,2008.** Understanding the Antioxidant Controversy. Ed. Praeger: 81.
- **Miller C O .,Skoog F.,Saltza M H.,Von String F F ., (1956).** Kinetin, a cell division factors from dozy ribonucleic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* **77**: 1329-1334.
- **Molyneux P., Songklakarinn J., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* .Vol 26 (2) : 211-219.
- **Nijveldt R J., van Nood E., van Hoorn D E ., Boelens P., G ., van Norren K .,and van Leeuwen P A :** Flavonoids a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American J. Clinic. Nutr.* 2001; 74: 418-425.
- **Nouioua W .,2012.**Biodiversite Et Ressources Phytogenetiques D'un Ecosysteme Forestier
- **Nuralam .,Bristn., Rafquzzaman M., 2013.** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. 21 :145-149.
- **Nultsch W., (1998).** Botanique générale. © De boech université S.A, paris bruxelles. ISBN 2-7445-0022-4, p 460-461-465.
- **Ou B.,Hampsch-Woodill M.,Prior R L., 2001.** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4619-4626.
- **Parejo I., Viladomate F., Bastida J ., Rosas-Romero A ., Flerialagen N., Burillo J ., Codina C., 2002.** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*. 5 : 6882-6884.
- **Paris M .,Hurabielle .,1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.

- **Pastre J .,Priymenko N ., 2007.** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* 4 :187.
- **Popovci C., Saykova I., Tylkowski B ., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel.*
- **Prior R L W u x .,Schaich .,2005.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements . *Agric. Food Chem.* 53 : 4290-4302.
- **Prat R., 1994.** l' expérimentation en physiologie végétale, Herman, Paris, p 238- 261.
- **Quetin-Leclercq J .,2002.** Le Voyage Insolite De La Plante Au Médicament . *Journal de Pharmacie de Belgique* ,57 :11-20.
- **Quezel P et Santa S ., (1962, 1963)** Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- **Ribéreau-Gayon P., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris.254.
- **Robert D.,Rolland J C ., (1999).** Biologie cellulaire. Vol. 1: organisation végétative. Paris, Doin. 521 pp.
- **Rolland Y., 2004.** Actualités des lipides en cosmétique .Antioxydants naturels végétaux. OCL. Vol 11.6 : 419 - 424.
- **Sajeli B., Sahai M., Suessmuth R., Asai T., Hara N., and Fujimoto Y.,(2006).** Hyosgerin, a New Optically Active Coumarinolignan, from the Seeds of *Hyoscyamus niger*. *Chem.Pharm.Bull*; 54(4): 538-541.
- **Sannomiya M., Fonseca VB., da Silva M A .,Rocha L R M., dos Santos LC., Hiruma-Lima C A ., Britoc A R M S ., Vilegas ., W.,2005.** Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 1- 6
- **Sharififar F ., Moshafi M H .,Mansouri SH., Khodashenas M ., Khoshnoodi M.**“In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss”, *Food Control*, 18, 2007, 800–805.
- **Schofield P., mbugua d m .,pell A N ., 2001.** Analysis of condensed tannins : A review animal feed Sciences and technical, 91 :21-40.
- **Stalikas C D., 2007.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30, 3268 – 3295.

- **Subramanian S., Stacey G., and Yu O .,** Distinct : crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends Plant Sci.* 2007; 12: 282-285.
- **Sutradhar R K ., Rahman A K M M., Ahmad M U., Bachar SC ., 2008 :**Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. *Phytochemistry Letters* 1, 179–182
- **Tanguy M., 2009.** Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation . Médecine. Vol 5, 6:256-260.
- **Touafek O ., 2010.** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algerien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 9-12-76.
- **Treas G E .,Evans W C .,1983.** Pharmacognosy, *12 th Ed. Bailliers and Tindall. London,;* 45-47.
- **Tripoli E .,Guardia M L .,Giammanco S ., Di Majo D ., Giammanco M ., 2007.** Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *Food Chemistry* 104 466 – 479.
- **Tayeb A H.,1994.** Agronomie moderne. Hatier -aupelf- UREF. pp 134-135.
- **Valdes B ., Talavera S., and Fernandez-Galiano E., 1987.**Flora Vascular de Andalucía Occidental, *vol. 2 Ketrès éditoria.* Barcelona..361.
- **Wilfred V et Ralph N., 2006.** Phenolic compound biochemistry Ed Springer
- **Win N N ., Awale S ., Esumi H .,Tezuka Y ., Kadota S., 2008.** Novel anticancer agents, kayeassamins C -I from the flower of *Kayea assamica* of Myanmar *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16, 8653–8660
- **Wong CC .,Li H B., Cheng KW Chen F .,2006.** A systematic survey of antioxidant
- **Wink M., 2010;** *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism; Annual Plant Reviews* 40; Ed: WILEY-BLACKWELL: 1-23.
- **Prat R .,1994.** l' expérimentation en physiologie végétale, Herman, Paris, p 238- 261.
- **Werner T.,Oxenberg L.,Motyka V .,Strnad M., Schmulling T.,2001.** Regulation of plant growth by cytokinin .*PNAS .Vol.98.No.18:* 10487-10492.

**Le site web:**

- <http://www.potgercaillebotte.fr/vie-du-potager/theme-annuel/>
- <https://www.google.dz/search?q=image+de+kinitine&source>

**Annexe****Annexe 01: ANOVA POLYP**

| Source          | DF | Squares     | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Model           | 8  | 302208.3031 | 37776.0379  | 75017.0 | <.0001 |
| Error           | 18 | 9.0642      | 0.5036      |         |        |
| Corrected Total | 26 | 302217.3673 |             |         |        |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | POLYP Mean |
|----------|-----------|----------|------------|
| 0.999970 | 0.614415  | 0.709624 | 115.4959   |

| Source | DF | Anova SS    | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| ESP    | 8  | 302208.3031 | 37776.0379  | 75017.0 | <.0001 |

**Annexe 02 : ANOVA FLAV**

| Source          | DF | Squares     | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Model           | 8  | 79460.16999 | 9932.52125  | 13776.0 | <.0001 |
| Error           | 18 | 12.97800    | 0.72100     |         |        |
| Corrected Total | 26 | 79473.14799 |             |         |        |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | KX2_4_D_FLAV Mean |
|----------|-----------|----------|-------------------|
| 0.999837 | 1.294371  | 0.849117 | 65.60074          |

| Source | DF | Anova SS    | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| ESP    | 8  | 79460.16999 | 9932.52125  | 13776.0 | <.0001 |

**Annexe 03 : ANOVA TANINS**

| Source          | DF | Squares     | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Model           | 8  | 24086.72927 | 3010.84116  | 9725.99 | <.0001 |
| Error           | 18 | 5.57220     | 0.30957     |         |        |
| Corrected Total | 26 | 24092.30147 |             |         |        |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | TAN Mean |
|----------|-----------|----------|----------|
| 0.999769 | 1.863458  | 0.556387 | 29.85778 |

| Source | DF | Anova SS    | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| ESP    | 8  | 24086.72927 | 3010.84116  | 9725.99 | <.0001 |

**Annexe 04 : ANOVA %I**

| Source          | DF | Squares     | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Model           | 9  | 24834.94167 | 2759.43796  | 3114.49 | <.0001 |
| Error           | 20 | 17.72000    | 0.88600     |         |        |
| Corrected Total | 29 | 24852.66167 |             |         |        |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | _I Mean  |
|----------|-----------|----------|----------|
| 0.999287 | 1.581533  | 0.941276 | 59.51667 |

| Source | DF | Anova SS    | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| ESP    | 9  | 24834.94167 | 2759.43796  | 3114.49 | <.0001 |

## ملخص:

يرتكز هذا العمل على تقييم نشاط مضادات الاكسدة في عينات من نبات السكران (المعالج بالهرمونات النباتية 2,4-D و K بالجرعات 0, 10, 20 ملغ/ل) و من العائلة الباذنجانية ، والذي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي وكما اهن غني جدا بالفلويدات .

وأظهرت نتائج الدراسة الكيميائية النباتية للنبات أن العلاج بالهرمونات النباتية لديه تأثير كبير بالانخفاض على المركبات الفينولية المدروسة مقارنة بالنبات غير المعالج.

وأظهر الفحص الكيميائي النباتي أن العلاج بالهرمونات النباتية ليس لها أي تأثير على نوعية المركبات الثانوية المدروسة لان كل المعالجات تحتوي على العفص، الصابونين، الفلافونويد، كينونات، الكومارين وقلويدات .

وأظهر التحليل الكمي أن مستخلص الميثانول لنبات السكران غير المعالج اعطى أفضل المحتوى إجمالي البوليفينول مع  $354,26 \pm 1,36 \mu\text{g EAG/mg E}$  الشاهد غير المعامل من الفلافونيدات اعلى معدل بـ  $2,4\text{-D}$  مع جرعة (10 ملغ/ل) بمعدل ( $186,45 \pm 0,52 \mu\text{g EAG/mgE}$ ) , كما اوضح تقدير محتويات الشاهد دراسة تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر عن طريق أسلوب محاصرة من قبل DPPH .

وأظهرت النتائج أن العلاج بالهرمونات النباتية 2,4-D و K لها تأثير كبير على نشاط الأكسدة و ذلك كل العلاجات المختلفة لمستخلصات النبات حيث يمكن أن تعمل على محاصرة الجذور.

الكلمات المفتاحية: نبات السكران ، المركبات الفينولية، 2,4-D، K ، النشاط المضاد للأكسدة.

## Résumé

Le présent travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante *Hyoscyamus albus* L. (traitée par les phytohormones 2,4-D et K par les doses 0,10,20mg/l) de la famille des solanacées, très utilisée en médecine traditionnelle et très riche en alcaloïdes.

Les résultats de l'étude phytochimique de la plante ont montré que le traitement avec les phytohormones a un effet significatif par diminution par rapport au témoin non traité sur les composés phénoliques étudiés. Le screening phytochimique a montré que le traitement par les phytohormones n'a aucun effet sur la qualité des métabolites secondaires étudiées car tout les extraits contiennent des tanins, des saponosides, des flavonoïdes, des quinones , des coumarines, des alcaloïdes et des composés réducteurs. L'analyse quantitative a montré que l'extrait méthanolique d'*H.albus* non traitée présente la meilleure teneur en polyphénols totaux avec ( $354,26 \pm 1,36$ )  $\mu\text{g EAG/mg E}$  suivi par le traitement par 2,4-D avec la dose (10mg/l) par une moyenne de ( $186,45 \pm 0,52$ )  $\mu\text{g EAG/mgE}$  , les flavonoïdes de meme' extrait en révélé des teneurs égalent à ( $163,65 \pm 1,73 \mu\text{g EQ/mgE}$ ) est des teneur en les tanins ( $100 \pm 1 \mu\text{gECT/mgE}$ ) L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée par la méthode de piégeage par le DPPH.

Les résultats obtenus ont montré que le traitement par les phytohormones 2,4-D et K a un effet significatif sur l'activité antioxydante donc tous les extraits des différents traitements de la plantes peuvent agir en tant que piègeurs de radicaux.

Mots clés : *Hyoscyamus albus* L, composés phénoliques, activité antioxydante, K, 2,4-D.

## Summary

The present work deals with the evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the plant *Hyoscyamus albus* L. (treated with phytohormones 2, 4-D and K in doses 0, 10,20mg / l) of the solanaceae family, widely used in traditional medicine and very rich in alkaloids.

The results of the phytochemical study of the plant showed that the treatment with phytohormones had a significant effect by reduction compared to the untreated treatment on the phenolic compounds studied. Phytochemical screening showed that treatment with phytohormones had no effect on the quality of the secondary metabolites studied because all the extracts contained tannins, saponosides, flavonoids, quinones, coumarins, and alkaloids, reducing compounds.

Quantitative analysis showed that the methanolic extract of untreated *H.albus* had the best total polyphenol content with ( $354.26 \pm 1.36$ )  $\mu\text{g EAG / mg E}$  followed by treatment with 2,4- D with the dose (10mg / l) by an average of ( $186.45 \pm 0.52$ )  $\mu\text{g EAG / mgE}$ , the flavonoids of the extract revealed contents ( $163.65 \pm 1.73 \mu\text{g EQ / mgE}$ ) The tannins ( $100 \pm 1 \mu\text{gEc / mgE}$ ).

Evaluation of the antioxidant activity *in vitro* was investigated by the DPPH trapping method. The results obtained showed that the treatment with phytohormones 2, 4-D and K had a significant effect on the antioxidant activity so all the extracts of the various treatments of the plants can act as radical scavengers.

Key words: *Hyoscyamus albus* L, phenolic compounds, antioxidant activity, K, 2, 4-D.