

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abbès Laghrour Khenchela



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

## Thème :

**Evaluation de l'activité antioxydante des  
alcaloïdes et des flavonoïdes de la plante  
médicinale «*Hyoscyamus albus* L.» de la région  
de Khenchela**

Présenté par

**Ayeb Nesrine et Berrah Kamilia**

### Jury de soutenance

**Président:** M<sup>me</sup> Hamli S.

MCA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela-

**Rapporteur:** M<sup>me</sup> Kadi k.

MCA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela-

**Examinatrice:** M<sup>r</sup> Zeraib A.

MCB. Univ. Abbès Laghrour -Khenchela-

Année universitaire : 2019 – 2020

# Remerciements

*En premier lieu on remercie ALLAH pour tous les bienfaits qu'il permis de bien accomplir ce modeste travail.*

*Mes remerciements s'adressent tout particulièrement à mon encadreur : M<sup>me</sup> Kadi Kenza pour l'effort fourni durant la réalisation de ce mémoire, ses conseils scientifiques, sa patience et sa persévérance dans le suivi.*

*A cette même occasion, on tient à remercier M<sup>me</sup> Ayeb Nour El Houda, pour sa disponibilité, ses conseils et ses efforts fourni.*

*Je tenus a exprimé mes remerciements les plus sincère aux membres de jury :*

*M. Zeraib A. pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'examiner notre travail.*

*M<sup>me</sup> Hamli S. qui a acceptée de présider ce jury*

*Sans oublier l'ensemble de la famille de département Science de la Nature et de la Vie.*

*Mes remerciements également tous le personnel du laboratoire de biologie à l'université Abbes Laghrour - Khenchela- pour leur accueil et leur aide tout au long de réalisation de ce travail.*

*A toute personne qui participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail. Merci donc ma mère, mon père, à mes sœurs, à mon frère et mes amis pour leur présence, leur confiance et leur soutien.*

**KAMILIA ET NESSRINE**

# Dédicaces

*Je dédie ce travail à :*

*Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et que je suis très fière de les avoir comme parent et que tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porté ma mère Fafa et mon père Arbi et pour leurs soutien et leurs sacrifices énormes. Je vous aime papa et maman.*

*Mes très chères sœurs Hana, Imen, Houda et son marie Mohamed et mes chers frères Yazid et Khalil, qui m'ont soutenu, aidé et qui ont été toujours présents dans les moments difficiles. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussites.*

*A mon frère et ma sœurs que ma mère ne m'a pas données ; à Daradji et Sabah, merci pour vos aides, vos encouragements et vos précieux conseils. Que le dieu les protèges et les gardent en bonne santé.*

*A ma plus belle cousine qui je la considère comme sœur aussi Sihem et ses enfants : Jallou, Moumen, Hamza et Hidaya*

*Mes spéciales dédicaces pour mon binôme « Kami » et toute sa famille;*

*A Ceux que j'ai partagés les meilleurs moments de ma vie, vous mes chères amies : Meriem, Nadjatte, Rabiaa, Abir, Mouna, Ryma, Kenza, Amira, maroua. khawla et raoula, Imen. Que ce travail soit le témoignage d'une amitié sincère*

*A mes collègues de lycée Nehad, Raouia et Nesrine, Qui m'encourage toujours et que j'ai partagé avec eux de très bons moments.*

*A tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin.  
Tous ceux que j'aime et qui m'aiment.*

**NESRINE**

# Dédicaces

*De tout mon cœur je dédie ce modeste travail :*

*À toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et plus particulièrement:*

*A ma chère mère **Akila**, la lumière qui nous a guidés vers le chemin de savoir*

*A mon cher père **Khalil** pour leur sacrifice*

*A mes sœurs surtout ma grande sœur et sa petite famille (son mari et ses filles : **Rawane, Nada**)*

*A mes chers frères **Fateh, Walid** et sa petite famille (sa femme et ses filles : **Nessrine, Lamisse**)*

*Je prie pour la miséricorde et le pardon à mon cher frère **YAZID**  
et ma chère sœur et ma chère amie **SAMEH**, demandant  
à Dieu tout-puissant d'habiter en eux, et son étendue céleste.*

*À ma plus belle amie et collègue, à ma partenaire dans ce travail : **NESRINE***

*À ma grande famille, mes meilleures amies et collègues : **Meriem, Nadjatte, Rabiaa, Abir, Mouna, Ryma, Kenza, Amira, maroua, khawla, Raoula, Aya et chaima.***

*Particulièrement ma chère amie qui je considère comme une sœur : **Nour et Houda Kadri** et sa famille.*

*A ma belle voisine **Kholoud** et sa petite famille (sa mère, son père et son frère **Amir**)*

**KAMILIA**

# Table des matières

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction**..... 01

## **Partie théorique**

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

1. Généralités sur les Solanacées.....	03
2. Caractéristiques botaniques de « <i>Hyoscyamus albus</i> L. ».....	03
3. Répartition géographique de la plante.....	04
4. Etymologie.....	04
5. Taxonomie.....	04
6. Composition chimique.....	05
7. Usages thérapeutiques.....	05
8. Effet toxique de la plante.....	05

### **Chapitre II. Métabolites secondaires**

1. Généralités.....	07
2. Définition des métabolites secondaires.....	07
3. Classification des métabolites secondaires.....	07
3.1. Composés phénoliques.....	07
3.1.1. Structure des composés phénoliques.....	08
3.1.2. Classification des composés phénoliques.....	08
3.1.2.1. Acides phénoliques.....	10
3.1.2.2. Flavonoïdes.....	10
3.1.2.3. Tanins.....	13
3.1.2.4. Coumarines.....	13
3.1.2.5. Lignines.....	14
3.2. Alcaloïdes.....	14
3.2.1. Définition.....	14

3.2.2. Classification.....	14
3.2.3. Alcaloïdes tropaniques.....	15
3.2.4. Alcaloïdes retrouvés dans « <i>Hyoscyamus albus</i> L.».....	17
3.3. Terpénoïdes.....	17

### **Chapitre III. Stress oxydatif, Radicaux libres et antioxydants**

1. Stress oxydant.....	19
2. Radicaux libres.....	19
2.1. Définition.....	19
2.2. Principaux radicaux libres rencontrés en biologie.....	19
2.2.1. Espèces réactives de l'oxygène.....	20
2.2.2. Espèces réactives azotées.....	21
2.3. Principales sources des ERO et des ERN.....	21
2.3.1. Sources endogènes.....	21
2.3.2. Sources exogènes.....	22
3. Activité antioxydante.....	23
3.1. Antioxydants endogènes.....	23
3.1.1. Antioxydant enzymatique.....	23
3.1.2. Antioxydant non enzymatique.....	24
3.2. Antioxydants exogènes.....	26
4. Pathologies dues au stress oxydant.....	26

### **Partie pratique**

#### **Chapitre I. Matériel et méthodes**

1. Matériel.....	28
1.1. Matériel végétal.....	28
1.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	29
2. Méthodes.....	29
2.1. Préparation de la poudre végétale.....	30
2.2. Préparation de l'extrait brut hydroéthanolique.....	30
2.3. Etude qualitative.....	32
2.4. Extraction des métabolites secondaires.....	33
2.4.1. Extraction des flavonoïdes totaux.....	33
2.4.2. Extraction des alcaloïdes totaux.....	34
2.5. Etude quantitative.....	35

2.5.1. Dosage des flavonoïdes.....	35
2.5.2. Dosage des flavonols.....	35
2.5.3. Dosage des alcaloïdes totaux.....	35
3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	36
3.1. Activité « scavenging » du radical DPPH.....	36
3.2. Réduction de fer.....	38
3.3. Test de phosphomolybdate.....	38
4. Analyse statistique.....	39

## **Chapitre II. Résultats et discussion**

1. Rendement d'extraction.....	40
2. Résultats de l'étude qualitative.....	40
3. Résultats de l'étude quantitative.....	42
3.1. Dosage des flavonoïdes.....	42
3.2. Dosage des flavonols de l'EEHA.....	43
3.3. Dosage des alcaloïdes totaux de l'EEHA.....	44
4. Evaluations des activités antioxydantes des extraits de l' <i>Hyoscyamus</i> <i>albus</i> .....	44
4.1. Activité « scavenging » du radical DPPH.....	45
4.2. Test pouvoir réducteur.....	48
4.3. Test phosphomolybdate.....	49
<b>Conclusion et perspective</b> .....	51

### **Références bibliographiques**

**Annexe**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

## Liste des abréviations

---

**ADN** : Acide Désoxyribo –Nucléique.

**BHA**: Butyl Hydroxy Anizole.

**CAT** : Catalase.

**DPPH** : 1,1 Diphényl-2- Picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>).

**EAHA** : Extrait Alcaloïdique de l'*Hyoscyamus albus*

**EEHA** : Extrait Ethanolique de l'*Hyoscyamus albus* L.

**EFHA** : Extrait Flavonoïdique de l'*Hyoscyamus albus*

**EOR** : Espèce Réactive Oxygénée.

**ERN** : Espèces Réactives azotées.

**GPx** : Glutathion Peroxydase.

**GR** : Glutathion Réductase.

**GSH** : Glutathion réduit.

**GSSG**: Glutathion dissulfite.

**HA** : *Hyoscyamus albus* L.

**IC50** : Concentration Inhibitrice de 50 %

**I.P** : Indice de Polarité.

**mg EAA/g E** : milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait

**mg EQ / g E** : milligramme équivalent de quercétine par gramme du poids d'extrait

**NADPH**: Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phostate.

**PI%** : Pourcentage d'Inhibition.

**PPM** : test de phosphomolybdate.

**RL** : Radical Libre.

**SNC** : Système Nerveux Central.

**SOD** : Super Oxyde Dismutase.

**TCA** : acide trichloracétique.

**UV** : Ultra Violet.

## Liste des figures

---

<b>Figure 1.</b> Différentes parties de la jusquiame blanche.....	03
<b>Figure 2.</b> Structure chimique de l'hyoscyamine.....	16
<b>Figure 3.</b> Structure chimique de l'atropine.....	16
<b>Figure 4.</b> Structure chimique de la scopolamine.....	16
<b>Figure 5.</b> Structure chimique des principaux alcaloïdes tropaniques.....	17
<b>Figure 6.</b> Structure chimique de l'isoprène.....	18
<b>Figure 7.</b> Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de L'oxygène impliqué en biologie.....	22
<b>Figure 8.</b> Elimination du $H_2O_2$ par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.....	24
<b>Figure 9.</b> Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives de l'oxygène.....	24
<b>Figure 10.</b> Propriété réductrice des polyphénols.....	25
<b>Figure 11.</b> Photographie de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> prise le 18/06/2019.....	28
<b>Figure 12.</b> Lieu de récolte de la plante <i>Hyoscyamus albus</i> à la wilaya de Khenchela (région d'Elwaldja).....	29
<b>Figure 13.</b> Préparation de l'extrait brut de l' <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	31
<b>Figure 14.</b> Préparation de l'extrait flavonoïdique.....	34
<b>Figure 15.</b> Dosage des alcaloïdes totaux.....	36
<b>Figure 16.</b> Réduction du DPPH' par un antioxydant.....	37
<b>Figure 17.</b> Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait de l' <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	41
<b>Figure 18.</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'EFHA	

## Liste des figures

---

et l'EAHA (B).....	45
<b>Figure 19.</b> Pourcentage de l'activité scavenging contre le radical DPPH des EFHA EAHA et les standards à 100 µg/ml.....	46
<b>Figure 20.</b> Activité « scavenging » du radical DPPH des extraits de la partie aérienne de l' <i>Hyoscyamus albus</i> .....	46
<b>Figure 21.</b> Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de l' <i>Hyoscyamus albus</i> .....	48
<b>Figure 22.</b> Test phosphomolybdate des extraits de la partie aérienne de l' <i>Hyoscyamus albus</i> ..	49

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Classification de l' <i>Hyoscyamus albus</i> .....	04
<b>Tableau 2.</b> Principales classes des composés phénoliques.....	09
<b>Tableau 3.</b> Principales classes des flavonoïdes.....	11
<b>Tableau 4.</b> Maladies causées par le stress oxydatif.....	26
<b>Tableau 5.</b> Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait éthanolique de <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	41

# ***INTRODUCTION***

### Introduction

Depuis l'Antiquité, nos ancêtres dépendaient dans leur vie des ressources naturelles, car ils utilisaient certaines plantes dans le traitement de diverses maladies, et ces plantes étaient classées comme plantes médicinales, et leur domaine d'utilisation s'appelle la phytothérapie traditionnelle (médecine alternative). Malgré le développement remarquable dans le domaine de la médecine moderne, mais il s'appuie toujours sur la phytothérapie traditionnelle, notamment pour lutter contre les maladies mortelles, donc le mérite en revient à nos ancêtres (El Rhaffari et Zaid, 2004).

Depuis plusieurs années, des plantes ou des préparations médicinales à base de plantes sont utilisées, et à ce jour de nombreux chercheurs s'intéressent à ces plantes médicinales en raison de leur énorme stock de composés et de molécules bioactives, où l'on trouve les métabolites primaires et à côté d'eux les métabolites secondaires qui représentent une source importante de molécules telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes qui sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (Bourgaude et *al.*, 2001; Kar, 2007).

Le stress oxydatif contribue à de nombreuses maladies car il est considéré comme un catalyseur ou lié à des complications (Favier, 2003). L'organisme produit quotidiennement des radicaux libres, qui sont des composés réactifs contenant un seul électron nécessaire aux mécanismes vitaux. La production excessive de ces radicaux libres est nocive pour l'organisme (Koechlin, 2006).

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Algérie. La Wilaya de Khenchela a une richesse forestière des plantes aromatiques médicinales importante et diversifiée. *Hyoscyamus albus* L. est une plante médicinale appartenant à la famille des Solanacées. Elle est utilisée pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques et pharmacologiques (antioxydants, antispasmodiques, analgésiques, anti-inflammatoires et hepato-protectrices) (Begum et *al.*, 2010 ; Saci et Touguit, 2015).

C'est dans ce contexte s'inscrit ce présent travail, dont l'objectif essentiel consiste à évaluer l'activité antioxydant des flavonoïdes et des alcaloïdes de la partie aérienne de l'*Hyoscyamus albus* L. récoltée à Khenchela.

Pour atteindre cet objectif, le mémoire est structuré en deux parties:

- **La première partie :** à caractère théorique sera consacrée pour les données bibliographiques, comportant trois chapitres, dont le premier regroupe des généralités sur la plante médicinale «*Hyoscyamus albus* L.», en passant par les métabolites secondaires dans le deuxième chapitre, et en fin, une présentation générale sur l'activité antioxydante (stress oxydatif, les radicaux libres et antioxydants) dans le troisième chapitre;
- **La deuxième partie :** à caractère pratique et regroupe deux chapitres; le premier chapitre comporte le matériel et les méthodes de travail utilisés, et le deuxième chapitre comporte l'ensemble des résultats qui seront suivis avec une discussion.

Enfin, le mémoire est clôturé par une conclusion générale résumant le travail et leurs perspectives envisagées.

# ***PARTIE THEORIQUE***

# **CHAPITRE I.**

**Généralité sur la plante**

**« *Hyoscyamus albus L.* »**

## Chapitre I. Généralités sur la plante « *Hyoscyamus albus* L.»

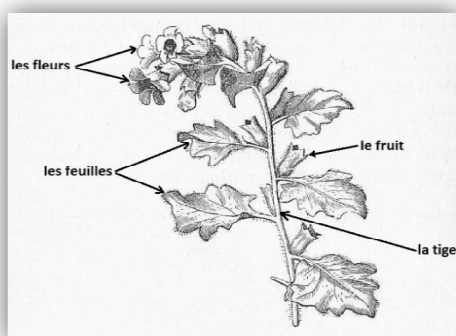
### 1. Généralités sur les Solanacées

Les Solanacées sont une famille de plantes dicotylédones appartenant à l'ordre des Solanales, la famille comprend près de 98 genres et 2700 espèces et occupe une grande diversité d'habitats (Olmstead et al., 1999). Les plantes de cette famille sont riches en alcaloïdes tropiques dotés d'une activité hallucinogène pour cela considérée comme étant toxique (Goullé et al., 2004). Ils ont certaines propriétés en commun : ce sont des herbes, des sous-arbrisseaux ou des arbustes à feuilles alternes, simples, a fleurs régulières. Les fruits sont des capsules (datura, jusquiame, tabac) ou des baies charnues (belladone, piments, solanum divers, withania) renfermant de très nombreuses graines (Jouzier, 2005; Hammiche et al., 2013; Saci et Touguit, 2015).

### 2. Caractéristiques botaniques de «*Hyoscyamus albus* L. »

Parmi les diverses espèces de solanacées on retrouve «*Hyoscyamus albus* L.», connue aussi sous le nom de jusquiame blanche.

- ✓ C'est une variété annuelle ou bisannuelle, pouvant atteindre 90 cm de hauteur avec un port dressé.
- ✓ Les feuilles de couleur vert clair, larges ovales, collantes de 5 à 10 cm de long.
- ✓ Au printemps la floraison donne des fleurs de 1 à 3 cm de long bilabées, irrégulièrement lobées, de couleur jaune pale (Goullé et al., 2004).
- ✓ Le fruit est une capsule fermée par un opercule, qui renferme des centaines de graines à surface réticulée (Hammiche et al., 2013) (Figure 1).



**Figure 1.** Différentes parties de la jusquiame blanche (Abdou Bouba et al., 2010; Akhanovna et al., 2012).

### 3. Répartition géographique de la plante

La jusquiame blanche pousse dans le midi de la France, on la trouve fréquemment dans la Lorraine, le Languedoc et la Provence mais aussi au subcontinent indien (Alphonse, 1864 ; Benhouda et Yahia, 2014). Elle pousse sur les talus, les falaises, les friches et les plages de galets en Europe, en Afrique du nord et en Asie (Guignard, 1998), comme on peut la rencontrer en Libye. Elle se retrouve aussi en Algérie; Bejaia, Annaba (Alghazeer et al., 2012), Batna (Benhouda et al., 2014).

### 4. Etymologie

*Hyoscyamus* (*Hyoscyamus albus* L.) vient du latin "*hyoscyamos*" ou "*hyoscyamum*", venant du grec "*hyskyamos*" (du grec "hys": porc et "kyamos": fève) qui signifie littéralement "fève de porc". L'adjectif "albus" est là pour souligner la couleur blanche.

➤ **Nom commun** : *jusquiame blanche*

➤ **Noms vernaculaires**

- Arabe : البنج الابيض, السكران .
- Barber: تاسكر , قنقيط , ابليلو , طاييلوت .
- En Algérie : سيكران , بور نجوف , هبالة, البنج .
- En Marocain et en Egypt : السكران , el sikran .
- En anglais : white Henbane (Michel, 2001;Palazón, 2008).

### 5. Taxonomie

La place de « *Hyoscyamus albus* » dans la systématique est présentée dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Classification de *Hyoscyamus albus* (Michel, 2001; Palazón, 2008).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta (angiospermes)
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Solanales
<b>Famille</b>	Solanaceae
<b>Genre</b>	<i>Hyoscyamus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Hyoscyamus albus</i> L.

## 6. Composition chimique

L'analyse phytochimique révèle la présence d'alcaloïdes tropaniques, stéroïdes, terpenoïdes, et une grande quantité de composés phénoliques (dans les extraits méthanoliques) tels que les flavonoïdes, tanins condensés et saponines (Mahmood et *al.*, 2001 ; Benhouda et Yahia, 2014).

La plante est très riche en matières minérales (15 à 20 %) (Bruneton, 2009). Elle renferme aussi d'autres métabolites secondaires ; la choline, du mucilage et les bases volatiles : la tétraméthylputrescine qui est responsable de l'odeur nauséabonde de la jusquiame (Pudersell, 2006 ; Bruneton, 2009).

## 7. Usages thérapeutiques

La composition phytochimique très variée de la jusquiame lui confère plusieurs effets thérapeutiques.

- ❖ La jusquiame est utilisée en médecine traditionnelle comme parasympholytique et sédatif du système nerveux (Benhouda et Yahia, 2014).
- ❖ Les flavonoïdes ont un rôle comme analgésique en ciblant les prostaglandines et aussi exercent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et hépato-protectrices (Tapas et *al.*, 2008; Ferdous et *al.*, 2008).
- ❖ Les tanins de la jusquiame jouent un rôle dans l'activité anti-nociceptive (Vanu et *al.*, 2006).
- ❖ Dans l'ophtalmologie l'hyoscyamine et la scopolamine sont utilisées en médecine, dans le traitement des spasmes gastro-intestinaux, dans le traitement d'empoisonnement par les organophosphorés et comme anesthésique (Romeike, 1956), elles sont aussi utilisées grâce à leurs propriétés mydriatiques et anti cholinergiques (Strauss, 1989).

## 8. Effet toxique de la plante

Chez l'homme, les alcaloïdes conduisent en cas d'intoxication à un syndrome anticholinergique. Les principaux signes cliniques sont: mydriase, sécheresse cutanée et muqueuse, vasodilatation, tachycardie, agitation, hallucinations, convulsions, coma et dépression respiratoire (Goullé et *al.*, 2004).

Les doses toxiques d'atropine produisent une stimulation centrale avec agitation, irritabilité, désorientation, hallucinations. Il dilate les vaisseaux cutanés, en particulier ceux du visage donnant un aspect rouge caractéristique.

La scopolamine est fortement hallucinogène (Schultes et Hofmann, 1993), c'est un dépresseur du SNC (Brown et Taylor, 2006).

L'*Hyoscyamine* est une molécule qui peut agir comme un antagoniste des récepteurs muscariniques, qui s'opposent par un blocage compétitif et réversible des récepteurs périphériques et centraux à l'action de l'acétylcholine, par contre ont une faible activité antagoniste sur les effets de l'acétylcholine sur les récepteurs nicotiques (Goullé et *al.*, 2004).

Le traitement d'une intoxication à la jusquiame est symptomatique : hydratation, sédation, prévention ou traitement des convulsions, mesures de réanimation dans les cas les plus graves (Brown et Taylor, 1990).

## **CHAPITRE II.**

### **Métabolites secondaires**

## Chapitre II. Métabolites secondaires

### 1. Généralités

Dans le règne végétal, la diversité des métabolites secondaires est estimée entre 200000 et un million (Fiehn, 2002; Dixon et Strack, 2003; Bino et *al.*, 2004). Cette diversité est probablement le résultat de mécanismes d'adaptation génétique des plantes à leur environnement, y compris aux réponses aux stress abiotiques et biotiques. Ils sont spécifiques d'une famille, voire d'une seule espèce végétale (Bednarek et Schulze-Lefert, 2009).

Ces métabolites secondaires ne se rencontrent pas chez toutes les espèces, ce qui montre qu'ils n'entre pas dans le métabolisme générale (primaire), qui exerce des fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...), mais peuvent jouer différents rôles pour la survie de la plante elle-même, rôle de défense, rôle de résistance (Merghem, 2009).

### 2. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées par diverses voies par les végétaux à partir de métabolites primaires (acides aminés, hydrates de carbone) (Makhloufi, 2013).

Les composés de métabolisme secondaire ne se trouvent pas dans toutes les plantes, sont produits en très faible quantité, dont plus de 200000 molécules ont été identifiées, et ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant des réactions chimiques ultérieures (Aissous et Bechara, 2016). Elles sont classées selon leur appartenance chimique en: composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes (Cuendet, 1999; Vermerris, 2006).

### 3. Classification des métabolites secondaires

#### 3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques où les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal étant trouvés dans tous les fruits et les légumes. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes, avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées

(Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011), allant des simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Mumper, 2010).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (Bruneton, 1999).

### 3.1.1. Structure des composés phénoliques


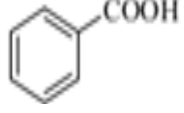
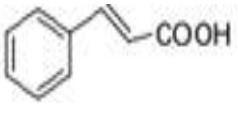
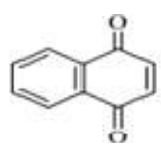
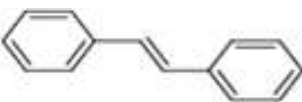
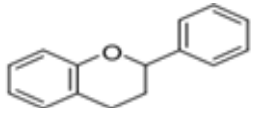
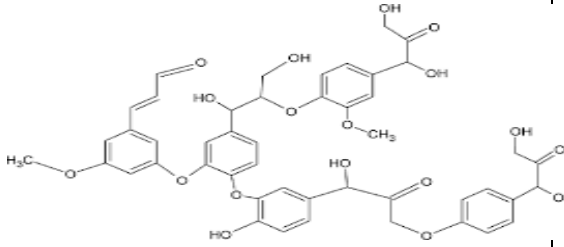
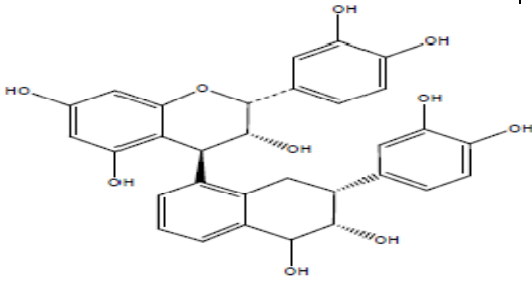
La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (Cheynier et *al.*, 1997).

La structure chimique des composés phénoliques est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Elle sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relie (Boros et *al.*, 2010).

### 3.1.2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols naturels peuvent donc être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins (Bravo, 1998). Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal (Tableau 2).

Tableau 2. Principales classes des composés phénoliques (Bravo, 1998).

Squelette carboné	Classe	Structure de base
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydroxy benzoïques	
C6-C3	Acides hydroxy cinnamiques Coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbénes	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
(C6-C3)n	Lignines	
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés	

### 3.1.2.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2008). Les deux groupes essentiels des acides phénoliques dérivent respectivement de l'acide benzoïque C6-C1 (les acides hydroxy-benzoïques) et de l'acide cinnamique C6-C3 (les acides hydroxy-cinnamiques) (Budic-Leto et Lovric, 2002 ; Wichtel et Anton, 2009).

#### ➤ Acides hydroxy benzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (Nkhili, 2009).

#### ➤ Acides hydroxy cinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base est C6-C3, Ils sont dérivés de l'acide cinnamique, ils peuvent exister sous forme estérifiée par l'acide quinique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Nkhili, 2009).

### 3.1.2.2. Flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme Latin *flavus*; (*flavus*=jaune) (Malešev et Kuntić, 2007). Ils constituent des pigments jaunes, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux : on les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituant des plastes particuliers, les chromoplastes. Ce constituant un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires (Guignard, 2000).

Les flavonoïdes possèdent la même squelette de base à quinze atomes de carbones, car ils possèdent une origine biosynthétique commune, constitué de deux unités aromatiques : deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Marfak, 2003), cette structure est nommée 2- phényl-benzopyrone (Bourzeix et *al.*, 1986; Perret, 2001).

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs catégories différentes, dont les plus importantes sont : les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes (Bruneton, 2009) (tableau 3). Ces molécules se rencontrent à la fois sous forme libre, mais sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides

constitués d'une partie phénolique aglycone ou gémine associée à un sucre. Ils sont localisés dans divers organe : fleurs, fruits, feuilles, tiges et racine (Iwashina, 2000). Une caractéristique des flavonoïdes est la couleur des fruits, des fleurs et des feuilles (El Gharras, 2009).

**Tableau 3.** Principales classes des flavonoïdes (Aruoma et *al.*, 2003).

Classe	Structure chimique
Flavones	
Flavanones	
Flavonols	
Isoflavones	
Flavanols	
Anthocyanidines	

**➤ Flavonols**

Les composants flavonique les plus abondants des aliments sont les flavonols. Le composé le plus représentatif de cette famille c'est la quercétine. Ces dernières, de par sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres, possèdent un très fort pouvoir antioxydant (Liu et *al.*, 2012).

**➤ Flavanones**

Les flavonoïdes se caractérisent par l'absence de double liaison entre C2 et C3 par la présence de centres asymétriques. Ils se dérivent des précédents en tournant au centre du squelette, et donc d'un cycle hétérogène (Bruneton, 1999).

**➤ Flavones**

La structure de flavones sont très proches des flavonols, la différence provenant de l'absence de l'hydroxyle en C3. Il existe aussi plusieurs alternatives aux flavones, telles que l'hydroxylation, la méthylation, les O- et C- alkylation et glycosylations. Les flavones sont principalement sous forme des glucosides (Bohm et *al.*, 1998).

**➤ Isoflavones**

Les isoflavones sont également dérivées des flavanones, mais en plus de l'oxydation centrale, il y a un commutateur pour le cycle latéral de C2 à C4 pour le cycle hétérogène (Heller et *al.*, 1998; Bruneton, 1999).

**➤ Flavanols**

Les flavanols se trouvent sous forme de monomères: l'unité la plus simple est la catéchine, ou un polymère appelé pro anthocyanidines. La catéchine se trouve dans de nombreux fruits, tels que les pommes, le chocolat et le thé, qui sont les principales sources de cette coopération (Castaneda-Ovando et *al.*, 2009).

**➤ Anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments naturels qui donnent les couleurs à de nombreuses plantes. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fruits (pomme, baies, raisin) et fleurs (tulipe, rose, orchidée) (Castaneda-Ovando et *al.*, 2009).

Le terme « anthocyanes » a une valeur générale désignant, soit les molécules non glycosylées, soit les formes naturelles glycosylées (Macheix, 2005). Dans les anthocyanes, il a une position qui est toujours glycosylée et est 3, en plus de la position préférentielle 5 il est également glycosylée. La partie phénolique seule est désigné sous le

nom d'anthocyanidine, alors que l'hétéroside (molécule phénolique + sucre associé) est appelé anthocyanine (Bruneton, 1999; Macheix, 2005).

### 3.1.2.3. Tanins

Le terme de tannins qualifie toute substance d'origine minérale ou végétale ayant la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible, le cuir (Bruneton, 1999). Cette propriété est liée à la création de liaisons entre les fibres de collagène de la peau et les molécules de tannins (Hagerman, 2002).

Ce sont des molécules hautement hydroxylées, lorsqu'elles sont combinées avec des protéines, des glucides et des enzymes digestives qui peuvent former des complexes insolubles.

On distingue : les tanins hydrolysables et condensés (Alkurd et *al.*, 2008).

- **Tanins hydrolysables** : sont des poly- esters ou oligo- esters d'un sucre, généralement le glucose, et de molécules d'acide-phénol (Mueller-Harvey et Mc- Allan, 1992 ; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999 ; Mueller-Harvey, 2006). Ils sont subdivisés selon la nature de l'acide-phénol, en tannins galliques qui ont un acide gallique, ou en tannins éllagiques présentant un acide hexahydroxyphénique (Hagerman, 2002).
- **Tanins condensés** : appelés procyanidines ou proanthocyanidines, se sont des composés proches de leurs structures des flavonoïdes, et ils sont également sans sucre dans leurs molécules (Bruneton, 1999). Ce sont des polymères de flavane constitués d'unités de flavane-3ols liés ensemble par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 2009). Ils jouent un rôle dans la protection contre les prédateurs naturels (insectes et herbivores) et contre les rayons ultras violet, la sécheresse et (Aufrere et *al.*, 2012).

### 3.1.2.4. Coumarines

Le nom Coumarin vient de "coumarou", le nom générique de "fèves tonka" qui est le fruit de l'arbre de Guyane (*Dipteryx odorata Willd*, syn. *Coumarouna odorata Aubl.*, *Fabaceae*) (Hostettmann, 1992).

Les coumarines ont un squelette en C6-C3, mais ils possèdent un atome d'oxygène hétérocycle dans le cadre de l'unité C3 (Vermerris et Nicholson, 2006).

Les coumarines libres sont solubles dans les solvants organiques et les alcools tels que les solvants chlorés ou l'éther dans lesquels ils sont extractibles. Les plus ou moins solubles dans l'eau sont les formes hétérosidiques (Belguidoum, 2012).

### 3.1.2.5. Lignines

Les principales fonctions de la lignine sont d'apporter de la rigidité, une imperméabilité à l'eau et une grande résistance à la décomposition, car ce sont les principaux constituants du bois avec la cellulose et l'hexylcellulose décomposition (Martone et *al.*, 2009).

Bien que la lignine soit une grande biomasse produite par les plantes chaque année, et deuxième après la cellulose, elle est liée aux composés phénoliques en raison de sa composition chimique et des voies de biosynthèse directement liées au phénylpropanoïde (Edeas et *al.*, 2007).

## 3.2. Alcaloïdes

### 3.2.1. Définition

Le terme alcaloïde a été introduit au début du XIX<sup>ème</sup> siècle par Meisner (Eplotis et *al.*, 1973).

Les alcaloïdes sont principalement des matières organiques d'origine végétale, azotées, basiques et dotées de faibles doses de propriétés physiologiques distinctes (Belabbassi, 2012), qui ont des activités pharmacologiques importantes. Ils ont joué un rôle important dans le développement de l'industrie pharmaceutique et dans la découverte de drogues (morphine, quinine, cocaïne, atropine ...) (Omulokoli et *al.*, 1997; Bruneton, 2009).

### 3.2.2. Classification

Il existe trois catégories principales d'alcaloïdes selon qu'ils ont ou non un acide aminé comme source directe et qu'ils contiennent ou non un atome d'azote dans un cycle hétérozygote (Aniszewskim, 2007; Bruneton, 2008 ; Ghedjati, 2014):

➤ **Alcaloïdes vrais**

Il est directement dérivé des acides aminés et possède au moins un cycle hétérogène du caractère primaire, dont l'azote est inclus dans le cycle hétérogène. Exemples: atropine, hyoscyamine et scopolamine.

➤ **Pseudo-alcaloïdes**

Ils représentent souvent toutes les propriétés des vrais alcalis, mais ce ne sont pas des dérivés d'acides aminés. Exemples: caféine, gentianine, tomatidine.

➤ **Proto-alcaloïdes**

Ce sont des amines simples et n'ont pas d'azote à l'intérieur du cycle, ont une réaction basique et sont produites in vivo par des acides aminés. Exemples: stachydrine, hordenine.

### 3.2.3. Alcaloïdes tropaniques

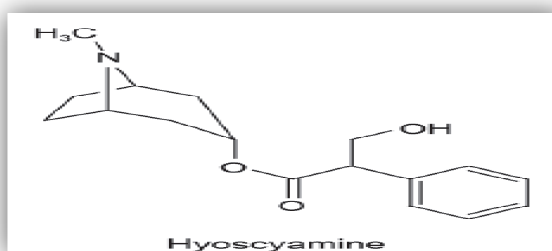
Les alcaloïdes tropaniques ce sont des acides de structure variables, aromatiques ou aliphatiques, et des esters d'alcools tropaniques (Bruneton, 2009).

Toutes les parties de la plante sont potentiellement dangereuses car elles contiennent des alcaloïdes tropaniques. Il faut cependant remarquer que la teneur en alcaloïdes de la plante reste faible, les racines en contiennent 0,15 à 0,18%, les graines : 0,10%, les feuilles : environ 0,10%, et les tiges: 0,02% (Pudersell, 2006).

Les principaux alcaloïdes de cette plante sont constitués de la scopolamine jusqu'à 30 % seulement, tandis que L-hyoscyamine et d'atropine ; représentent ces deux molécules 67% du total des alcaloïdes végétaux sèches (Goullé et *al.*, 2004).

➤ **Hyoscyamine**

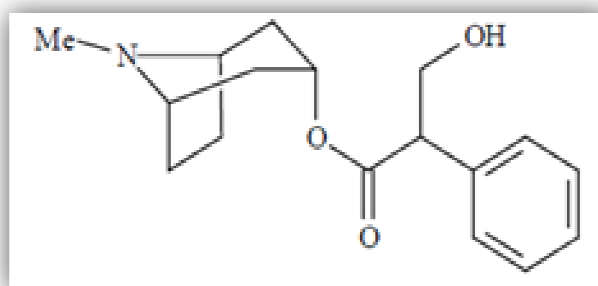
Il généralement isolé en 1833 dans la plante *Hyoscyamus niger* (jusquiame noire), et est considérée comme l'alcaloïde tropanique le plus répondu. C'est l'acide L-tropique et l'ester de tropanol (Figure 2) (Gryniewicz et Gadzikowska, 2008). Elle est l'isomère lévogyre de l'atropine racémique. Mais deux fois plus active que l'atropine (Grevoz et Laubriet, 2007).



**Figure 2.** Structure chimique de l'hyoscyamine (Gaire et Subedi, 2013).

### ➤ Atropine

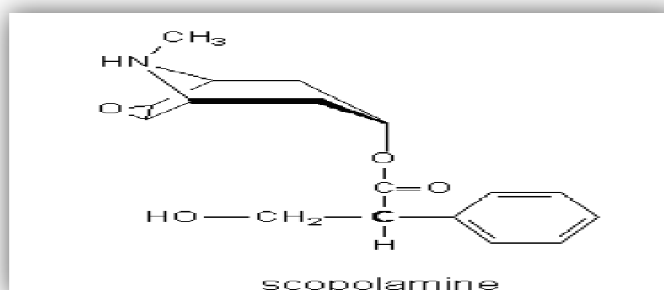
L'atropine c'est un mélange acémique de D et L- hyoscyamine, qui est un est de l'acide tropique et l'ester du tropanol (Figure 3) (Vakili et *al.*, 2012). Elle est produite par l'époxidation de l'hyoscyamine catalysée sous l'action de l'enzyme hyoscyamine 6 B-hydroxylase(H6H) (Palazón et *al.*, 2008).



**Figure 3.** Structure chimique de l'atropine (Muniz, 2006).

### ➤ scopolamine

Elle a été isolée pour la première fois de *Scopola carniolica* en 1881 et identifiée par la suite dans *Hyoscyamus niger* (Alexander et *al.*, 2008). C'est des esters de l'acide tropique avec des bases de tropanes et scopolines (Figure 4) (Robinson, 1981).

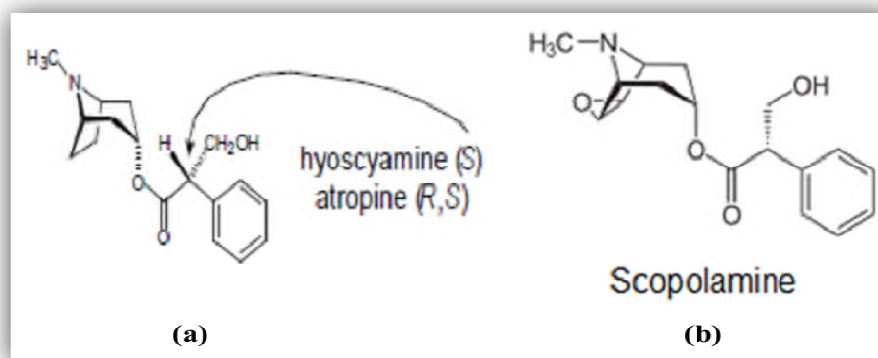


**Figure 4.** Structure chimique de la scopolamine (Alexander et *al.*, 2008).

### 3.2.4. Alcaloïdes retrouvés dans « *Hyoscyamus albus* L.»

Une grande variété d'alcaloïdes tropaniques existe dans toutes les parties de cette plante qu'il démontré par des recherches récentes. On peut citer :

- ✓ Les trois alcaloïdes retrouvés dans cette solanacée sont l'Atropine, Scopolamine et Hyoscyamine (Kone, 2009) (figure 5).



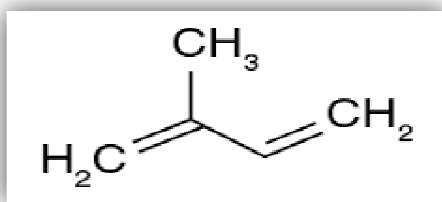
**Figure 5.** Structures chimiques des principaux alcaloïdes tropaniques: atropine et hyoscyamine (a), scopolamine (b) de la jusquiame blanche (Mateus et *al.*, 2000).

- ✓ Une autre classe d'alcaloïdes tropaniques; les calystegines sont extraits pour la première fois de la plante *Calystegia sepium*, puis par la suite à partir des *solanaceae*. Ils sont aussi dotés de plusieurs activités thérapeutiques (Stegelmeier et *al.*, 2008).

### 3.3. Terpénoïdes

Appelés aussi terpènes, ils constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, ce sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Merzougui et Tadj, 2015).

L'isoprène en cinq carbones c'est l'unité de base des terpènes (Figure 6). On trouve, selon le nombre de cette unité, les monoterpènes C<sub>10</sub> (2 unités), les sesquiterpènes C<sub>15</sub> (3unités), les diterpènes C<sub>20</sub> (4 unités), les sesterpènes C<sub>25</sub> (5 unités), les triterpènes et stéroïdes C<sub>30</sub> (6 unités), les tetraterpènes C<sub>40</sub> (8unités) et les polyterpènes (C<sub>10</sub>) n avec n>8 (Richter, 1993).



**Figure 6.** Structure chimique de l'isoprène (Morot-Gaudry, 2016).

Les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (Christianson, 2008).

## **CHAPITRE III.**

### **Stress oxydatif, Radicaux libres et antioxydants**

## Chapitre III. Stress oxydatif, Radicaux libres et antioxydants

### 1. Stress oxydant

Les espèces réactives oxygénées (ERO) et les espèces réactives azotées (ERN) jouent un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants (Valko et *al.*, 2004) :

- ✓ Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire,
- ✓ Nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense antioxydants, Ce phénomène est associé à une libération massive de radicaux libres (Favier, 2003) avec comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (ADN, protéines, lipides) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer, artériosclérose, arthrite, maladies neuro-dégénératives): c'est le stress oxydatif (Evans et Halliwell, 1999; Arous, 2014)

Ce stress peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et habitudes de vie inadéquates (tabagisme, Consommation excessive d'alcool,...etc.) (Pincemail et Defraigne, 1999).

### 2. Radicaux libres

#### 2.1. Définition

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. En effet, ce RL aura toujours tendance à remplir son orbitale pour devenir plus stable : soit par l'obtenant un électron (espèce oxydante), ou par la perte d'un électron (espèce réductrice); de plus, il peut lui-même s'auto-oxyder par une réaction appelée dismutation (Pierrefiche et Laborit, 1995; Goudable et Favier, 1997).

#### 2.2. Principaux radicaux libres rencontrés en biologie

En biologie, les principaux radicaux libres rencontrés sont les espèces réactives oxygénées (ERO) et les espèces réactives azotées (ERN).

### 2.2.1. Espèces réactives de l'oxygène

La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Leurs constantes de vitesse réactionnelle sont très élevées. On distingue alors deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires (Delattre et *al.*, 2005).

#### ➤ Espèces oxygénées réactives radicalaires

- ❖ **Anion radical superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>)** est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène. Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome (Fe<sup>3+</sup>), l'ascorbate et surtout le superoxyde dismutase.
- ❖ **Radical perhydroxyle (HO<sub>2</sub>•)** plus réactif que le précédent, est obtenu après protonation de ce dernier à pH inférieur à 4,8 (pKa (HO<sub>2</sub>•/ O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) = 4,8)
- ❖ **Radical hydroxyle (HO•)** issu de la réduction mono-électronique du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et à l'anion basique non radicalaire OH<sup>-</sup> en présence d'un catalyseur (réaction de Fenton: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> → HO• + Fe<sup>3+</sup> + OH<sup>-</sup>). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique
- ❖ **Radical peroxyde (RO<sub>2</sub>•)** est un radical secondaire issu de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le radical R•. Sa réactivité se situe entre l'anion radical superoxyde et le radical hydroxyle.
- ❖ **Radical secondaire alkoxyde (RO•)** est produit suite à la décomposition de l'hydroperoxyde RO<sub>2</sub>H, issu de l'oxydation de substrat RH, par des cations métalliques (Hennebelle, 2006).

#### ➤ Espèces oxygénées non radicalaires

L'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), qui est la forme diamagnétique de l'oxygène, est produit en présence de rayonnement UV. Bien qu'il ne soit pas un radical, il joue un rôle dans le vieillissement cutané et certaines maladies liées à l'âge (Choe et Min, 2005; Hennebelle, 2006).

### 2.2.2. Espèces réactives azotées

Les espèces réactives azotées (ERN) sont produites abondamment au cours des processus inflammatoires (Rao et *al.*, 2011).

#### ➤ Monoxyde d'azote (NO•)

Le monoxyde d'azote (NO•) est un RL qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques. Or, le NO• interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxyde d'azote, composé extrêmement réactif et toxique. Le NO• et le peroxyde d'azote interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés (Barouki, 2006).

#### ➤ Peroxyde d'azote (ONOO<sup>-</sup>)

Une proportion de peroxyde d'azote peut exister sous la forme acide (HOONO), mais existe physiologiquement à l'état d'anion (ONOO<sup>-</sup>). Le ONOO<sup>-</sup> est une espèce oxydante importante, car sa réactivité est assez proche de celle du radical hydroxyle (OH•), le plus réactif des ERO, donc très toxique. Il n'existe aucun système enzymatique spécifique capable de le dégrader (Vamecq et *al.*, 2004).

## 2.3. Principales sources des ERO et des ERN

### 2.3.1. Sources endogènes

La plus part des RL sont produits par divers mécanismes physiologiques, parmi les processus endogènes qui peuvent conduire à leurs formation, on peut citer :

#### ➤ Chaîne respiratoire

La respiration mitochondriale conduit essentiellement à la réduction de l'oxygène en eau par transfert de quatre électrons par le cytochrome oxydase du complexe IV. Seulement 2 à 3 % de l'oxygène consommé par la mitochondrie sont convertis en anion superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) au niveau de plusieurs sites potentiels (Bonfont et *al.*, 2002).

#### ➤ Phagocytose

L'inflammation est par ailleurs, une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées lors de la réaction inflammatoire, sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative, consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène

moléculaire pour produire de grandes quantités d'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire (Favier, 2003).

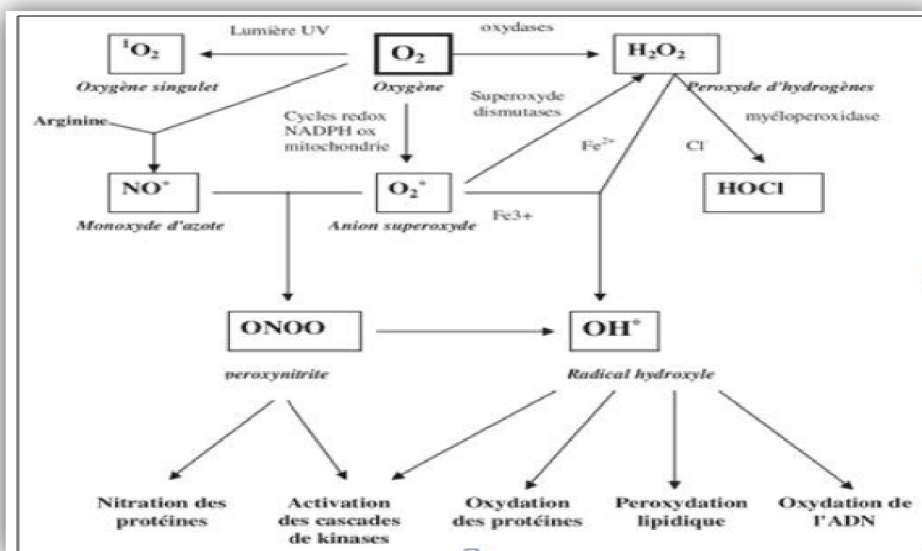
### ➤ Enzymes

Un autre système enzymatique capable de générer ( $O^{2\bullet-}$ ) par transfert d'un électron sur l'oxygène est la xanthine oxydase. L'ischémie et l'hypoxie favorisent la conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase et l'accumulation de son substrat, l'hypoxanthine. Cette enzyme apparait donc comme une source potentielle importante d'ERO (Bonnefont et *al.*, 2002).

### 2.3.2. Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression par différents agents extérieurs capables de donner naissance à des ERO et des ERN.

Ces agressions peuvent être : des radiations (rayon X et lumière UV), polluants de l'air (N, NO<sub>2</sub>), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, exercice physique intense, carences nutritionnelles (Tessier et Marconnet, 1995; Rao et *al.*, 2011) (Figure 7).



**Figure 7.** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

### 3. Activité antioxydante

Les plantes à polyphénols sont reconnues pour leur activité antioxydante (Allane et Benamara, 2010). Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat par chélation de radicaux libres qui sont à l'origine de diverses maladies (Berger et Que, 2009).

Les défenses antioxydants de l'organisme humain peuvent être exogènes ou endogènes, ils réagissent en synergie afin de protéger les cellules vis-à-vis aux radicaux libres.

#### 3.1. Antioxydants endogènes

La production physiologique des espèces réactives de l'oxygène est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques.

##### 3.1.1. Antioxydant enzymatique

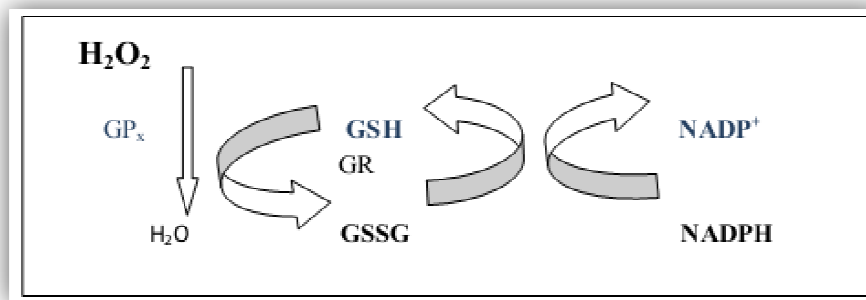
L'organisme synthétisant des enzymes (endogènes) pour défend contre les radicaux qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydante sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (Vincent et *al.*, 2004).

###### ➤ Superoxyde dismutase (SOD)

Ce sont des métallo-enzymes à manganèse ou à cuivre et zinc présentes dans la mitochondrie. L'enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (Baudin, 2006).

###### ➤ Glutathion peroxydase (GPx)

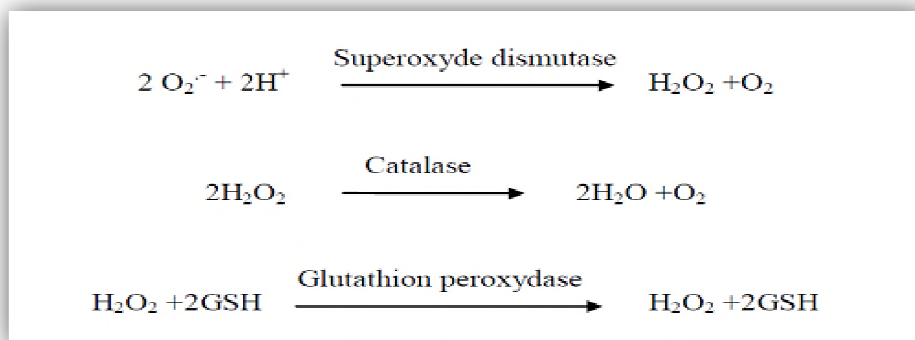
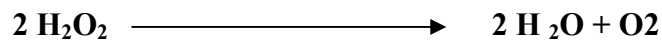
Le mécanisme l'élimination du  $H_2O_2$  se fait par la GPx. La GPx est l'enzyme clef du système antioxydant et nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le glutathion dissulfite (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron (Agarwal et Prabakaran, 2005) (Figure 8).



**Figure 8.** Elimination du  $\text{H}_2\text{O}_2$  par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR (Servais, 2004).

### ➤ Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme intracellulaire qui catalyse la réaction de détoxification du  $\text{H}_2\text{O}_2$  (généralement produit par les SOD) (Newsholme et *al.*, 2007) (Figure 9). La réaction de détoxification se déroule comme suit :



**Figure 9.** Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell, 2006).

### 3.1.2. Antioxydant non enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, les molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydante (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (exogène) (Gardès- Albert et *al.*, 2003).

### ➤ Vitamine E

La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (Bationo et *al.*, 2015).

### ➤ Vitamine C

La vitamine C ou ascorbate agit principalement en piégeant directement les ERO (majoritairement  $\text{l'O}_2^{\cdot-}$  et  $\text{l'OH}^{\cdot}$ ) ou bien en régénérant l' $\alpha$ -tocophérol (Bationo et *al.*, 2015).

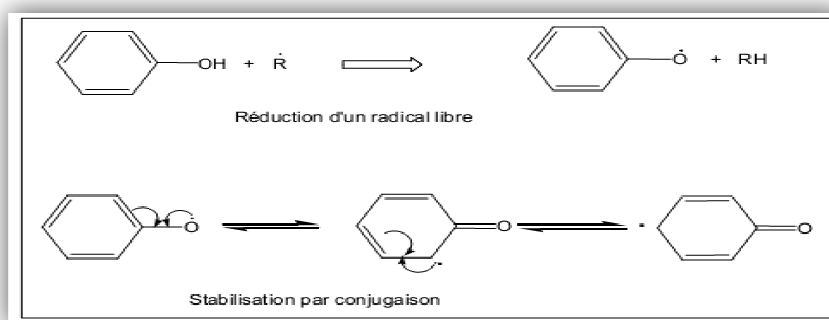
### ➤ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des micronutriments qui participent aux défenses de l'organisme contre les espèces oxygénées. Ce sont des piègeurs de l'oxygène singulet ( $\text{O}^{\cdot-}$ ) (Colin, 2008).

### ➤ Composés phénoliques

L'efficacité antioxydante des polyphénols est due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre (Duthie et *al.*, 2003).

Les antioxydants sont interdépendants. En donnant un électron, ils deviennent eux-mêmes des radicaux libres qui doivent se rééquilibrer, autrement dit être réduits (Figure 10).



**Figure 10.** Propriété réductrice des polyphénols (Rolland, 2004 ; Rowland et *al.*, 2017).

### 3.2. Antioxydants exogènes

L'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants, non indispensables à la vie. L'organisme peut tirer profit de nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans son alimentation (les vitamines E et C), les caroténoïdes, les alcaloïdes ainsi que des traces des métaux (sélénium, manganèse, et zinc). Ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant. Contrairement aux antioxydants enzymatiques, ces substances ne permettent l'élimination que d'un seul radical libre à la fois. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, ces antioxydants doivent être donc régénérés par d'autres systèmes (Kalam et *al.*, 2012).

### 4. Pathologies dues au stress oxydant

Le stress oxydant est l'un des facteurs potentialisant de l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, le syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire et le vieillissement accéléré (Montagnier et *al.*, 1998). Les plus fréquentes sont citées dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Maladies causées par le stress oxydatif.

Maladies	Explication	Références
Maladies Neuro-dégénératives	Le rôle du stress oxydant dans les mécanismes de mort cellulaire au cours des maladies neuro-dégénératives est évoqué depuis plusieurs années. Parmi ces affections, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale myotrophique et la maladie de Parkinson sont les plus fréquentes.	(Christen, 2000)
Cancer	Il a été démontré que ni $O_2^{\cdot-}$ , ni $H_2O_2$ ne pouvaient réagir avec le désoxyribose ou les bases de l'ADN, ce qui suggère que le radical $OH^{\cdot}$ serait le principal responsable des dégradations observées.	(Sekli-belaidi, 2011)
Cataracte	Le stress oxydant a aussi été évoqué dans la survenue de la cataracte qui est la première	(Sekli-belaidi, 2011)

	cause de cécité.	
Allergie	Dans le cas de l'asthme et de rhinite allergique, les éosinophiles relèguent des médiateurs de l'inflammation notamment le radical $O_2^-$ . Ainsi, dans toutes les pathologies, les ERO interviennent sur le site de l'inflammation.	(Lupu et <i>al.</i> , 2010)  (Cooper et hall, 1993)
Athérosclérose	Il est actuellement admis que l'athérosclérose est liée à la peroxydation des LDL qui conduit à la genèse de la plaque athéromateuse.	(Nezamzadeh et <i>al.</i> , 2007)

# ***PARTIE PRATIQUE***

**CHAPITRE I.**

**MATERIELS**

**ET**

**METHODES**

## Chapitre I. Matériel et méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, des alcaloïdes et des flavonoïdes de la plante médicinale *Hyoscyamus albus* L. de la région de Khenchela.

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie à l'université Abbes Laghrour - Khenchela-.

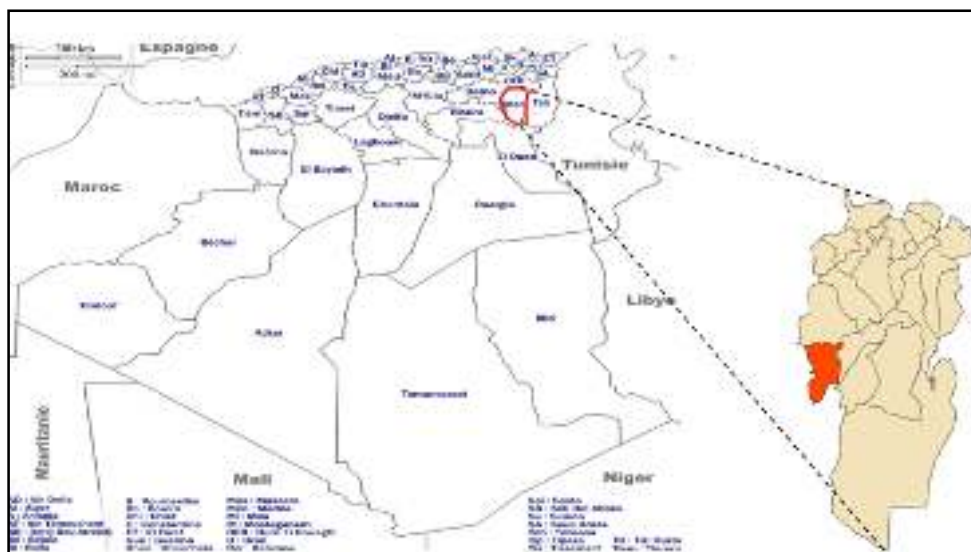
### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne de la plante médicinale *Hyoscyamus albus* (HA) (Figure 11) récoltée en période de floraison dans la région d'El Oualdja, la wilaya de Khenchela (Est de la capitale Algérienne) (Figure 12) en mois de Juin 2019 et identifiée par Dr. Zeraib Azzedine enseignant chercheur au département des sciences agronomiques à l'université Abbes Laghrour Khenchela, en se référant à la flore algérienne de Quezel et Santa, (1963).



**Figure 11.** Photographie de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* (Juin 2019).



**Figure 12.** Lieu de récolte de la plante *Hyoscyamus albus* à la wilaya de Khenchela  
(En orange : Elwaldja).

## 1.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits:  $H_2SO_4$ ,  $FeCl_3$ ,  $HCl$ ,  $NaOH$ ,  $NH_4OH$ ,  $KI$ ,  $I_2$ ,  $AlCl_3$ ,  $K_3FeCN_6$ , TCA, phosphate de sodium, phosphomolybdète d'ammonium, acétate de sodium, quercétine, éthanol, n-butanol, chloroforme; DPPH, acide ascorbique, proviennent tous de Sigma-Aldrich.

Parmi l'appareillage utilisé: Spectrophotomètre (spectrum SP-UV 2005), Chambre d'observation UV « 264/365 nm » (VILBER LOURMAT), Bain Marie (nive bath, MEMMERT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOLOGEX), Vortex (VELP), Balance analytique (OHAUS), Balance (KERN PCB), Réfrigérateurs (Liebherr), Plaque chauffante (LabTech), pH mètre (Hanna instruments), rotavapeur ,broyeur.

## 2. Méthodes

Les différentes étapes réalisées dans cette étude sont : étude qualitative par un screening phytochimique, étude quantitative par le dosage des flavonoïdes, des flavonols et des alcaloïdes, ensuite l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de HA par trois tests (DPPH, pouvoir réducteur et phosphomolybdète).

### **2.1. Préparation de la poudre végétale**

La partie aérienne (tiges, fleurs et feuilles) de la plante récoltée en période de floraison le mois de Juin 2019 a été bien nettoyé et séchée à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil à température ambiante. Enfin, la plante sèche a été broyée pour obtenir une poudre fine. Puis passée au tamis afin d'avoir une poudre homogène qui a été stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### **2.2. Préparation de l'extrait brut hydroéthanolique**

Une quantité de 10 g de plante sèche et finement broyée est macérée dans 100 ml éthanol-eau dans une proportion de 70% d'éthanol, pendant 72 h avec renouvellement du solvant chaque 24 h. Une agitation manuelle de temps à temps a été effectuée. Le macérât hydro-éthanolique ainsi obtenu est filtré sur un papier filtre, puis évaporé à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C. Le résidu sec est pesé puis repris dans l'éthanol (Franke et *al.*, 2004).

Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma ci-dessous (Figure 13).

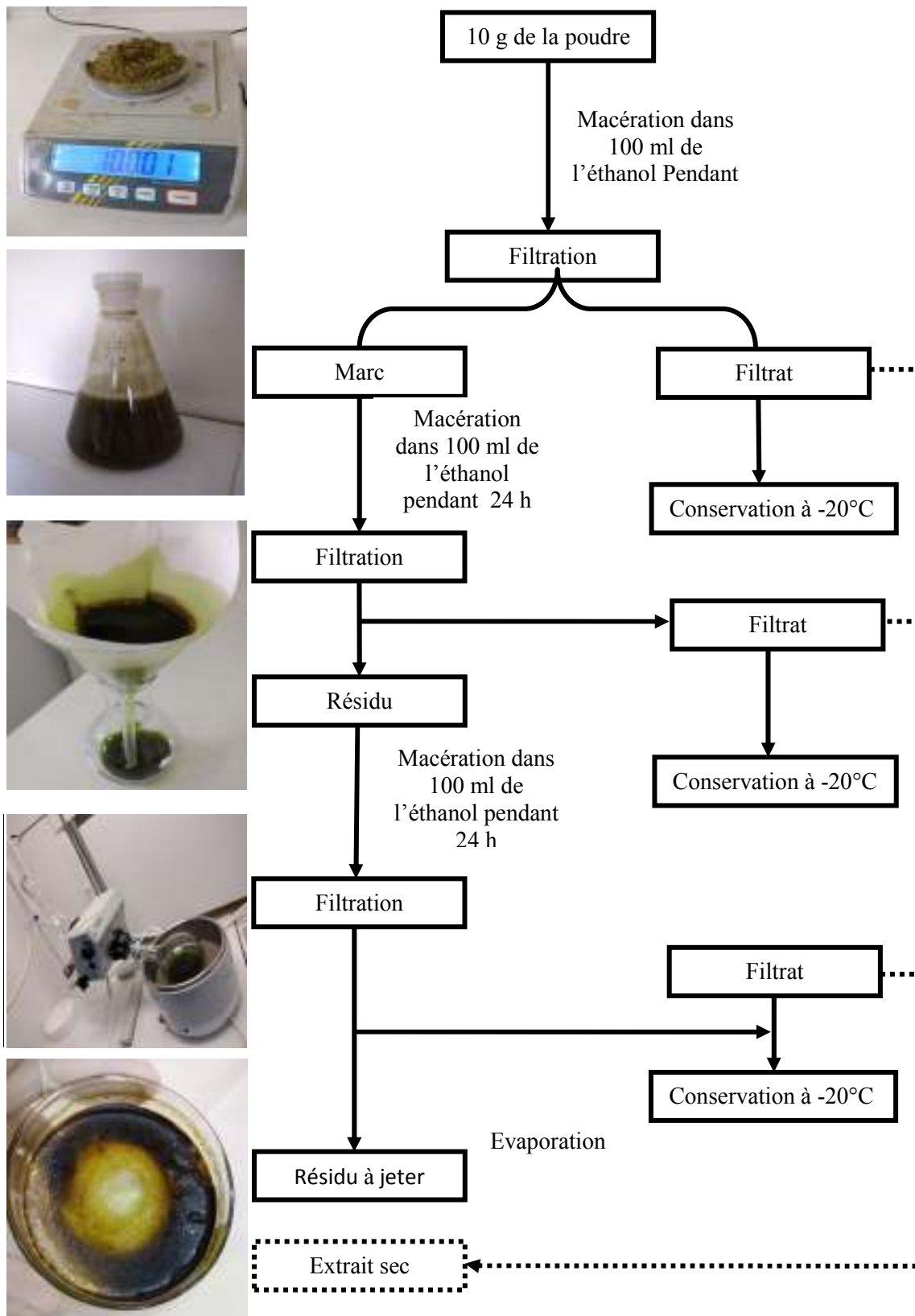


Figure 13. Préparation de l'extrait brut de l'*Hyoscyamus albus* L. (Franke et al., 2004).

### Taux d'extraction

Le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante (Franke *et al.*, 2004) :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = (P_1 / P_0) \cdot 100$$

$P_0$  : poids de la poudre avant extraction.

$P_1$  : poids de l'extrait sec après extraction.

### 2.3. Etude qualitative

Il s'agit d'une étude qualitative visant la recherche de quelques groupes chimiques (flavonoïdes, alcaloïdes, terpanoïdes ...) en se basant sur des réactions de coloration qui est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié et due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule (Daoudi *et al.*, 2015).

#### ➤ Mise en évidence des flavonoïdes

Trois méthodes ont été utilisées pour rechercher les flavonoïdes :

**-Test 1 :** 5 ml d'ammoniac diluée a été ajoutée à un volume d'extrait éthanolique de la plante HA. L'acide sulfurique concentré  $H_2SO_4$  (1ml) a été ajouté. Une coloration jaune qui disparu avec le temps indique la présence des flavonoïdes (Mibei *et al.*, 2012).

**-Test 2 :** 5 ml d'extrait éthanolique ont été traités avec quelques gouttes d' $AlCl_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune qui est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ayoola *et al.*, 2008).

**-Test 3 :** un volume d'extrait éthanolique a été chauffé avec 10 ml d'acétate d'éthyle sur un bain marié pendant 3 min puis filtré. 4 ml de filtrat a été traité par 1 ml d'ammoniac dilué. Une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes (Ayoola *et al.*, 2008).

#### ➤ Mise en évidence des terpénoïdes

À 5 ml d'extrait éthanolique; 2 ml de chloroforme ont été ajouté, après 3 ml de l'acide sulfurique concentré ( $H_2SO_4$ ) soigneusement rajoutés. La coloration brune rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes (Ayoola *et al.*, 2008).

#### ➤ Mise en évidence des alcaloïdes

A une quantité de 0,5 g du matériel végétal sec broyé, on ajoute 15 ml d'éthanol (70%) et laissé en agitation magnétique pendant toute la nuit, décanté et filtré. L'extrait est évaporé sous vide dans le rota-vapeur. Le résidu récupéré dans 5 ml de HCl (50%) est ensuite transvasé dans deux tubes à essai; l'un est utilisé comme témoin et à l'autre

on ajoute le réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc traduit la présence des alcaloïdes (Bouزيد, 2009; Alilou et *al.*, 2014).

➤ **Mise en évidence des coumarines**

1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV (Alilou, 2014).

➤ **Mise en évidence des saponosides (test de moussage)**

Introduire 0,5 g de du matériel végétal sec (poudre) dans un tube à essai, mélanger avec 10 ml d'eau distillée agiter pendant quelque minutes puis laisser reposer. La formation d'une mousse persistante après 30 minutes confirme la présence des saponosides (Yusuf et *al.*, 2013).

➤ **Mise en évidence des Tanins**

1,5 g de matériel végétal sec (poudre) sont placés dans 10 ml de E(OH) 70 %. Après 15 minutes d'agitation, l'extraits est filtré et mis dans des tubes. L'ajout de FeCl<sub>3</sub> 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Dohou, 2003).

➤ **Mise en évidence des stéroïdes**

2 ml d'acétone 70% a été ajouté à 1 ml d'extrait, puis 6 gouttes d'acide acétique anhydre a été ajouté suivi par 2 gouttes d'acide sulfurique concentré H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le changement de couleur de violet vers marron ou marron foncé indique la présence des stéroïdes. (Hettiarachchi, 2006; Cheikhyoussef, 2010).

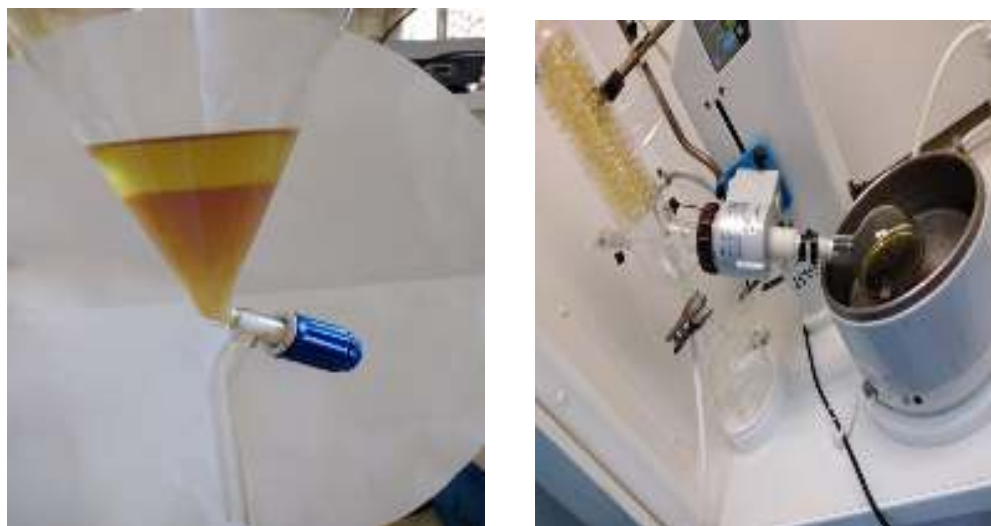
## **2.4. Extraction des métabolites secondaires**

### **2.4.1. Extraction des flavonoïdes totaux**

Les flavonoïdes totaux ont été extraites selon la méthode élaborée par Harborne et *al.*, (1975) légèrement modifiée.

Une quantité de 25 g de plante sèche et finement broyée est macérée dans 250 ml éthanol-eau dans une proportion de (70% - 30%) en volume, pendant 72 h avec renouvellement du solvant chaque 24 h. Les macérâts hydroéthanoliques ainsi obtenus sont filtrés sur papier filtre, puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C. Le résidu sec obtenu est macéré par la suite dans de l'eau bouillante pendant 12 h. Après la

filtration, la phase aqueuse est subie 3-4 l'affrottements successives par la n-butanol pour extraire le maximum de flavonoïdes. La phase butanolique totale est évaporée à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 55°C. Le résidu sec obtenu représente les flavonoïdes totaux (figure 14).



**Figure 14.** Préparation de l'extrait flavonoïdique.

#### 2.4.2. Extraction des alcaloïdes totaux

Les alcaloïdes totaux ont été extraits selon la méthode élaborée par Balbaa et *al.* (1981), légèrement modifiée.

Une quantité de 10 g de plante sèche et finement broyée est macérée dans 100 ml éthanol-eau avec une proportion de (70% - 30%) en volume, avec renouvellement du solvant chaque 24 h jusqu'à l'extraction de la totalité des alcaloïdes (vérifier par le réactif de Mayer) après 3 jours. Les macérâts hydroéthanoliques ainsi obtenus sont filtrés sur papier filtre, puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C. Le résidu sec obtenu est traité par la suite par 5 ml d'HCl 0,1 N avec une agitation à chaque fois. La solution obtenue est filtrée puis lavée 2 fois par 5 ml chloroforme et l'extrait chloroformique ainsi obtenu est lavé 2 fois par 5 ml d'HCl 0,1 N puis réuni avec la première solution chlorhydrique et la rendre basique par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) puis laisser 15 min pour libérer les alcaloïdes dans la solution. On extrait les alcaloïdes de la solution 3 fois par l'ajout de 10 ml chloroforme à chaque fois. Après évaporation à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur (45°), le résidu sec obtenu représente les alcaloïdes totaux.

## 2.5. Etude quantitative

### 2.5.1. Dosage des flavonoïdes

#### ➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs,  $\text{AlCl}_3$  peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Bouchouka, 2016).

Les flavonoïdes d'extrait éthanolique de l'*Hyoscyamus albus* L. (EEHA) ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996) ; 1 ml de l'EEHA (préparé dans l'éthanol pour avoir une concentration convenable) a été ajouté à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2 %, dans l'éthanol). Après 1h d'incubation, l'absorbance a été lue à 420 nm. La concentration des flavonoïdes dans l'EEHA a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'EEHA servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par grammes d'extrait (mg EQ / g E) (Annexe1).

### 2.5.2. Dosage des flavonols

Le contenu des flavonols a été déterminé par la méthode décrite par (Kumaran et al., 2007).

Une quantité de 0.25 ml d'extrait éthanolique a été mélangée à 0.25 ml d' $\text{AlCl}_3$  (2 mg/ml) et à 1.5ml d'acétate de sodium (50 mg/ ml). L'absorbance à 440 nm a été enregistrée après 2.5 h. La teneur en flavonols a été exprimée en milligramme (mg) équivalent de quercétine par gramme du poids d'extrait (mg EQ / g E). Les expériences ont été répétées trois fois (Annexe 2).

### 2.5.3. Dosage des alcaloïdes totaux

L'estimation des alcaloïdes d'extrait alcaloïdique par dosage par volume, mettre les alcaloïdes totaux dans un volume de HCl 0.2N et ajouter le NaOH 0.2N en présence de rouge de méthyle comme témoin jusqu'à le changement de la couleur (Bruneton, 1999) (figure 15).



**Figure 15.** Dosage des alcaloïdes totaux.

On calcule le pourcentage de chaque échantillon (l'échantillon considérée comme hyoscyamine) selon la loi des médicaments égyptien(1971):

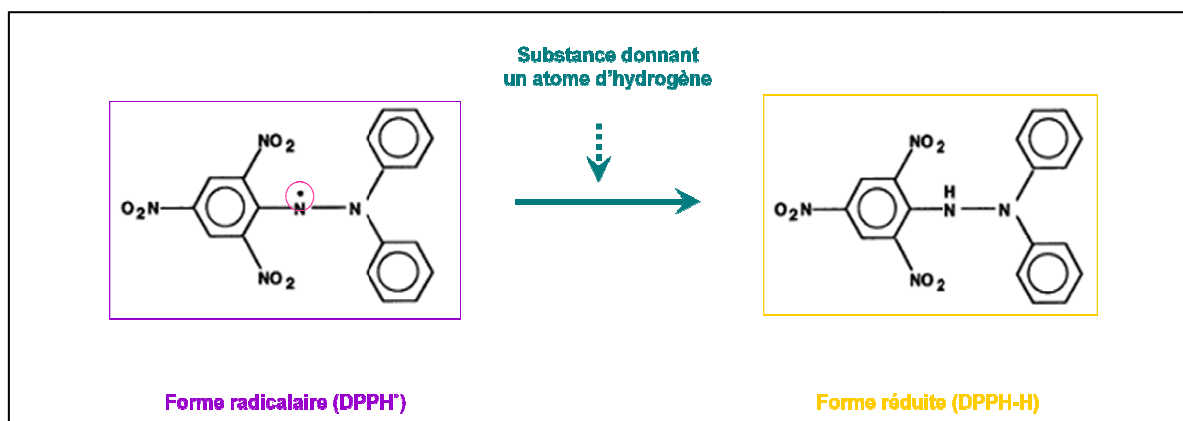
$$\% \text{ des alcaloïdes} = \frac{\text{Volume d'acide (0.2N)} - \text{volume de base (0.2N)}}{\text{Poids d'échantillon (g)}} \times 0.00587\%$$

### 3. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 3.1. Activité « scavenging » du radical DPPH

##### ➤ Principe de l'essai

La capacité de l'extrait à piéger les radicaux libres a été déterminée par une méthode colorimétrique, simple et rapide; la méthode de Koleva (Koleva et *al.*, 2002) qui utilise le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) qui, à l'état stable, possède une coloration violette foncée qui absorbe à 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution en jaune pâle (Figure 16).



**Figure 16.** Réduction du DPPH<sup>•</sup> par un antioxydant (Molyneux, 2004).

### ➤ Réalisation de l'essai

Le DPPH<sup>•</sup> 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) a été solubilisé dans l'éthanol absolu pour avoir une solution de 100µM. A partir d'une solution mère de chaque extrait de C<sub>1</sub>= 10 mg/ml, les dilutions suivantes ont été préparées : C2: 5 mg/ml, C3: 3 mg/ml, C4: 2 mg/ml, C5: 1mg/ml, C6: 0,5mg/ml.

A chaque volume de 1,5 ml de la solution éthanolique du DPPH<sup>•</sup>, un volume de 15 µl de chaque concentration préparée est ajouté. Après agitation et incubation à la température ambiante pendant 15 min, les densités optiques des mélanges réactionnels ont été mesurées par le spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par l'éthanol.

### Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (PI %) et par la valeur d'IC<sub>50</sub> ;

- Le PI % du DPPH<sup>•</sup> a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI \% du DPPH}^{\bullet} = \left[ \frac{A_B - A_E}{A_B} \right] \times 100$$

- L'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) appelée aussi EC<sub>50</sub> (Efficient concentration 50), concentration de l'extrait qui permet la réduction de 50 % de DPPH. L'IC<sub>50</sub> a été calculé graphiquement par le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés (Molyneux, 2004). Une courbe de régression linéaire (y=a x+ b) a été établie afin de calculer l'IC<sub>50</sub> qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. Une faible valeur de l'IC<sub>50</sub> indique une forte activité antioxydante (Saffidine, 2015).

### 3.2. Réduction de fer

#### ➤ Principe de l'essai

Les extraits qui possèdent un potentiel réducteur réagissent avec le Ferricyanure de potassium ( $\text{Fe}^{3+}$ ) pour former le Ferrocyanure de potassium ( $\text{Fe}^{2+}$ ), qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) pour donner un complexe ferrique ferreux mesurable à 700nm. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer (Jayanthi et Lalitha, 2010).

#### ➤ Réalisation de l'essai

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode d'Oyaizu (1986). Les différentes concentrations des extraits (1 ml) sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] (1%). Après incubation, à 50°C pendant 20 min, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) (TCA) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min.

A la fin, 2.5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de  $\text{FeCl}_3$  (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante étudiée est comparé à celui de l'acide ascorbique.

#### ➤ Expression des résultats

Le pouvoir réducteur de chaque extrait est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) établie avec des concentrations précises d'acide ascorbique comme standard de référence (Annexe 3).

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide ascorbique (mg EAA)/g E) (Djabali et Djellouli, 2017).

### 3.3. Test de phosphomolybdate

#### ➤ Principe de l'essai

La méthode utilisant le phosphomolybdate d'ammonium est un test antioxydant important basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre

(phosphate/ Mo (V) à un pH acide, avec une absorption maximale à 695nm (Prieto et *al.*, 1999 ; Zengin et *al.*, 2015).

➤ **Réalisation de l'essai**

L'activité évaluée par la méthode de Prieto et *al.*, (1999), Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml de l'éthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les expériences sont répétées en 3 fois.

➤ **Expression des résultats**

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA /g E) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Annexe 4).

#### **4. Analyse statistique**

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  (déviation standard (n=3)).

**CHAPITRE II.**  
**RESULTATS ET**  
**DISCUSSION**

## Chapitre II. Résultats et discussions

### 1. Rendement d'extraction

Le taux d'extraction à partir la partie aérienne de la plante *Hyoscyamus albus* L. est de l'ordre de 26.8 %.

Dans le cas de notre plante, le taux d'extraction est supérieur à ceux obtenus par Djafri et Sadjji (2013) (feuille, méthanol 80 %), Bouaouina et Agsous (2015) (partie aérienne, éthanol 96 %), Mouhoubi (2015) (feuille, éthanol 70%), Moussaoui et Talit (2016) (feuille, éthanol 96 %), Zerkak et Zetout (2016) (partie aérienne, éthanol 96 %), qui sont révélés des teneurs égal à 15,14 %, 5.26 %, 15.90 %, 8.56 % et 12.97 % respectivement. Cependant, Agouni (2014) a montré une valeur de l'ordre de 28.06 % qui est supérieur à notre résultat.

Commencer l'extraction par l'éthanol est intéressant car ce dernier représente un solvant permettant la dissolution de la majorité des composés phénoliques (Telli et *al.*, 2010).

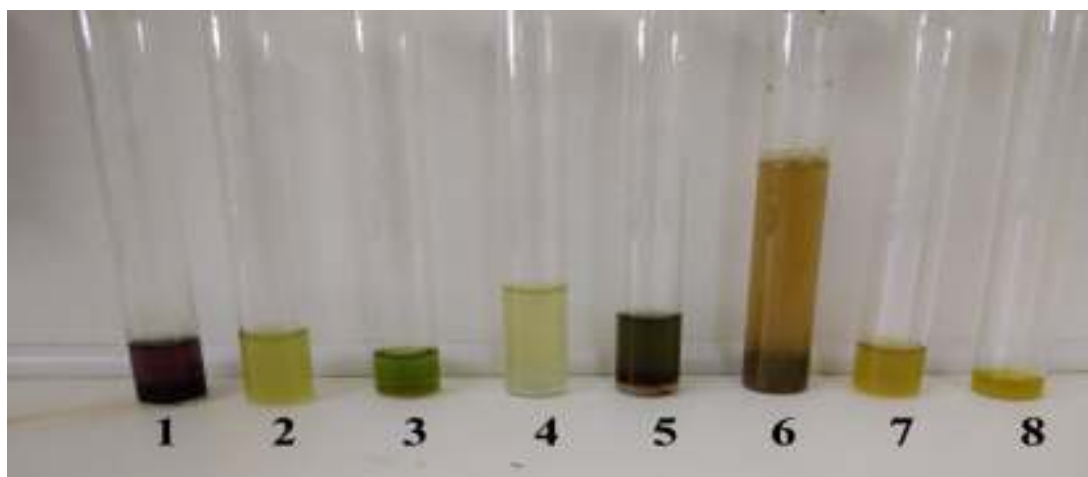
La différence de taux d'extraction dépend de la méthode, la nature de la composition chimique, la nature du solvant, la durée et les conditions de stockage, l'âge de la plante, la période de récolte et autres... (Naczki et Shahid, 2004 ; Bansal et *al.*, 2013 ; Oussalah et Saiche, 2014).

Ces meilleur taux d'extraction qui ont été trouvé avec l'éthanol 70% peut s'expliquer par l'augmenter de la perméabilité des parois sous l'effet des solvants qui facilitent l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires (Seidel, 2005).

### 2. Résultats de l'étude qualitative

Dans le but de rechercher la présence de certains types de métabolites secondaires dans la plante médicinale *Hyoscyamus albus* L., nous avons effectuée un screening phytochimique par la mise en évidence d'un ensemble des réactions de caractérisation de différents groupes.

Les résultats de l'examen phytochimique de ces métabolites sont représentés dans la figure 17 et le tableau 5.



(A)



(B)



(C)

**Figure 17.** Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait de *Hyoscyamus albus* L. : **A** ;  
1- Stéroïde. 2- Alcaloïde. 3- Extrait éthanolique. 4- Flavonoïde T1. 5-Terpenoïdes 6-  
Saponine. 7- Flavonoïde T2. 8- Quinone.

**B.** Tanins. **C.** Coumarine.

**Tableau 5.** Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* L..

Classes recherchées	Résultat trouvé
Flavonoïdes	++
Alcaloïdes	+++
Terpenoïdes	+++
Stéroïde	++
Coumarines	+
Quinone	++
Saponine	+
Tanins	+

Les résultats sont interprétés comme suit : (-) : test négatif ; (+) : test faiblement positif ; (++) : test positif ; (+++) : test fortement positif.

Les tests phytochimiques réalisés permet d'avoir une idée générale sur la composition chimique de notre plante, qui est plus ou moins riche en métabolites secondaires (Il est important de noter que tous les tests réalisés sont positifs).

Les résultats de screening phytochimiques effectués sur la partie aérienne de l'HA récolté de la région de Elwaldja, Khenchela, a montré que la plante contient essentiellement: des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponosides, et des tanins ce qui est en accord avec les travaux des Ali Esmail (2018) (Iraq) et Benhouda et *al.*, (2014) (Aris, Batna). Cependant, ces résultats sont différents de ce qui a été rapporté par Ameziane et Kherrou (2015) (Bouzina, Batna). Ces résultats pourraient être expliqués par la variation de facteurs écologiques, environnementaux et même génétiques (Achache, 2017).

La richesse de ces espèces en métabolites et composés chimiques actifs pourrait expliquer leur utilisation en médecine traditionnelle comme antiasthmatique et antispasmodique. Il a également été utilisé comme hallucinogénique et sédatif (Bellakhdar, 1997 ; El Bazaouia et *al.*, 2012 ).

### 3. Résultats de l'étude quantitative

#### 3.1. Dosage des flavonoïdes

La détermination de teneur en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne de l'*Hyoscyamus albus* a été réalisée en utilisant la méthode colorimétrique (le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ ). Une courbe d'étalonnage a été tracée pour cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentrations. Des mesures de densité pour l'extrait ont été réalisées à 420 nm. La quantité des flavonoïdes correspondante a été rapportée en équivalent milligramme de quercétine par gramme d'extrait.

Le résultat de dosage de flavonoïdes montre que EEHA a permis d'enregistrer une teneur de  $17,86 \pm 0,30$  mg EQ/g E.

Des études réalisées par Djafri et Sadjji (2013), Bouaouina et Agsous (2015) et Kenza et Siham (2016), ont démontré que les teneurs en flavonoïdes sont respectivement  $11.34 \pm 5.67$  mg EQ/gE,  $1.29 \pm 0.66$  mg EQ/gE et  $10,05 \pm 0,21$  mg EQ / gE. Ces valeurs

sont inférieures à celle obtenue par notre étude qui est égale à  $17,86 \pm 0,30$  mg EQ/g d'extrait.

Alghazeer et *al.* (2012), Benhouda et Yahia (2014), ont rapporté des teneurs largement supérieure à celle de la présente étude qui sont respectivement  $27,39 \pm 0.87$  mg ER/ gE et  $24,31 \pm 0.62$  mg EQ/ g E.

La différence de la teneur en flavonoïdes est due peut être aux conditions de croissance de la plante, comme le sol, le lieu géographique, conditions de développement du l'organe, degré de maturité, et les différences génétiques (Tigrine et Moudache, 2013), à savoir aussi la méthode d'extraction et la nature de solvant utilisé (Mellouk, 2013).

La concentration de flavonoïdes dans les extraits de plantes est fonction de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (Benhouda et *al.*, 2014).

Cette valeur considérable en flavonoïdes serait responsable de leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, antifongiques, antimicrobiennes, hémostatiques, aphrodisiaques et astringente (Kabran Guy et *al.*, 2012).

### 3.2. Dosage des flavonols de l'EEHA

Un dosage spectro-photométrique avec du trichlorure d'aluminium a été effectués à partir d'extrait éthanolique de la partie aérienne de HA afin de déterminer la teneur de flavonols. Pour cet objectif, une courbe d'étalonnage a été tracée avec la quercétine à différentes concentration. Des mesures de densité pour l'extrait ont été réalisées à 440 nm. La quantité de flavonols a été rapportée en mg EQ/ g E.

Le résultat de dosage de flavonols montre que EEHA a permet d'enregistrer une teneur de  $9,02 \pm 0.12$  mg EQ/gE.

Il est important de noter que c'est la première quantification des flavonols pour la plante de *Hyoscyamus albus*.

Tigrine et Moudache (2013), ont prouvés que la teneur en flavonols varie selon la nature de l'organe de la plante concerné par l'étude.

### 3.3. Dosage des alcaloïdes totaux de l'EEHA

La présence des alcaloïdes a été confirmée par les tests phytochimiques ce qui nous a conduits à faire leurs dosages quantitatifs.

D'après les résultats obtenus, la teneur en alcaloïdes à partir la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* L. est égale à de 0.25 %.

Djefri et Sadjji (2013), Allam et Ayad (2015), ont rapporté des quantités supérieures à celle obtenue par la présente étude avec des teneurs égale à 0.65 % (à partir les graines de *Hyoscyamus albus* L et l'hexane comme solvant), et 0.56% respectivement.

Ce résultat (0.25 %) semble plus élevé que la teneur en alcaloïdes dosée dans HA par Villa, (1992) (tige et fruits 0.09 % et feuilles et fleurs 0.06%), et celle montré par la méthode de pharmacopée française (graines 0.195%) (Roques, 1965).

Cette différence peut s'expliquer du fait que les alcaloïdes sont beaucoup plus solubles dans les solvants apolaires (Hexane, I.P=0.1) que dans les solvants polaires (Ethanol, I.P=4.3). D'ailleurs, les caractéristiques spécifiques des espèces et les conditions climatiques sont plus ou moins favorables d'une région à une autre pour la production et l'accumulation de cette substance bioactive dans HA (Djefri et Sadjji, 2013 ; Allam et ayad, 2015).

La teneur en alcaloïdes varie avec le stade de croissance de la plante ; au stade de la floraison, la plante mature ayant une teneur en alcaloïdes plus élevée (Villa, 1992).

Les racines et les tiges, qui constituent la majeure partie de la plante, contiennent la plus grande quantité d'alcaloïdes, facteur particulièrement important surtout si la plante doit être utilisée pour l'extraction à grande échelle d'alcaloïdes (Villa, 1992).

## 4. Evaluations des activités antioxydantes des extraits de l'*Hyoscyamus albus*

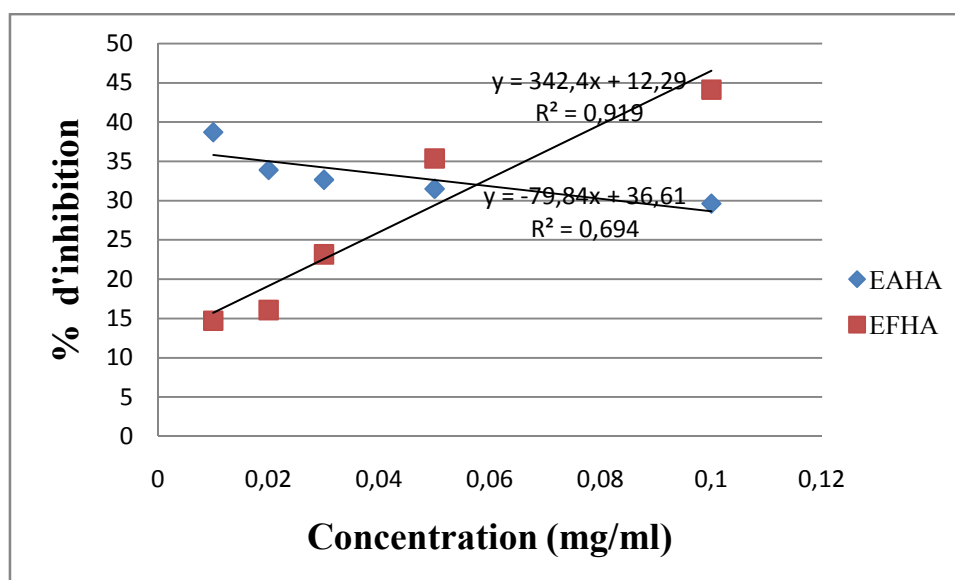
Afin d'évaluer l'activité antioxydante d'extraits obtenu, différentes méthodes chimiques ont été utilisées; test de DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle), test de pouvoir réducteur, et test de phosphomolybdate (PPM).

#### 4.1. Activité « scavenging » du radical DPPH

L'activité antioxydante de l'ensemble des extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectro-photométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI %), nous avons établi les profils d'activité oxydante, et c'est à partir de ces profils que nous avons déduit également les valeurs correspondantes à l'IC<sub>50</sub>.

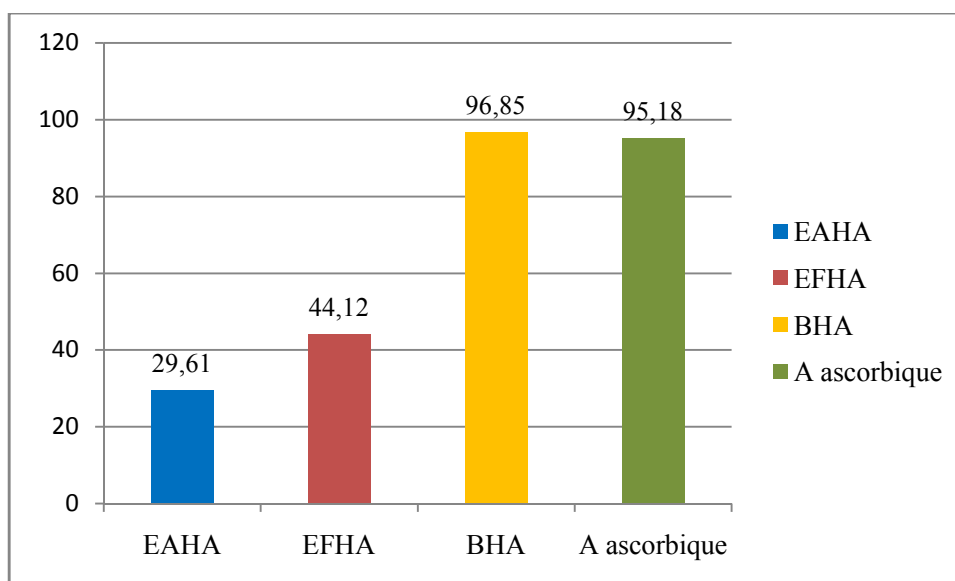
Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 18.



**Figure 18.** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'EFHA et l'EAHA.

Le profil de l'activité antioxydante d'EFHA obtenu (Figure 18) révèle une augmentation des pourcentages d'inhibition (PI) en fonction de la concentration. La plus faible concentration (0,005 mg/ml), l'extrait a présenté un PI de 14,70 % tandis qu'à la plus grande concentration (0,1 mg/ml), le PI a atteint 44,11%.

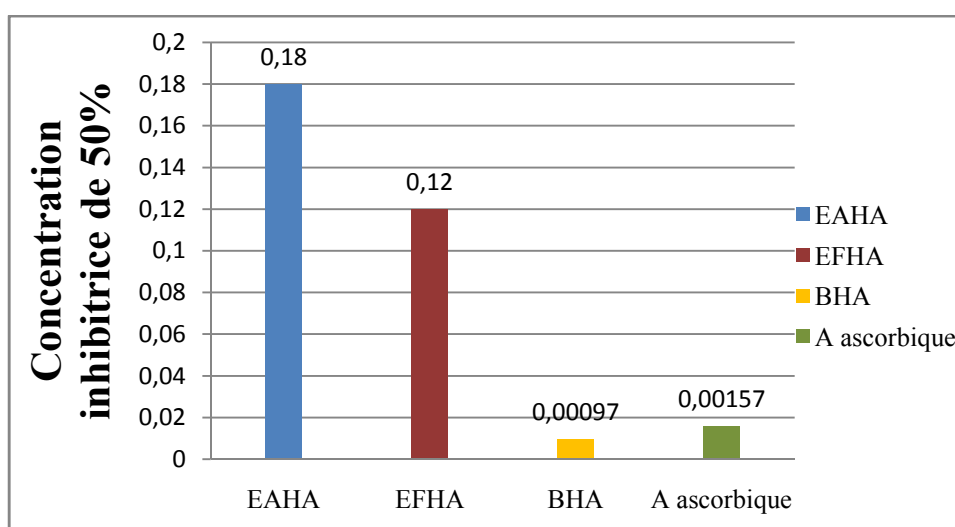
Cependant, l'EAHA (Figure 18) présente une diminution des pourcentages d'inhibition (PI) en fonction des concentrations. Une teneur de 38,69 % a été enregistrée pour la plus faible concentration (0,005 mg/ml), tandis qu'à la plus grande concentration (0,1 mg/ml), l'extrait a montré un PI à l'ordre de 29,61%.



**Figure 19.** Pourcentage de l'activité scavenging contre le radical DPPH des EFHA EAHA et les standards à 0,1 mg/ml.

En comparant le pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH des extraits de *Hyoscyamus albus* L. à celui des standards acide ascorbique et BHA pour des valeurs 95,18 et 96,85 % respectivement (à 0.1 mg/ml), on remarque qu'il est inférieur (figure 19).

A partir des courbes illustrées dans la figure 18, nous pouvons calculer les concentrations  $IC_{50}$  pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant.



**Figure 20.** Activité « scavenging » du radical DPPH des extraits de la partie aérienne de l'*Hyoscyamus albus*.

D'après cette figure, nous constatons que les concentrations d'IC<sub>50</sub> des EFHA et EAHA 0,12 mg/ml et 0,18 mg/ml respectivement, sont beaucoup plus supérieures par rapport aux standards qui présentent d'IC<sub>50</sub> égale à 0,00097 mg/ml et 0,00157 mg/ml respectivement pour le BHA et l'acide ascorbique.

Nos résultats se montrent plus efficaces par rapport à l'étude de Mouhoubi, (2015) qui a enregistré un PI égale à 60 % à la concentration de 13 mg/ml pour l'extrait éthanolique (70 %), avec une IC<sub>50</sub> à l'ordre de 9,79 mg/ml. Elsharkawy et *al.* (2018) a montré que l'extrait méthanolique de l'*Hyoscyamus muticus* d'Arabie Saoudite a exercé un effet antioxydant en enregistrant un IC<sub>50</sub> égale à 8,1 mg/ml. Aussi pour l'étude de Hadjipoor et *al.* (2015) réalisé sur *Hyoscyamus Niger* collecté à Iran, a trouvé un IC<sub>50</sub> à l'ordre de 0.34 mg/ml. Benhouda et *al.* (2014) a rapporté des IC<sub>50</sub> égale à 0.33 mg/ml et 0.61 mg/ml respectivement pour la fraction chloroformique et la fraction d'éther de pétrole. Ces résultats peuvent s'expliquer par la variation de la composition chimique, conditions expérimentales et environnementales, et/ ou système physiologique de ces espèces (Agouni, 2014 ; Elsharkawy et *al.*, 2018).

Cependant, Agouni (2014), Bouaouina et agsous (2015), Djefri et sadi (2015), Zerkak et Zetout (2016) ont révélés une efficacité supérieure à piéger le radical DPPH par rapport à la présente étude avec des PI maximales égal à 89.96%, 90%, 69.75%, 76.24% respectivement, avec IC<sub>50</sub> enregistré à 34,61 µg/ml, 11,37 µg/ml, 85 µg/ml et 60.77 µg/ml. Alghazeer et *al.* (2012) a constaté aussi une forte activité antioxydante vis à vis du radical DPPH en enregistrant un IC<sub>50</sub> de l'ordre de 60.4 µg/ml pour l'extrait des feuilles de l'HA.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues dans cette étude permettent aussi de conclure que l'activité antioxydante est proportionnelle à la richesse de l'extrait en flavonoïdes qui sont considérés comme d'excellents antioxydants dont les propriétés oxydo-réducteurs leurs permettent d'agir comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygène singulet et triplet (Kerbouche, 2010).

La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires (Zeghad, 2009).

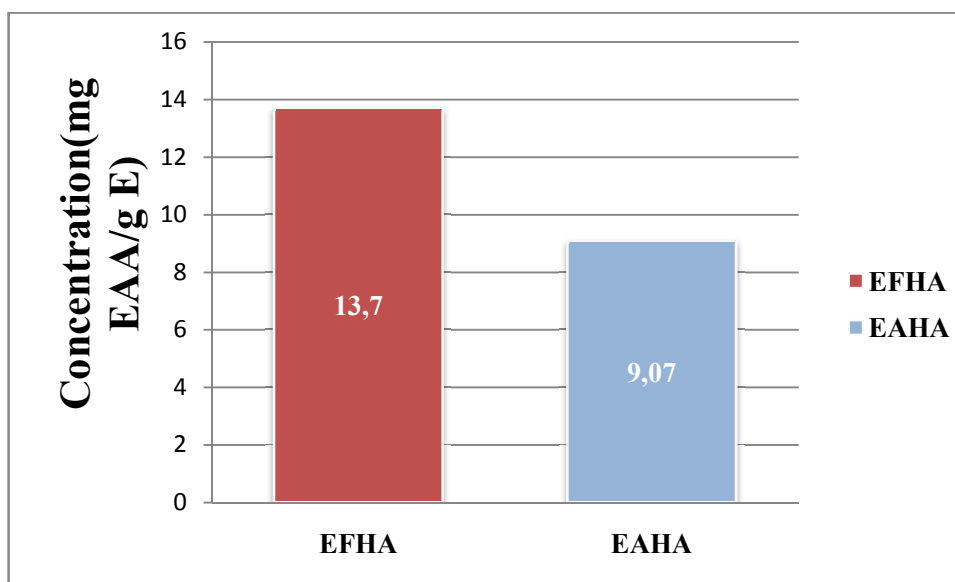
Plusieurs auteurs (Yang *et al.*, 2005 ; Montoro *et al.*, 2006 ; Ben Chibane, 2013 ; Mellouk, 2013 ; Mouhoubi, 2015 ; Zerkak et Zetout, 2016) ont reportée que en outre des flavonoïdes, les proanthocyanidines et les flavonols contribuent efficacement dans l'activité antiradical DPPH.

Ce résultat s'expliquent ainsi par le fait que l'extraction avec un mélange éthanol-eau montre généralement de meilleures activités antioxydantes dans ce test (Ruchi *et al.*, 2007).

#### 4.2. Test pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Cette capacité de donation d'électron est appelée pouvoir réducteur et se traduit par une coloration vert-bleuâtre dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du à 700 nm (Le *et al.*, 2007 ; Guendouzen et Haddouche, 2016). De nombreux auteurs considèrent cette capacité comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Ganie *et al.*, 2014).

Les résultats de ce test pour nos extraits sont montrés dans la figure 21.



**Figure 21.** Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de l'*Hyoscyamus albus*.

A partir de cette figure, on déduit que *Hyoscyamus albus* possèdent un pouvoir réducteur égal à 13,70 mg EAA/g E et 9,07 mg EAA/g E pour EFHA et EAHA respectivement.

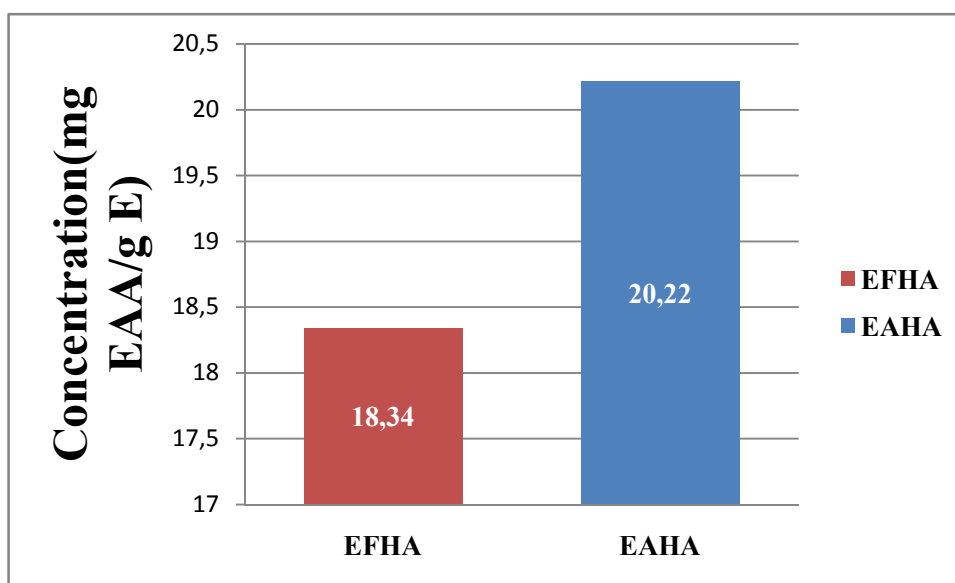
D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater en premier lieu que les flavonoïdes et les alcaloïdes semblent être contribués fortement dans le potentiel réducteur de HA vu leur capacité à transférer des électrons. (Oussalah et Saiche, 2014).

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est varié considérablement selon les différents solvants et les différentes méthodes (Djabali, 2017), aussi due à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, terminant de ce fait les réaction en chaines, ce qui explique le potentiel réducteur de nos extraits (Manallah, 2012).

#### 4.3. Test phosphomolybdate

L'activité antioxydante des extraits vis-à-vis le test phosphomolybdate d'ammonium est basé sur la réduction de  $\text{Mo}^{+6}$  en  $\text{Mo}^{+5}$  par un composé antioxydant conduisant à la formation d'un complexe (phosphate / $\text{Mo}^{+5}$ ) de couleur verte à un pH acide, est mesuré par spectrophotométrie à 695 nm.

La figure 22 présente les résultats de ce test pour l'EFHA et EAHA.



**Figure 22.** Test phosphomolybdate des extraits de la partie aérienne de l'*Hyoscyamus albus*.

Les résultats de ce test a permet d'enregistrer des teneurs de l'ordre de  $18,34 \pm 0,025$  mg EAC/gE et  $20,22 \pm 0,037$  mg EAA/gE pour EFHA et EAHA respectivement.

Ce pouvoir antioxydant observé peut être dû essentiellement aux structures chimiques des molécules bioactives (Laraba et *al.*, 2016).

Frissou S. et Hani D. (2014). a montré que l'augmentation de la concentration en alcaloïdes fait augmenter d'une manière significative la capacité réductrice des extraits. Cependant, la contribution des composés phénoliques non flavonoïdiques à l'activité antioxydant est beaucoup plus efficace que les flavonoïdes (Djafri et Sadjji, 2013) ce que permet de justifié les résultats trouvé dans la présente étude.

Les flavonoïdes possèdent une structure idéale pour le balayage des radicaux libres, puisqu'ils présentent un certain nombre d'hydroxyles agissant comme donneurs d'hydrogène, ce qui en fait d'importants agents antioxydants (Usmani et *al.*, 2013).

Un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre d'une part. D'autre part, les activités antioxydants sont plus variables dans les espèces de la plante (inter-espèce) que dans les mêmes espèces (intra-espèce) (Ksouri et *al.*, 2008).

***CONCLUSION***

***ET***

***PERSPECTIVES***

## Conclusion et perspectives

L'*Hyoscyamus albus* L. est une plante médicinale appartenant à la famille des Solanacées utilisée pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques et pharmacologiques dans le domaine de la médecine pour traiter certaines maladies cardiovasculaires, cancéreuses et le vieillissement. Cette plante est capable de produire de nombreux métabolites secondaires.

Il nous est apparu important de commencer notre travail par un criblage phytochimique sur la plante *Hyoscyamus albus* L. Les résultats indiquent la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, terpenoïdes, stéroïde, quinone, tannins, saponines et coumarines. Ces métabolites sont connus par leurs diverses propriétés biologiques pouvant ainsi, contribuer à leur utilisation comme remèdes en médecine traditionnelle.

Ainsi la détermination de la teneur des flavonoïdes, des flavonols et des alcaloïdes dans l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* au moyen des dosages spectrophotométriques nous a confirmé leurs présences en quantité plus au moins importante à l'ordre de  $17,86 \pm 0,30$  mg EQ/g E,  $9,02 \pm 0,12$  mg EQ/gE et 0.25 % respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits flavonoïdique et alcaloïdique de l'*Hyoscyamus albus* par les tests DPPH, pouvoir réducteur, et phosphomolybdate a révélé un différent pouvoir antioxydant d'un test à l'autre.

L'EFHA a montré un PI de 44,11% avec un  $IC_{50}$  égale à 0,12 mg/ml, tandis que l'EAHA a enregistré un PI de 29,61% avec un  $IC_{50}$  de l'ordre de 0,18 mg/ml pour la concentration 0,1 mg/ml. Concernant le pouvoir réducteur, des résultats de l'ordre de 13,70 mg EAA/g E et 9,07 mg EAA/g E a été estimé pour EFHA et EAHA respectivement. Nous avons constaté aussi que l'activité antioxydante obtenue par le test phosphomolybdate d'ammonium a révélé des valeurs égale à  $18,34 \pm 0,025$  mg EAC/gE et  $20,22 \pm 0,037$  mg EAA/gE pour EFHA et EAHA respectivement.

Par ailleurs, les résultats de cette étude reste préliminaire et ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active,

donc, de nombreuses perspectives expérimentales découlent de cette recherche. En fait, des études plus approfondies nécessaires conduisant plusieurs points à savoir:

- Utiliser d'autres méthodes d'analyses plus précises (CLHP, CL/SM, CG/SM...) qui permettent non seulement de quantifier mais d'évaluer les activités thérapeutiques des métabolites présents dans la plante.
- évaluer d'autres tests *in vitro* et *in vivo* telles que les effets anti-tumoraux, anti-inflammatoires et anti-cancéreuses .....etc.
- séparer et d'identifier les composés actifs de *Hyoscyamus albus* L., poussant en Algérie, plante très peu étudiée jusqu'à présent.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

### Références bibliographiques

**Abbah J., Amos S., Chindo B. et Ngazel I. (2010).** Pharmacological evidence favouring the use of *Nauclea latifolia* in malaria, ethnopharmacy: Effect against nociception, inflammation, and pyrexia in rats and mice. *Journal of ethno-pharmacology*, 127:85-90.

**Abdou Bouba A., Njintang Y.N., Scher J. et Mbofung C.M.F. (2010).** Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(3): 213-224.

**Achache W. (2017).** Effet insecticide des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* L. sur l'insecte ravageur de blé en post-récolte *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797). Mémoire master. Filière de Sciences Agronomique. Université Djilali Bounamaa, Khemis-Miliana

**Agarwal A. et Prabakaran S. A. (2005).** Mechanism measurement and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Journal Exp Biol, Indian*.

**Agouni N. (2014).** Dosages des composés phénoliques et activité antioxydants des extraits de *Hyoscyamus albus*. Mémoire de Master. Option : Pharmacologie Moléculaire. Université Abderrahmane Mira. Bejaia.

**Aissous A. et Bechara R. (2016).** Caractérisation chimique et activités biologiques d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Lepidium sativum*, Mémoire Master Université de Constantine.

**Akhanovna M.B.J., Benson B. B., Christian K. K. et Yves-Alain B. (2012).** Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes antihypertensives utilisées à gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie*, 2-12.

**Alexander J., Benford D., Cockburn A., Cravedi J-P., Dogliotti E., Diomenico A., Fernández-Cruz M. L., Fürst P., Fink-Gremmels . (2008).** Tropane alkaloids (from *Datura sp*) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal*, 691: 1-55.

**Alghazeer R., El-Saltani H., Nabeel S., Al-Najjar A. et Hebail F. (2012).** Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural Science*, 4:324-335 325.

## Références bibliographiques

---

**Ali Esmail A. S. (2018).** Therapeutic importance of Hyoscyamus species grown in Iraq (Hyoscyamus albus, Hyoscyamus niger and Hyoscyamus reticulates) - A review. *OSR Journal Of Pharmacy*. Volume 8, Issue 6 Version. 18- 32 p.

**Alilou H., Bencharki B., Hassani L. M. I., Barka N. (2014).** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *Olorus*. *Afrique Science* 10 (3). 316 – 328.

**Alkurd A. R., Takturi R. H., Ayyed H. (2008).** Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4 (3): 265 – 274.

**Allam S. et ayad K. (2015).** L'effet des facteurs climatiques sur la variation de quelques métabolites secondaires suivis de l'activité antibactérienne chez les deux espèces *Hyoscyamus albus* L. et *Hyoscyamus muticus* L. Mémoire de Master. Spécialité : métabolisme secondaire et molécules bioactive. Université des Frères Mentouri. Constantine.

**Allane T. et Benamara S. (2010).** Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8(3), 171 - 175.

**Alphonse, M.E. (1864).** De la famille des solanacées. Paris : impr. de E. Martinet. Cote: P5292.

**Ameziane A. et Kherrou W. (2015).** Evaluation in vivo de l'activité antiuroolithiasique et hépatoto-protective d'extrait méthanolique de feuilles de *Hyoscyamus albus* L. (Solanacée). Mémoire Master. Option, Biologie et Physiopathologie Moléculaire de la Cellule. Université Hadj Lakhdar Batna.

**Aniszewskim T.(2007).** Alkaloid chemistry. *Alkaloids-Secrets Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. GB: *Elsevier Science*, 61-139.

**Aruoma I. O., Bahorun T. et Jen L. S. (2003).** Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203 – 205.

**Arous S. (2014).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti radicalaire des extraits de *Fredolia aretioides*. Mémoire Master. Option biochimie appliquée. Université Abou Bakr, Tlemcen.

**Aufrere J., Theodoridou K. et Baumont R. (2012).** Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés. *Productions Animals*, 25 (1),29.

## Références bibliographiques

---

**Ayoola G.A., Coker H., Adesegun S.A., Adepoju-Bello<sup>1</sup> A.A., Obaweya<sup>1</sup> K., Ezennia<sup>1</sup> E.C., Atangbayila T.O. (2008).** Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 7 (3): 1019-1024.

**Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. et Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from nawthern fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim Forsch drug Research*, 46.1086 p.

**Balbaa S.I., Hilal S.H., Zaki A.Y. (1981).** Medicinal plant constituent Egyptian. *Dar- El-Kotob*. 424 - 437 p.

**Bansal S., Choudhary S., Sharma M., Kumar S.S., Lohan S., Bhardwaj V., Syan N. et Jyoti S. (2013).** Tea: A native source of antimicrobial agents. *Food Research International*, 53: 568-584.

**Barouki R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine - sciences*, 22 : 266 - 272.

**Bationo F., Savadogo A., Kabore D., Ouattara L., Ouedraogo H. G., Savadogo B. et Traore A. (2015).** Storage influence on beta - carotene and alpha - tocopherol contents of solar - dried *Spirulina platensis* (*Spirulina*). " *African Journal of Food Science*, 9 (12), 546- 554.

**Baudin B. (2006).** Oxidative stress and cardiovascular pathology. *MT Cardio*, 2 (1), 43 - 52.

**Bednarek P. et Schulze-lefert P. (2009).** Role of plant secondary metabolites at the host pathogen interface. in: j parker, ed, molecular aspect of plant disease resistance, vol 34. *annual plant reviews*, hoboken, usa, 220-260p.

**Begum S., Saxena B., Goyal M., Ranjan R., Joshi V., Rao C., Krishnamurthy S., Sahai M. (2010).** Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia*, 81: 178–184.

**Belabbassi O. (2012).** Etude de l'effet de la polyploïdisation sur la teneur en hyoscyamine des chevelus racinaires de *Datura stramonium* L. En vue de l'obtention du diplôme Magister. Option Biotechnologie végétales. Ecole Nationale Supérieur Agronomique, Alger.

## Références bibliographiques

---

**Belguidoum M. (2012).** Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. En vu d'obtention diplôme Master. Spécialité chimie appliquée. Université d'Ouargla.

**Bellakhdar J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle (médecine arabe ancienne et savoirs populaires). Ibis Press, Saint-Etienne:494-496.

**Ben Chibane T. (2013).** Détermination de l'activité antioxydante de deux céréales : blé dur et blé tendre. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Option contrôle de qualité et analyse. Université de Bejaia, Algérie. 39 p.

**Benhouda A. et Yahia M.(2014).** Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from *Hyoscyamus albus* leaves in albinos rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (3): 121-127.

**Benhouda A., Yahia M., Benhouda D., Bousnane N. E., Benbia S., Hannachi N. E. et Ghecham A. L. (2014).** Antimicrobial and Antioxidant activities of various extract of *Hyoscyamus albus* L. and *Umbilicus rupestris* L. leaves. *Algerian Journal of Natural Products* 2:1 (2014) 4-17.

**Berger M., et Que Y.(2009).** Traitement nutritionnel du grand brûlé. *Réanimation*, 18(8), 694- 701.

**Bino R.J., Hall R.D., Fiehn O., Kopka J., Saito K., Draper J., Nikolau B.J., Mendes P., Roessner-tunali U., Beale M.H., Trethewey R.N., Lange B.M., Wurtele E.S., Sumner L.W. (2004).** Potential of metabolomics as a functional genomics tool. *Trends in Plant Science* 9:418-425.

**Bohm H., Boeing H., Hempel J. (1998)** .Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. *Zernahrungswiss* 37(2): 147-63.

**Bonnefont R. D., Peynet J., Beaudoux J. L., Thérond P., Legrand A. et Delattre J. (2002).** Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 260 – 267.

**Boros B., Jakabov S., Dornyei A., Horvath G., Pluhar Z., Kilar F., Felinger A. (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in Thymus species. *Journal of Chromatography A*. 1217(51):7972-80.

**Bouaouina S. et Agsous N. (2015).** Caractérisation de l'activité antioxydante de *Hyoscyamus albus*. Mémoire Master. Option : Pharmacologie moléculaire. Université A. Mira. Bejaia.

## Références bibliographiques

---

**Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse doctorat. Option Phytochimie. Université badji mokhtar –Annaba.

**Bourgaude F., Gravot A., Milesi S. et Gontier E. (2001).** Production of plant secondary metabolites : a historical perspective. *Plant Science*, 161: 839 – 851.

**Bourzeix M., Weiland D., Heredia N., (1986).** A study of catechins and procyanidins of grape clusters, the wine and other by-product of the wine. *Bulletin de l'O.I.V* 669 - 670, 1173 -254.

**Bouzi w. (2009).** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. . Memoire Magister .Option, Biochimie Appliquée. Université el hadj lakhder, Batna.

**Bravo L. (1998).** "Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." *Nutrition Reviews*, 56(11): 317-333.

**Brown J.H. et Taylor P.(2006).** Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Ed., L.L. Brunton, J.S. Lazo and K.L. Parker (Eds.), McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York. 183- 200p.

**Brown J.H. et Taylor P. (1990).** Muscarinic receptor agonists and antagonists. The pharmacological basis of therapeutics. Hardman J.G., Limbird L.E., 141-60.

**Bruneton J. (2008) :** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème Ed Paris, Lavoisier Tec & Doc.

**Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition. Médicales Internationales-Tec et Doc. Paris.

**Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Lavoisier. Paris. 1268p.

**Budic-Leto T. & Lovric J. (2002).** Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac. *Food Technol and Biotechnol*, 40, 221-225.

**Castaneda -ovando A., Pacheco -Hernández M.L., Elena Páez -Hernández M.E., Rodríguez J.A., Carlos Andrés Galán-Vida C.A. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113(4): 859–871.

**Cheikhoussef A., Naomab E., Potgieter S., ladys Kahaka G., elestine Raidron C., Ashekele H. M. (2010).** Phytochemical Properties of a *Namibian Indigenous* plant; Eembe (*Berchemia discolor*). National Research Symposium 2010. Namibia.

## Références bibliographiques

---

**Cheyrier V., Fulcrand H., Sarni P., Moutounet M. (1997).** Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification. In *vino Analytica Scientia. Analysis* 25: 14-44p.

**Cheyrier V. & Sarni-machado P. (2006).** Structures phénoliques et gout ; In : polyphénols en agroalimentaire. Technique & documentation. Lavoisier.

**Choe E. et Min D. B. (2005).** Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science* 70(9): R142-R159.

**Christen Y. (2000).** Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 621 -629.

**Christianson, D.W.(2008).** Unearthing the roots of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12,141-150.

**Colin, J. P. (2008).** Sénescence et stratégie d'allocation des caroténoïdes chez le diamant mandarin, *Taeniopygia guttata*.

**Cooper J.C. et Hall E.A.H. (1993).** Catalytic reduction of benzoquinone at polyaniline and polyaniline-enzyme films. *Electroanalysis*, 5: 385-397.

**Cuendet M. (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (*Loganiaceae*) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (*Scrophulariaceae*), « *Loiseleuria procumbens* » (*Ericaceae*) et *Campanula* ba, Thèse de doctorat, université de Lausanne. 24p.

**Daoudi A., Sabiri M., Bammou M., Zair T., Ibijbijen J., Nassiri L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences* 87:8094–8104.

**Delattre J., Beaudoux J. L. et Bonnefont- Rousselot D. (2005).** "Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).

**Dixon R.A. et Strack D., (2003).** Phytochemistry meets genome analysis, and beyond. *Phytochemistry* 62:815-816.

**Djabali K. et Djellouli K. (2017).** Effet des méthodes d'extraction (Agitation, microonde et sonication) sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de miel et de confiture de *Ziziphus jujuba*. Mémoire master. Option: Pharmacologie Moléculaire. Université A. Mira. Bejaia.

## Références bibliographiques

---

**Djafri R. et Sadji S. (2013).** Etude de quelques activités biologiques des polyphénols et alcaloïdes de la jusquiame blanche « *Hyoscyamus albus* ». Mémoire de Master. Option : Pharmacologie moléculaire. Université Abderrahmane mira de Bejaia.

**Dohou N., Yamni k., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A., Gmira N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaea lythroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, 61-78.

**Duthie G.G., Gardner P.T. et Kyle J. A. (2003).** Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(03), 599 - 603.

**Edeas M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.

**El Bazaouia A., Bellimamb A., Lançarc I.T. et Soulaymania A. (2012).** Gas - liquid chromatography- mass spectrometry investigation of tropane alkaloids in *Hyoscyamus albus* L. From Morocco. *Z Naturforsch*; 67 c, 461 – 465.

**El gharras H. (2009).** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12): 2512–2518.

**EL Rhaffari L., Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, Edition de l'Institut de Recherche pour le Développement : Paris ; 293-318.

**Elsharkawy E. R., Ed- dra A., Abdallah E. M., Ali A. M. H. (2018).** Antioxidant, antimicrobial and antifeedant activity of phenolic compounds accumulated in *Hyoscyamus muticus* L. *African Journal of Biotechnology*. Article Number: 8109CB056205. Vol. 17 (10), 31 – 321 p.

**Eplotis N.D., Bjorkquist D., Bjorkquist et Sarkanen S. (1973).** *Journal of the American Chemical Society* -91-23- November 14.

**Evans P. et Halliwell B. (1999).** Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria. *Annals of the New York Academy of Sciences* 884: 19-40.

**Favier A. (1997).** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Presented at *Annales de biologie clinique*.

**Favier A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des Mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108-114.

## Références bibliographiques

---

**Ferdous M., Rouf R., Shilpi J.A. et Uddin S.J. (2008).** Antinociceptive activity of the ethanolic extract of *Ficus racemosa* Linn. (*Moraceae*). *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 8: 93-96.

**Fiehn O. (2002).** Metabolomics the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology* 48:155-171p.

**Franke A. A., Custer L. J., Arakaki C., Murphy P. S. (2004).** Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17.1–35.

**Frissou S. et Hani D. (2014).** Etude des teneurs en alcaloïdes d'une plante médicinale «*Matricaria pubescens*» et la détermination de leurs activités antioxydantes. Mémoire Master. Option : Biochimie Appliquée. Université Abderrahmane MIRA, Béjaia.

**Gaire B.P. et Subedi L. (2013).** A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium* L. *J Integr Med.*, 11(2): 73-79.

**Ganie S.A., Ali Dar T., Hamid R., Zargar O., Abeer S.U.I., Masood A., Amin S. et Zargar M. A. (2014).** In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Arnebia benthamii* (Wall e x. G. Don): A Critically Endangered Medicinal Plant of Kashmir Valley. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 792574, 8 p.

**Gardès- Albert M., Bonnefont - Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

**Guendouzen R. et Haddouche L. (2016).** Extraction des métabolites secondaires (composés phénoliques et huiles essentielles) et évaluation de l'activité antioxydante chez l'espèce *Juniperus oxycedrus*. Mémoire de Master. Option : Pharmacologie moléculaire. Université A/Mira. Bejaia.

**Ghedjati N. (2014).** Toxicité aigüe et subaigüe des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du *Datura stramonium*. Pour l'obtention du diplôme Magister en biologie. Spécialité biochimie Toxicologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 51p.

**Goudable J. et Favier A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin. Metabol*, 11:115-20.

**Goullé J., Pépin G., Dumestre Toulet V. et Lacroix C. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de Toxicologie Analytique*, 16(1) : 22-35.

**Grevoz G. D. et Laubriet A. (2007).** Reconnaissance et préparation de médicaments à l'officine. Edition Maloine, Paris, 18p.

## Références bibliographiques

---

**Grynkiewicz G. et Gadzikowska M. (2008).** Review Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. *Pharmacological reports*, 60: 439-463.

**Guignard J.L. (1998).** Abrégé de botanique. Masson Ed. Paris.

**Guignard J.L. (2000).** Biochimie végétal. 2ème Ed. Dunod. 188p.

**Hagerman A. E. (2002)** ([www.users.muohio.edu/hagermae](http://www.users.muohio.edu/hagermae)).

**Hajipoor K., Sani A.L., Mohammadi A. (2015).** In vitro antioxidant activity and phenolic profile of *Hyoscyamus niger*. *Inter. J. Biol. Pharm. Allied Sci.* 4(7):4882-4890.

**Halliwell B., et Gutteridge J.M.C. (2006).** Free Radicals in Biology and Medicine, Ed 4. Oxford: Clarendon Press.

**Hammiche V., Merad R. et Azzouz M. (2013).** Solanacées In : plante toxique a usage medicinal du pourtour mediteraneen. Paris: Edition Springer. 237- 259p.

**Harborne J. B., Mabry T.J. & Mabry H. (Eds.) (1975).** The flavonoids. Press CHAPMAN & HALL/CRC. Washington. DOC. London.

**Heller R., Esnault R., et Delance C. (1998).** Physiologie végétale 1-nutrition 6ème édition. Dunod. Paris, 289-288p.

**Hennebelle T.(2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de *Lamiales* productrices d'antioxydants. Chimie Organique et Macromoléculaire. Thèse de Doctorat. Université Lille 1- Sciences et Technologies.

**Hettiarachchi D.S., (2006).** Master Thesis: Isolation, Identification and Characterization of Antibacterial Compounds from *Carissa lanceolata* R.Br. Root. Pp 21-23.

**Hostettmann K. (1992),** Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Zyma SA, Nyon, 25.

**Iwashina T. (2000).** The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, 113: 287–299.

**Jayanthi P. et Lalitha P. (2010).** Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia Crassipipes* (Mart) solms. *International Journal of Pharmacy and Pharemaceutical sciences*, 3 (3):126 – 128.

**Jean- Blain C. (1998).** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine Vétérinaire* 149, 911-920.

**Jouzier E. (2005).** Solanacées Médicinales et Philatélie. *Bull. Soc. Pharm.* Bordeaux, 144, p. 311-332.

## Références bibliographiques

---

**Kabran G.R.M., Ambeu N.C., Mamyrbékova B.J.A., Békro Y.A. (2012).** Phenols et flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de dix plantes utilisées dans la tradithérapie du cancer du Sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X. Vol 68. No. 2.182 p.

**Kalam S., Singh R., Mani A., Patel J., Naem K.F., Pandey A. (2012).** Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal*, 1:18-34.

**Kar A. (2007).** Pharmacognosy and pharmabiotechnologie. 2<sup>ème</sup> édition. New Age International Publishers. 1 – 30.

**Kenza I. et Siham I. (2016).** Etude de l'activité antioxydant de la partie aérienne d'*Hyoscyamus albus*. Mémoire de Master. Option: Pharmacologie Moléculaire. Université Abderrahmane Mira. Bejaïa.

**Kerbouche L. (2010).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de *labiacées* et de *cupressacées*. Thèse de Magister. Option science alimentaires. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, Alger, Algérie. 130 p.

**Koehler- Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 165-177.

**Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., Groot A., Evstatieva L.N.(2002).** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17.

**Kone D. (2009).** Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de Docteur en Chimie Organique, Université Paul Verlaine de Metz. 178p.

**Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C. (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865-873.

**Kumaran A. et Karunakaran J. R. (2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT* 40.344 – 352.

## Références bibliographiques

---

**Laraba M., Serrat A., Ouassaa G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire master. Spécialité : Toxicologie et Santé. Université des Frères Mentouri. Constantine.

**Le K., Chiu F., et Ng K.(2007).** Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii. *Food Chemistry*, 105: 353-363.

**Liu H., Zhang L. et Lu S.(2012).** Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, 17: 4281–4291.

**Lupu S., del Campo F.J. et Munoz F.X. (2010).** Development of microelectrode arrays modified with inorganic-organic composite materials for dopamine electroanalysis. *J. Electroanal.Chem*, 639:147-153.

**Macheix J.J., Fleriet A. et Christian A. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.

**Mahmood U., Yogendra S., Raghunath S. et Thakur R. (2001).** 2, 3-dimethyl nonacosane and tropane alkaloids from *Hyoscyamus albus*. *Phytochemistry*, 24 (7): 1618-1619.

**Makhloufi A. (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Abou Baker, Tlemcen.

**Malešev D. et Kuntić V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921-939.

**Manallah A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L*. Mémoire pour obtenir le Diplôme de Magister. Option: Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas. Sétif. 76p.

**Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des Flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides, Thèse de doctorat. Spécialité biophysique. Université de Limoges.

**Martone P., Estevez J., Lu F., Ruel K., Denny M., Somerville C., Ralph J. (2009).** Discovery of Lignin. *Current biology*, 19(2): 169–75.

**Mateus L., Cherkaoui S., Christen P. et Oksman-Caldentey K. (2000).** Simultaneous determination of scopolamine, hyoscyamine and littorine in plants and

## Références bibliographiques

---

different hairy root clones of *Hyoscyamus muticus* by micellar electrokinetic chromatography. *Phytochemistry*, 54: 517-523.

**Mellouk K. (2013).** Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire de Master. Option alimentation et nutrition. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie. 57p.

**Merghem R. (2009).** Élément de biochimie végétale. Baheddine édition. : 95, 103,120-121 p.

**Merzougui I. et Tadj H. (2015).** Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoides verticillata* De la région de Tlemcen. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme Ingéniorat en S-agronomie. Université de Tlemcen.

**Mibeï E. K., Ojijo N.K. O., Karanja S. M. et Kinyua J. k. (2012).** Phytochemical and antioxidant analysis of methanolic extracts of four african indigenous leafy vegetables. *Food Science and Technology*. Valahia university press. Volume 13, Issue 1.

**Michel B. (2001).** Intoxications des animaux domestiques par plantes de la famille des solanacées. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude Bernard, Lyon I. 72p.

**Molyneux P. (2004).** The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.

**Montagnier L., Olivier R. et Pasquier C. (1998).** Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases, Marcel Dekker, New York.

**Montoro P., Tuberoso C.I.G., Piacente S., Perrone A., De Feo V., Cabras P. et Pizza C. (2006).** Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. Berries used for the preparation of myrtle liqueur. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41. 1614 p.

**Morot-Gaudry J. F. (2016).** Les végétaux, un nouveau pétrole ? .Editions Quae.

**Mouhoubi K. (2015).** Etude des effets antioxydant et antibactérien des extraits actifs d'*Hyoscyamus albus* L. de la région de Bejaia. Mémoire de master. Option : Sciences des Aliments. Université A. MIRA. Bejaia.

**Moussaoui S. et Talit N. (2016).** Association des composés phénoliques de quelque plantes médicinales. Mémoire de master. Option : Bioprocédé, technologie, Alimentaire. Université A. MIRA. Bejaia.

## Références bibliographiques

---

**Mueller- Harvey I. et Mc Allan A.B. (1992).**Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology. In: Tannins: Their biochemistry and nutritional properties. *Morrison I.M. (Ed.), JAI Press Ltd., London, 151- 217.*

**Mueller-Harvey I. (2006).**Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2010 - 2037.

**Mumper R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.

**Muniz M.N. (2006).** Synthèse d'alkaloïdes biologiquement actifs : la (±) anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Other. Université Joseph-Fourier – Grenoble I.

**Naczk M. et Shahid F. (2004).**Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatography A*, 1054: 95-111.

**Newsholme P., Haber E., Hirabara S., Rebelato E., Procopio J., Morgan D., Oliveira-Emilio H., Carpinelli A. et Curi R. (2007).** "Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non -mitochondrial ROS production and activity. *The Journal of physiology*, 583(1), 9 - 24.

**Nezamzadeh A.M.K., Amini H. et Faghihian. (2007).** Voltammetric determination of ascorbic acid based on its electrocatalytic oxidation at zeolite-modified carbon -paste electrodes. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2: 583-594.

**Nkhili E.Z. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant: Thèse de doctorat, univ. Montpellier 2009.

**Olmstead R.G., Sweere J.A., Spangler R. E., Bohs L. et Palmer. J. D. (1999).**Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. En: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*, M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, and J. P. Jessop (Eds.). The Royal Botanic Gardens, Kew Artículo en inglés [archive] 111-137p.

**Omulokoli E., Khan B. et Chhabra S. C. (1997).**Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants.*Journal of ethnopharmacology*, 56, 133-137.

**Oussalah Y. et Saiche S. (2014).** Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*. Mémoire de Master, Option: Pharmacologie moléculaire. Université Abdurrahman Mira, Bejaia.

**Oyaizu M. (1986).** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nutr* , 44: 307-315.

## Références bibliographiques

---

**Palazón J., Ocaña A., Vazquez L. et Mirjalili M. (2008).** Application of Metabolic Engineering to the Production of Scopolamine Molecules, 13: 1722-1742.

**Perret C. (2001).** Thèse : Analyse des tanins inhibiteurs de la stilbène, oxydase produite par *Botrytis cinerea*, Université de Neuchâtel, Faculté des sciences.

**Pierrefiche G. et Laborit H. (1995).** Oxygen free radicals, melatonin, and aging. *Experimental Gerontology*.30: 213-227.

**Pincemail J. et Defraigne J. (1999).** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Presented at Symposium «antioxydants et alimentation», Institut Danone, Bruxelles.

**Prieto P., Pineda M. et Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269, 337 – 341.

**Pudersell K. (2006).** Tropane Alkaloid Production and Riboflavine Excretion in the Field and Tissue Cultures of Hanbane. *Tartu: Press*. 89p.

**Rao S.P., Kalva S., Yerramilli A. et Mamidi S. (2011).** Free radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants .*Free Rad. Antiox*, 1 (1): 2 – 7.

**Re R., Pellegrini N., Proteggebnte A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C (1999).** Antioxydant activity applying an improve ABTS radical cation decolorization assay. *ScienceInc*, 26:1231-1237.

**Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.

**Robinson T.Ph.D. (1981).** Tropane Alkaloids.The Biochemistry of Alkaloids. *Molecular Biology Biochemistry and Biophysics*, 3: 58-66.

**Rolland Y. (2004).** "Antioxydants naturels végétaux." Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 11(6), 419- 424.

**Romeike A. (1956).** *Flora* 143:67.

**Roques A. (1965).** Etude de la jusquiame blanche d'Algérie : *Hyoscyamus albus* L. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'Alger. 120p.

**Rowland I., Gibson G., Heinken A., Scott K., Swann J., Thiele I. et Tuohy K. (2017).** Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, 1 - 24.

**Ruchi G. M., Majekodunmi O.F., Ramla A.M., Gouri B.V., Hussain A.A. et Suad K.S.A. (2007).** Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food Chemistry*. 101: 465–470.

## Références bibliographiques

---

**Saffidine k. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. diplôme de Doctorat. Spécialité: microbiologie. Université ferhat abbas sétif.

**Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. Paris: 266 – 268.

**Saci S. et Touguit D. (2015).** Etude de la toxicité aïgue et de l'activité antidiabétique des alcaloïdes nortropaniques de *Hyoscyamus albus*. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme master. Option : Biochimie Appliquée. Université A.MIRA- Bejaia.

**Schultes R.E. et Hofmann A. (1993).** Les plantes des dieux. Les plantes hallucinogènes, botanique et ethnologie. Ed. Du Lézard. Paris.

**Seidel V. (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa). 27-37 p.

**Sekli-belaidi F. (2011).** Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de Poly (3,4-éthylènedioxythiophène) pedot pour l'élaboration de micro capteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydants du sérum sanguin. Thèse En vue de l'obtention du diplôme de doctorat. Spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse.

**Servais S. (2004).** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga - 3, Université Claude Bernard- Lyon I.

**Stegelmeier B.L., Molyneux R.L., Asano N., Watson A.A. et Nash R.J. (2008).** The comparative pathology of the glycosidase inhibitors swainsonine, castanospermine, and calystegines A3, B2, and C1 in Mice. *Toxicologic Pathology*, 36: 651-659.

**Strauss A. (1989).** in: Y.P.S. Bajaj (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer*, Berlin. 7: 286-314.

**Tapas A., Sakarkar D. et Kakde R. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals: a review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3):1089–1099.

**Telli A., Mahboub N., Boudjeh S., Siboukeur O. E. K. et MoultiMati F. (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*phoenixdactylifera* l) variété ghars. *Annales des Sciences et Technologie*, 2 (2) : 107-114.

**Tessier F. et Marconnet P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice .*Science & Sports*. 10: 1-13.

## Références bibliographiques

---

**Tigrine S. et Moudache K. (2013).** Activité antioxydante des extraits polyphénoliques De l'aubépine. Mémoire d'ingénieur d'état. Option Contrôle de Qualité et Analyse. Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA, Algérie. 33 p.

**Usmani S., Hussain A. et Farooqui A.H. (2013).** Determination of infochemicals, phytochemical screening and evaluation of antioxidant potential of *Digera muricata*. Scholars research library, Vol. 5: 3-4.

**Vakili B., Karimi F., Sharifi M. et Behmanesh M. (2012).** Chromium-induced tropane alkaloid production and H6H gene expression in *Atropa belladonna L.(Solanaceae)* in vitro propagated plantlets. *Plant Physiology and Biochemistry*. 52:98-103.

**Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C. J. et Telser J. (2004).** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 266(1-2): 37-56.

**Vamecq J., Vallée L., Storme L., Gelé P. et Borde R. (2004).** Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue*, 18 (1) : 16 - 23.

**Vanu M.R., Palanivelu S. et Panchanatham S. (2006).** Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Semecarpus anacardium Linn.* Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29: 693-700.

**Vermerris W. (2006).** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN- 101-4020-5163-8 (HB).

**Villa K. (1992).** investigation of the alkaloidal content of local *Hyoscamus albus L.* in A. Serracino- Lnglott (Ed.) , pharmacy Final Year Students 1992 Project Abstracts, Vol. 2, University of Malta . Department of pharmacy. 508- 512p.

**Vincent A. M., Russell J. W., Low P. et Feldman E. L. (2004).** Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25(4), 612- 628.

**Waksmundzka- Hajnos M. et Sherma J. (Eds.).(2010).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. CRC Press.

**Wichtel M. et Anton R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition Lavoisier, Paris, 38 - 41.

**Yang X., Li J., Li X., She R. et Pei Y. (2005).** Isolation and characterization of a novel thermostable non-specific lipid transfer protein like antimicrobial protein from motherwort (*Leonurus japonicus Houtt*) seeds. *Peptides*, 27. 3122 p.

## Références bibliographiques

---

**Yusuf A. Z., Zakir A ., Shemau Z., Abdullahi M. et Halima S. A. (2013).** Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of *Paullinia pinnata* linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Vol. 6(2), pp. 10-16.

**Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri-Constantine. 26.28. 84 p.

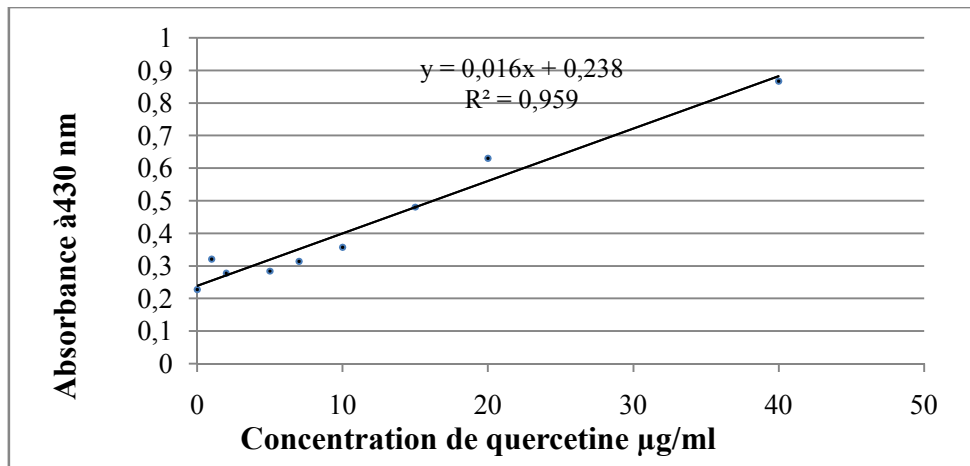
**Zengin G., Uysal S., Ceylan R. et Aktumsek A. (2015).** Phenolic constituent, antioxidative and tyrosinase inhibitory activity of *Ornithogalum narbonense* L. from Turkey: a phytochemical study. *Industrial Crops and Products* 70, 1–6.

**Zerkak H. et Zetout E. H. (2016).** Etude de la toxicité et de l'activité antioxydants des extraits de trois plantes médicinales. Mémoire de Master. Option : Pharmacologie Moléculaire. Université Abderrahmane Mira. Béjaia.

# ***ANNEXE***

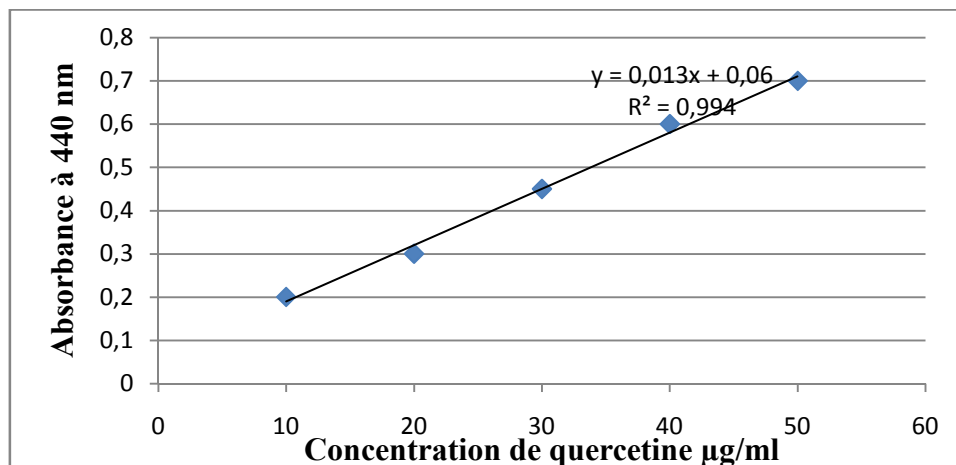
## Annexe

### ➤ Annexe 1



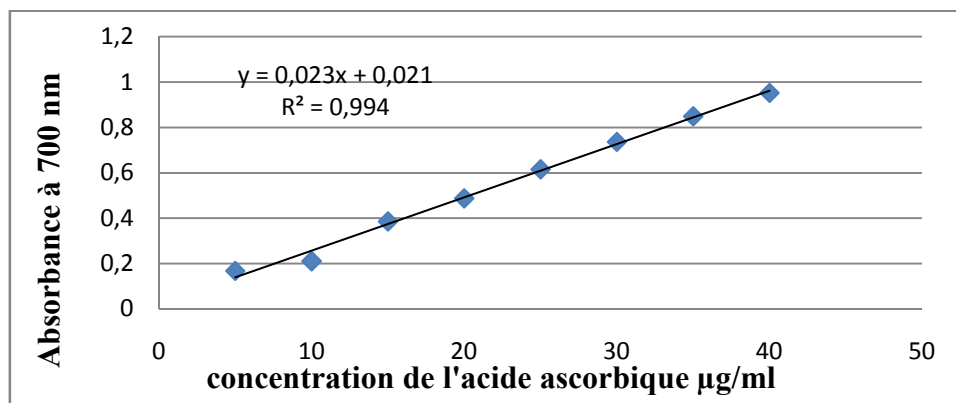
Courbe d'étalonnage de la quercetine pour le dosage des flavonoïdes.

### ➤ Annexe 2



Courbe d'étalonnage de la quercetine pour le dosage des flavonols.

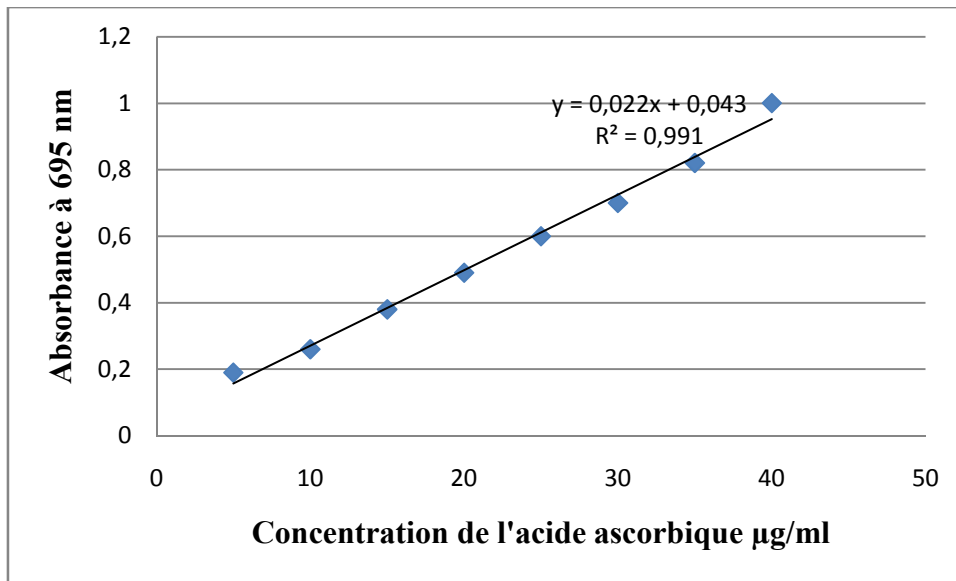
### ➤ Annexe 3



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'évaluation du pouvoir réducteur.

## Annexe

### ➤ Annexe 4



Courbe détalonnage de l'acide ascorbique pour l'évaluation du test phosphomolybdète

**Thème: Evaluation de l'activité antioxydante des alcaloïdes et des flavonoïdes de la plante médicinale «*Hyoscyamus albus L.* » de la région de Khenchela**

### Résumé

Dans le but de valoriser les plantes médicinales Algérienne, nous sommes intéressées dans cette étude d'une part, à la caractérisation qualitative et quantitative de l'extrait éthanolique de la plante médicinale *Hyoscyamus albus* (EEHA), et d'autre part, à la détermination de l'activité antioxydante des flavonoïdes et des alcaloïdes par trois méthodes.

La première partie concerne la caractérisation chimique de l'EEHA par le screening phytochimique, et le dosage des différents métabolites. Le criblage phytochimique a été pu de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des terpenoïdes, des tannins, des saponines, quinones, tannins et coumarines.

Quantitativement le dosage des flavonoïdes, des flavonols et des alcaloïdes dans l'EEHA a montré des teneurs appréciables égale à  $17,86 \pm 0,30$  mg EQ/g E,  $9,02 \pm 0.12$  mg EQ/gE et 0.25 % respectivement.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude de l'activité antioxydante pour l'extrait flavonoïdique (EFHA) et alcaloïdique (EAHA). Concernant le test de DPPH, l'EFHA à la plus grande concentration (0,1 mg/ml), a révélé un PI de 44,11% avec un  $IC_{50}$  égale à 0,12 mg/ml, alors que l'EAHA a montré un PI de 29,61% pour la même concentration avec un  $IC_{50}$  de l'ordre de 0,18 mg/ml. En revanche, le pouvoir réducteur a été estimé à 13,70 mg EAA/g E et 9,07 mg EAA/g E pour EFHA et EAHA respectivement. De même, l'activité antioxydante des extraits vis-à-vis le test phosphomolybdate d'ammonium a permet d'enregistrer des teneurs de l'ordre de  $18,34 \pm 0,025$  mg EAC/gE et  $20,22 \pm 0,037$  mg EAA/gE pour EFHA et EAHA respectivement. Ces résultats obtenus ont été avéré intéressant en comparaison à la littérature.

**Mots clés:** Activité antioxydante, Alcaloïdes, DPPH, Flavonoïdes, *Hyoscyamus albus*, Pouvoir réducteur, Phosphomolybdète d'ammonium.



**Topic : Evaluation of the antioxidant activity of Alkaloids and flavonoids of the medicinal plant "*Hyoscyamus albus*" from Khenchela region**

---

**Abstract**

In the aim of developing the Algerian medicinal plants, we are interested in this study on the one hand, with the qualitative and quantitative characterization of the ethanolic extract of the medicinal plant *Hyoscyamus albus* (EEHA), and on the other hand, with the determination of the antioxydant activity of flavonoids and alkaloids by the means of three methods.

The first part relates to the chemical characterization of the EEHA with the phytochemical screening and the determination of different metabolites. The phytochemical screening was able to highlight the presence of the flavonoides, alkaloides, terpenoides, tannins, saponines, quinines and coumarines.

Quantitatively, the proportioning of flavonoides, flavonols and alkaloids in the EEHA showed appreciable contents equal to  $17,86 \pm 0,30$  mg EQ/g E,  $9,02 \pm 0.12$  mg EQ/gE and 0.25 % respectively.

The second part was devoted to the study of the antioxydant activity of the flavonoid (EFHA) and alkaloid extract (EAHA). Regarding the DPPH test, the EFHA at the highest concentration (0,1 mg/ml) revealed a PI of 44,11 % with an  $IC_{50}$  equal to 0,12 mg/ml, while the EAHA had showed a PI of 29.61% for the same concentration with an  $IC_{50}$  of the order of 0.18 mg / ml. In contrast, the reducing power was estimated at 13.70 mg EAA / g E and 9.07 mg EAA / g E for EFHA and EAHA respectively. Likewise, the antioxidant activity of the extracts vis-à-vis the ammonium phosphomolybdate test makes it possible to record contents of the order of  $18.34 \pm 0.025$  mg EAC / gE and  $20.22 \pm 0.037$  mg EAA / gE for EFHA and EAHA respectively. These results were found to be interesting in comparison with the literature.

**Key words:** Antioxidant activity, Alkaloids, DPPH, Flavonoids, *Hyoscyamus albus*, Reducing power, Ammonium phosphomolybdenum.

الموضوع : تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للقلويدات والفلافونيدات للنبتة الطبية «  
» *Hyoscyamus albus* من منطقة خنشلة

## ملخص

من اجل تثمين النباتات الطبية الجزائرية, نحن مهتمون في هذه الدراسة من جهة بالوصف النوعي و الكمي للمستخلص الاثانولي للنبتة *Hyoscyamus albus* , ومن جهة ثانية تحديد نشاط مضادات الأكسدة للفلافونيدات والقلويدات بثلاث طرق.

الجزء الاول يتعلق بالوصف الكيميائي للمستخلص الاثانولي لنبتة *Hyoscyamus albus* بواسطة الفحص الكيميائي النباتي و تقدير كميات مختلف مكونات الايض. كان الفحص الكيميائي قادرا على تحديد وجود الفلافونويد , والقلويدات , والتربينويدات , والتانات , والصابونين , الكينون و الكومارين.

كميا, تقدير كمية الفلافونات, الفلافونولات و القلويدات في المستخلص الاثانولي للنبتة *Hyoscyamus albus* اظهر قيمة  $0.30 \pm 17.86$ ,  $0.12 \pm 9.02$  ملغ بما يكافئ الكارستين / غ من المستخلص و 0.25% على التوالي.

خصص الجزء الثاني لدراسة النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الفلافونويد(EFHA) والقلويد (EAHA). فيما يتعلق باختبار DPPH, كشف EFHA عند أعلى تركيز (0.1 ملغ/مل) عن PI بنسبة 44.11 % مع IC50 يساوي 0.12 ملغ/مل, بينما لدى EAHA أظهر PI بنسبة 29.61 % عند نفس التركيز مع IC50 يساوي 0.18 ملغ / مل.

في المقابل , قدرت القدرة الارجاعية بـ 13.70 و 9.07 ملغ بما يكافئ حمض الاسكوربيك / غ من المستخلص بالنسبة ل EFHA و EAHA على التوالي. وبالمثل , فإن النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات فيما يتعلق باختبار فوسفوموليبيدات الأمونيوم يجعل من الممكن تسجيل بقيمة  $18.34 \pm 0.025$  و  $0.037 \pm 20.22$  ملغ بما يكافئ حمض الاسكوربيك / غ من المستخلص بالنسبة ل EFHA و EAHA على التوالي. هذه النتائج التي تم الحصول عليها مثيرة للاهتمام بالمقارنة مع الابحاث السابقة.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة , القلويدات , DPPH , الفلافونويدات , *Hyoscyamus albus* , الطاقة المقللة , الأمونيوم الفوسفوموليبيديوم.