



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



UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR KHENCHELA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER Académique

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOTECHNOLOGIE ET AMELIORATION DES PLANTES

**Thème**

*Evaluation de l'activité antioxydante de la plante  
fuoscyamus albus L. traitée par les phytohormones*

*BAP et IAA*

Présenté par : NOM Prénom

Ababsa yassamina

Khabthane zineb

Jury de Soutenance

<b>Président</b>	Mme HAMLIS.	MCB	Université Abbes Laghrou Khenchela
<b>Encadreur</b>	Mme KADI K.	MCA	Université Abbes Laghrou Khenchela
<b>Examineur</b>	Mr Zeraib A.	MCB	Université Abbes Laghrou Khenchela
<b>Invité</b>	Mr Khabthane A.	MCB	Université Abbes Laghrou Khenchela

*Année Universitaire 2016/2017*

# **Remerciements**

*Louange à Allah, nous Le glorifions, Lui demandons aide et invoquons Son pardon contre le mal de nos péchés, celui qui fut guidé personne ne peut l'égarer et celui qui est égaré personne ne peut le guider.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères gratitudee à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont en premier lieu à notre directeur de Mémoire :*

***Dr; Kenza kadi** ; Comme elle a commencé ce travail et aider l'était inestimable. Là où nous pouvons apprécier ses compétences professionnelles, mais aussi ses qualités et son éthique et l'humilité pour traiter avec nous, et a toujours été présent, et en faveur d'entre nous, encadrés tout au long de cette mémoire, dans les bons moments comme dans les temps de frustration.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements aux membres de jury qu'ils ont accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer au jury de notre soutenance.*

*Aussi nous leur suis reconnaissant d'avoir accordé de leurs temps. Nous remercions également tous les enseignants de l'université de Khenchela, pour ses aides si précieuses et pour ses encouragements tout le long de nos parcours.*

*Enfin, ne pouvant éter tous ceux et celles qui nous ont été d'un apport petit ou grand, nous leur adresse nos remerciements les plus sincères.*



# Dédicaces

*Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Kayoum"*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes années d'étude à des êtres me sont très chères :*

*Celle qui m'a attribué par son amour.*

*M'a entourée par sa tendresse et j'ai prononcé son nom premièrement.*

*Que le paradis est sous ses pieds.*

*Le soleil de mes jours et la lumière de mes nuits*

*La plus proche de mon cœur :*

*Ma chère mère.*

*A celui qui a bravé les souffrances.*

*Enduré avec patience et courage tous les moments pénibles.*

*Qui m'a tout donné pour vivre heureuse.*

*L'homme que je respecte beaucoup :*

*Mon cher père.*

*merci Pour la personne la plus chère de ma vie Mon frère et mon cœur Islem , était toujours m'encourager à continuer .et Mes sœurs Linda , Imene et sousou Pour votre amour et votre soutien continu.*

*A tous les membres de ma famille.*

*A mes meilleurs amies : Madiha, Nawal, Maha, Soumia, Zina, Amel, Ahlem, Sabah.*

*A mon binôme dans ce travail : khabthane Zineb et sa famille.*

*A tous les autres que je n'ai pas pu citer, mais qui se reconnaîtront, je ne les oublie*

*Pas . . .*

*A mes collègues de la promotion 2016/2017 particulièrement ceux de l'option Biotechnologie et amélioration des plantes.*

*Enfin, à toute la famille de département de Biologie.*

**YASMINA**



# Dédicaces

*Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Kayoum"*

*A mes très chers parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études et pour la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée.*

*merci Pour la personne la plus chère de ma vie Mon frère et mon coeur Abd Alazize, était toujours m'encourager à continuer .et Mes sœurs Djazia et Zina Pour votre amour et votre soutien continu.*

*a leurs enfants: Zaki, Yasser, Hiba , chihab , Lin, Maria, moadh , Abdul Rahim et aya .A tous les membres de ma famille .*

*A Soufyane , Vous êtes spécial dans ma vie.*

*A mes chères amies : yassmin , wafa, chahira , aicha , khawla , radhia , zakia ,sabiha, hasiba,*

*loubna Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, soeur et des amis sur qui je peux compter . En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenir de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*Zineb*

## Evaluation d'activité antioxydante d'extrait d'*Hyoscyamus albus* L. traitée par les phytohormones (BAP et IAA)

### Résumé

La jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus* L.) est l'un des membres de la famille Solanacées, très riche en métabolite secondaire, utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. Elle est reconnue par leur vertu thérapeutique.

Dans ce contexte, le présent travail porte sur l'étude phytochimique des composés phénoliques présents dans l'extrait méthanolique de la plante *Hyoscyamus albus* L. traitée par les différentes phytohormones (BAP et IAA) séparée et en combinaison avec les doses (0,10 et 20 mg/L) et évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits.

L'étude qualitative par le screening phytochimique de tous les extraits nous a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des triterpènes, des composés phénoliques, des coumarines, des anthraquinones et des alcaloïdes. Les résultats de l'étude phytochimique de la plante ont montré que le traitement avec les phytohormones a un effet significatif par diminution sur les paramètres phytochimiques étudiés par contre ce traitement a un effet d'augmentation sur le rendement des extraits.

L'analyse quantitative a montré que l'extrait méthanolique d'*H. albus* non traitée présente la meilleure teneur en polyphénols totaux avec ( $354,26 \pm 1,36 \mu\text{g EAG/mg E}$ ), les flavonoïdes de même extrait ont révélé des teneurs ( $163,65 \pm 1,73 \mu\text{g EQ/mgE}$ ), et les Tanins avec ( $100 \pm 1$ )  $\mu\text{gECT/mgE}$  par rapport aux traitements effectués.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée par la technique de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que tous les extraits de la plante peuvent agir en tant que piègeurs de radicaux.

Les résultats obtenus justifient l'utilisation traditionnelle de ces extraits.

**Mots clés :** *Hyoscyamus albus* L, composés phénoliques, activité antioxydante, BAP, IAA.

## **Evaluation of antioxidant activity of extracts of *Hyoscyamus albus* L. treated with phytohormones (BAP and IAA)**

### **Summary**

White henbane *hyoscyamus albus* L. One of the most important plants of the family Solanaceae, very rich in secondary metabolites. Is a medicinal plant used since ancient times in traditional medicine, and is known for its therapeutic properties.

This work focuses on the phytochemical study of the phenolic compounds present in the methanolic extract of *Hyoscuamus albus* L. plant treated by different growth hormones (AIA et BAP) separated and interacted with concentrations of (0,10et 20) and on evaluation of antioxidant activity of *hyoscyamus albus* L. extracts.

Qualitatively study with phytochemical screening test of all extracts allowed us to investigate the presence of tannins, flavonoids, capsules, phenolic compounds, coumarin, anthraquinones and alkaloids.

Phytochemical study of this plant showed that the treatment with plant hormones have a significant impact by reducing effect on phytochemical parameters, and in contrary, this treatment has an increasing effect on the amount or yield of extracts.

Quantitative analysis of the methanolic extract of the untreated *hyosccyamus albus* L. showed the better amount of polyphenols ( $354,26 \pm 1.36$   $\mu\text{g EAG/mg E}$ ), flavonoids observed amount of ( $163,65 \pm 1.73$   $\mu\text{g EQ/mgE}$ ), and tannins with ( $100 \pm 1$ )  $\mu\text{gECT/mgE}$  compared to effected treatments.

*In vitro* evaluation of antioxidant activity was studied by means of a free radical reduction technique by the DPPH compound. The results showed that all methanolic extract of this plant had the property of root retention.

These results justify the traditional use of this plant.

**Key words:** *Hyoscyamus albus* L., phenolic compounds, antioxidant activity, BAP, IAA.

## تقييم النشاط المضاد للاكسدة لمستخلص نبات السكران الأبيض لينيه المعالج بالهرمونات

### النباتية IAA وBAP

#### ملخص

السكران الابيض *hyoscyamus albus* L. واحد من اهم نباتات العائلة الباذنجانية solanaceae ، غني جدا بالايض الثانوي . هو نبات طبي يستخدم منذ القدم في الطب التقليدي، و المعروف بخاصيته العلاجية. يرتكز هذا العمل على دراسة المكونات الفيتوكيميائية لهذه النبتة، المعالجة بمختلف الهرمونات النمو (AIA et BAP) منفردة و متداخلة بتركيز 0،10،20 ملغ/ل) و تقييم تطور النشاط المضاد للاكسدة لمستخلصاته. بينت الدراسة الكيميائية النوعية للنبتة عن طريق الحصر الكيميائي وجود العفص و الفلافونيدات، التؤبينات، المركبات الفينولية، الكومارين، انثراكوينونيس و قلويدات في جميع مستخلصات النبات. نتائج الدراسة الفيتوكيميائية بينت ان المعالجة بالهرمونات النباتية لديها تأثير معنوي كبير من خلال خفض الخصائص الفيتوكيميائية المدروسة، و على العكس تماما فان هذه المعالجة لها تأثير متزايد على مردود المستخلصات.

و قد بين الفحص الكيميائي الكمي على أن المستخلص الميثانولي لنبات *hyoscyamus albus* L الغير معالج أنه اعطى افضل تركيز من البوليفينول ( $1,36 \pm 354,26$  ميكروغرام مكافئ لحمض القاليك/ ملغ مستخلص)، و من الفلافونيدات كميو مساوية لـ ( $1,73 \pm 163,65$  ميكروغرام مكافئ للكرسيتين/ ملغ مستخلص)، اما كمية العفصيات فهي ( $1 \pm 100$ ) ميكروغرام مكافئ للكاتشين/ ملغ مستخلص مقارنة مع المعالجات بالهرمونات النباتية المستعملة.

تمت دراسة تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر عن طريق تقنية الحد من الجذور الحرة بواسطة المركب DPPH . وأظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لهذه النبتة يمتلك خاصية حبس الجذور . هذه النتائج تبرر الاستخدام التقليدي لهذا النبات.

**الكلمات المفتاحية:** السكران الأبيض، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة،

IAA وBAP .

# Table Des Matieres

## Les Abréviations

## Liste Des Figures

## Liste Des Tableaux

## Introduction .....01

## Partie théorique

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

#### I.1. Présentation de la famille des solanacées:.....05

#### I.2.Présentation du genre *Hyoscyamus*:.....05

#### I.3. Historique de la jusquiame (*Hyoscyamus*):.....05

#### I.4. Espèces des jusquiames:..... 06

#### I.5. L'espèce *Hyoscyamus albus* L. ....06

##### I.5.1. Description botanique de la plante *H. albus* ..... 06

##### I.5.2. Habitats et distribution .....07

##### I.5.3. Noms vernaculaire .....07

##### I.5.4. Systématique .....07

##### I.5.5. Informations complémentaires .....08

##### I.5.6. Utilisation :.....08

##### I.5.7. Composition chimique de la plante *Hyoscyamus albus* L. :.....09

#### I.6. Intérêt thérapeutique des jusquiames:.....10

### Chapitre II. Les métabolites secondaires

#### II.1.Définition des métabolites secondaires .....13

#### II.2.Classification des métabolites secondaires .....13

#### II.3. Les composés phénoliques .....14

##### II.3.1.Les polyphénols .....14

###### II.3.1.1. Définition des polyphénols.....14

###### II.3.1.2.Classification des polyphénols .....14

###### II.3.1.3. Biosynthèse des polyphénols.....14

###### II.3.1.4.Effets biologiques des polyphénols.....14

##### II.3.2.Les flavonoïdes .....15

II.3.2.1. Structure chimique et classification des flavonoïdes .....	15
II.3.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes .....	17
II.3.2.3. Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes .....	18
II.3.2.4. Activités des flavonoïdes .....	18
II.3.3. Tanins.....	20
II.3.3.1. Classification des tanins.....	20
II.3.3.2. Fonctions des tanins.....	20
II.4. Les polyphénols et les flavonoïdes du genre hyoscyamus.....	21
II.5. Les activités biologiques de la plante.....	21
<b>Chapitre III. L'Activité antioxydante</b>	
III.1. Définition .....	24
III.2. Les antioxydants .....	24
III.2.1. Les antioxydants primaires .....	24
III.2.2. Les antioxydants secondaires .....	25
III.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant .....	25
III.4. Mécanismes d'action des antioxydants.....	26
III.5. Les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante .....	26
III.5.1. Test au DPP .....	27
III.5.1.1. Principe .....	27
III.5.1.2. Dosage .....	27
III.6. L'activité antioxydante du genre hyoscyamus .....	28
<b>Partie pratique</b>	
<b>I. Matériel et Méthodes</b>	
I.1. Objectif du travail .....	31
I.2. Etude phytochimique de la plante .....	31
I.2.1. Matériel végétal .....	31
I.2.2. Les phytohormones utilisées .....	31
I.2.3. Préparation des extraits .....	32
I.2.4. Calcul du rendement des extraits .....	33
I.2.5. Analyse qualitative des extraits d'H. albus .....	34

<b>I.2.5.1.</b> Screening phytochimique d'extrait d'H. albus .....	34
<b>I.3.1.</b> Dosage des polyphénols .....	35
<b>I.3.2.</b> Dosage des Flavonoïdes .....	36
<b>I.3.3.</b> Dosage des Tanins .....	37
<b>I.4.</b> Evaluation de l'activité antiradicalaire .....	38
<b>I.5.</b> Analyse statistique des données .....	38
<b>II. Résultats et discussions</b>	
<b>II.1.</b> Etude phytochimique .....	40
<b>II.1.</b> Rendements des extraits bruts .....	40
<b>II.1.2.</b> Screening phytochimique .....	41
<b>II.2.</b> Etude quantitative des composés phénoliques .....	42
<b>II.2.1.</b> la teneur en polyphénols .....	42
<b>II.2.2.</b> La teneur en flavonoïdes .....	44
<b>II.2.3.</b> la teneur en tanins .....	46
<b>II.3.</b> Evaluation de l'activité antioxydante relative .....	47
<b>II.4.</b> L'analyse des composantes principales (ACP) .....	49
<b>II.5.</b> Discussion générale .....	52
<b>Conclusion</b> .....	57
<b>Références Bibliographiques</b> .....	60
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## **Les abréviations**

**ACP** : L'analyse des composantes principales

**ABTS** : réduction du radical- cation

**BAP** : Benzyl Amino Purine

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**Cu<sup>+</sup>** : cuivre

**°C** : Degré Celsius ;

**CH<sub>3</sub>OH** : Méthanol

**DPPH**: Diphenyl picryl- hydrazyle

**E<sub>E</sub>p** : Extrait étheropétrolique

**E<sub>Ch</sub>** : Extrait chloroformique

**E<sub>Me</sub>** : Extrait méthanolique.

**Fe<sup>2+</sup>** : fer

**FRAP** : test de réduction du fer

**EM** : Extrait méthanolique

**HPLC** Chromatographie Liquide à haute performance

**H** : Hyoscyamus

**HAMeOH**: Extrait méthanolique

d'Hyoscyamus albus

**I %** : pourcentage d'inhibition ;

**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice 50 % ;

**Ip** : Intra-péritonéale ;

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

**IAA** : Indole 3-Acétique Acide

**Kg** : Kilogramme ;

**L.** Linné

**M** : Molaire ;

**mg** : Milligramme ;

**mg EAG / g E** : milligramme équivalent acide gallique /gramme extrait ;

**mg EQ / g E** : milligramme équivalent quercitine /gramme extrait ;

**ml** : Millilitre

**mm** : millimètre ;

**mn** : Minute

**PP** : polyphénols

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**SOD** : super oxyde dismutase

**SM** : Spectrophotométrie de Masse

**T°** : Température ;

**2,4-D** : 2,4- Dichloro Phénoxy Acétique

**OH·** : Radical hydroxyl

**ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity

**UV** : Ultraviolet ;

**µg** : microgramme ;

**µl** : microlitre ;

**µm** : micromètre ;

**V/V** : Volume/ Volume

**Var** : Variété

**%**: le pourcentage

**++++** : Très abondant

**+++** : Abondant

**++** : Moyen

**+** : réaction louche.

**-** : Faible

Liste des figures

**Figure 1.** *Hyoscyamus albus* avec ses différentes parties.....07

**Figure 2.** Structure de base des flavones.....15

**Figure 3.** Structure de base des flavonols.....16

**Figure 4.** Structure de base des flavanones.....16

**Figure 5.** Structure de base des flavonols.....16

**Figure 6.** Structure de base des chalcones.....17

**Figure 7.** Structure de base des anthocyanidines.....17

**Figure 8.** L'étape clé de la formation des flavonoïdes.....18

**Figure 9.** Différence entre la structure de quercétine et la catéchine..... 19

**Figure 10.** Positionnement des groupements OH dans la quercétine, le kaempférol et la morine.....20

**Figure 11.** les systèmes de défense contre les radicaux libres  
.....25

**Figure 12.** Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)  
.....27

**Figure 13.** Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl).....27

**Figure 14.** Schéma d'extraction par le solvant organique des feuilles d'*H. albus* .....33

**Figure 15.** Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.....36

**Figure 16.** Courbe d'étalonnage de la Quercitine.....37

**Figure 17.** Courbe d'étalonnage de la Catéchine.....38

**Figure 18.** Les teneurs en polyphénols.....44

**Figure 19.** Teneurs en flavonoides.....45

**Figure 20.** Teneurs en tanins.....47

**Figure 21.** l'activité antioxydante relative des extraits des différents traitements par les phytohormones de la plante *H. albus* L.....49

**Figure 22.** Projection des paramètres mesurés sur le plan engendré par les axes 1 et 2.....51

**Figure 23.** Projection des traitements sur le plan engendré par les axes 1 et 2.....53

**Liste des tableaux**

**Tableau 1.**description de quelques tests antioxydants in vitro chimique.....26

**Tableau 2.**les rendements des extraits.....40

**Tableau 3.** Résultats du screening phytochimique des extraits methanoliques de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones 41.....41

**Tableau 4.** Teneur en polyphénols de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones.....42

**Tableau5.** Teneur en flavonoides de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones 2,4-D et K.....44

**Tableau 6.** Teneur en tanins de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones .....46

**Tableau 7.** Les pourcentages d'inhibition des extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones.....48

# **Introduction générale**

## **Introduction**

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte depuis l'apparition de l'homme face aux différentes adversités de la nature. Au cours des millénaires, les connaissances de l'homme sur les plantes médicinales se sont constamment étendues et approfondies d'une civilisation à l'autre. De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. **(Attisso, 1979).**

La phytothérapie, a constitué l'essentiel de l'arsenal thérapeutique **(Attisso, 1979)**. De nos jours, de très nombreuses plantes sont utilisées par une majorité des habitants du globe en médecine traditionnelle de façon empirique (pas de bases scientifiques, "simplement" l'observation au cours des siècles). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement complexes du point de vue de leur composition chimique. On estime qu'elles sont formées de plusieurs milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement (ou parfois un seul) sont responsables de l'effet thérapeutique ou de l'effet toxique **(Linuma et al., 1993)**. Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action et bien entendu leurs effets secondaires sur la santé humaine.

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides sous l'action des radicaux libres de l'oxygène (ROS) conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables. **(Mau et al., 2004)**. Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation **(Bruneton, 1999)**.

La plante *Hyoscyamus albus* L. de la famille solanaceae, très utilisée en médecine traditionnelle bien qu'il soit de plantes toxiques; En effet, elle contient des composés secondaires comme les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) **(Nabil et al., 2009)**

Elle est considérée comme :

- ✓ antalgique, et demeure de la mère Sedalive, et spécifique à la mère de la vessie (**Leikin et al., 1998**)
- ✓ Diurétique (**Leikin et al., 1998**)
- ✓ Hallucinogène et le traitement de l'insomnie (**Frank et René, 2008**)
- ✓ Mydriatique, le processeur de l'asthme, la coqueluche (**Manske et Holmes, 1950; Oksman, 2007**)
- ✓ Processeur ulcère infectieux, et Almnjulaa et l'épilepsie (**Launert, 1981; Grieve, 1984, Bown, 1995**)

L'objectif de notre travail vise à déterminer les teneurs en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) et à évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de la plante *Hyoscyamus albus* L. traitée par les phytohormones (BAP: 6-benzyladénine et IAA : Indol Acétique Acide) séparées et interagées; ainsi qu'à étudier l'effet de ces phytohormones sur l'accumulation des composés phénoliques.

Pour cela, et à la suite d'une introduction générale, notre mémoire comporte deux parties :

Une partie bibliographique est structurée en trois chapitres, **le premier chapitre** sur les généralités sur *Hyoscyamus albus* L. citons : sa botanique, l'utilisation de ses différentes parties et les rôles qu'il occupe dans l'environnement et dans le domaine de la médecine, **le deuxième chapitre** est consacré à l'étude des composés phénoliques et **le troisième chapitre** présente l'activité antioxydante.

Une partie pratique dont on a démontré le matériel et la méthodologie suivie dans notre pratique suivie par la présentation des résultats obtenus et leur discussion et achevée par une conclusion récapitulative.

**partie**  
**Bibliographique**

# *Chapitre I :*

*Généralités sur la plante *Hyoscyamus albus L**

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

### I.1. Présentation de la famille des solanacées

La famille des solanacées, qui appartient au deuxième groupe végétal des tubiflores qui comporte 6 familles de 2000 espèces environ, présentent quelques caractères communs : ce sont essentiellement des herbes, bien représentées dans les zones tempérées et froides, l'ovaire présente un caractère peu évolué, apparition de la zygomorphie, l'androcée est réduit souvent à quatre étamines, le feuillage est plutôt alterne. La famille des solanacées est regroupée autour du genre solanum (Zhi-yun et al., 1994 ; Goullé et al., 2004).

Linné nommait les plantes de cette famille les «blêmes », les «tristes» car les feuilles ont plutôt un aspect tombant avec des couleurs assez ternes (Goullé et al., 2004).

### I.2. Présentation du genre *Hyoscyamus*

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

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

### I.3. Historique de la jusquiame (*Hyoscyamus*)

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

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

La toxicité des jusquiames était déjà signalée par le médecin et le botaniste Discorde (Quetin-Leclercq, 2002). Au Moyen-âge, les sorcières s'enduisaient la peau d'onguents à base

des Jusquiames pour provoquer des hallucinations ou dans des séances de lévitation (**Quetin-Leclercq, 2002**).

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

#### I.4. Espèces des jusquiames

A travers le monde il y a presque 11 espèces identifiées du genre *Hyoscyamus* (**Roberts et Wink, 1998**) :

- ✚ *Hyoscyamus aureus* L.
- ✚ *Hyoscyamus muticus* L.
- ✚ *Hyoscyamus niger* L.
- ✚ *Hyoscyamus pisillus* L.
- ✚ *Hyoscyamus reticulatus* L.
- ✚ *Hyoscyamus major* mill.
- ✚ *Hyoscyamus minor* mill.
- ✚ *Hyoscyamus luridus* L.
- ✚ *Hyoscyamus boveanus* L.
- ✚ *Hyoscyamus desertorum* Asch et Boiss.
- ✚ *Hyoscyamus albus* L.

#### I.5. L'espèce *Hyoscyamus albus* L.

##### I.5.1. Description botanique de la plante *H. albus*

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

*Hyoscyamus albus* est une plante annuelle ou bisannuelle, qui mesure de 30 à 90 cm de hauteur, à port dressé, a des feuilles plus petites que la jusquiame noire (5 à 10 cm de long), elles sont larges, ovales, collantes et de couleur vert clair. Au printemps, la floraison, donne des fleurs de 1 à 3 cm de long, bilabiées, irrégulièrement lobées, de couleur vert pâle (**Figure 1**) (**Mahmood et al., 2001**).

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

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



**Figure 1 :** *Hyoscyamus albus* avec ses différentes parties (Valdes et al., 1987).

### **I.5.2. Habitats et distribution**

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

### **I.5.3. Noms vernaculaire**

Al banj ou un Jusquiames nommé scientifiques (latin: *Hyoscyamus*) espèces herbacées végétariens suit les solanacées comprend sept types acceptables et plusieurs dizaines de non résolus après sa (Timbal, 1904).

#### I.5.4. Systématique

L'espèce *H. albus* L. suit la classification suivante (Treas et Evans, 1983) :

**Règne** : Végétal

**Sous règne** : Eucaryotes

**Embranchement** :phanérogamae

**Sous embranchement** :Angiospermae

**Classe** : Dicotylédones

**Série** : sympétales

**Ordre** : tubiflores

**Famille** : solanaceae

**Genre** : *Hyoscyamus*

**Espèce** : *Hyoscyamus albus*

#### I.5.5. Informations complémentaires (Timbal, 1904)

\***Chorologie** : méditerranéen

\***Inflorescence** : cyme unipare hélicoïde

\***Sexualité** : hermaphrodite

\***Pollinisation** :entomogame

\***Fruit** : capsule

\***Couleur des fleurs** : jaune

\***Macule** : bleu

\***Caractérisation écologique** : friches annuelles, nitrophiles, thermophiles, estivales, Méso hydriques (Jean, 1904).

#### I.5.6. Utilisation

L'*Hyoscyamus* est une plante hallucinogène qui a été utilisée de tous temps par les "sorciers", "chamans et "guérisseurs médium". Son usage est particulièrement dangereux carla

quantité de feuille à fumer ou à ingérer pour obtenir l'effet hallucinogène est difficile à doser à forte dose, le délire est furieux avec convulsions puis coma et parfois mort ; à faible dose les effets sont juste par sympathicolytiques (**Bown, 1995 ; Chevallier, 1996**).

Les hallucinations fantastiques qui débutent 2 à 4 H après l'absorption et durent plusieurs heures sont puissantes, en Afrique orientale l'*Hyoscyamus* a été utilisé comme poison d'épreuve dans des «jugements de dieu», des ordalies. Aux Indes beaucoup de suicides ou d'empoisonnements criminels lui sont dus. (**Bown, 1995 ; Chevallier, 1996**).

Mais L'*Hyoscyamus* est aussi une plante médicinale, les formes galéniques dépendent des pays, en France on trouve la poudre de l'*Hyoscyamus*, la teinture et l'extrait mou de l'*Hyoscyamus* ; on trouvait les feuilles d'*Hyoscyamus*. Il entre dans la composition de sirops antitussifs et entrain il y a quelques années dans la composition de cigarettes et de poudre antiasthmatique (**Bown, 1995 ; Chevallier, 1996**).

Le genre *Hyoscyamus*, est surtout l'espèce niger est bien documentée dans le système traditionnel de la médecine chinoise pour son utilisation dans les crampes d'estomac, la toux lourde, les névralgies et la psychose (**Kirtikar et Basu, 1984**). Dans la médecine tibétaine, les graines sont utilisées comme vermifuge, fébrifuge et anti-tumorale. Ils sont également avérés utiles dans le traitement de l'estomac ou les douleurs intestinales, mal de dents, inflammation de la région pulmonaire et les tumeurs (**Sajeli et al., 2006**).

#### **I.5.7. Composition chimique de la plante *Hyoscyamus albus L*.**

La jusquiame et ses cousines la belladone et le datura ont une composition chimique voisine ; 15 à 20% de substances minérales (Iron., Na, Mg, K, Ca, Zn, Arsenic) et surtout 0,2 à 0,5% d'alcaloïdes tropaniques : la hyoscyamine et la scopolamine (**Pudersell, 2006**).

Toutes les parties la jusquiame en contiennent mais c'est dans les feuilles que la concentration en est la plus forte (0.03-0.17) %, les racines 1% et les grains (0.01-0.06) %. La hyoscyamine et l'atropine ont la même formule chimique et la même activité pharmacologique. La première est optiquement active, la deuxième ne l'est pas (racémique) et c'est cette dernière qui est utilisée en médecine, bien que probablement non présente dans la plante vivante. (**Pudersell, 2006**).

En plus elle contient des autres alcaloïdes mais a des concentrations très faibles comme Nortropine , belladonine , Cuscohygrine (**Teberlko, 1974 et Luna, 1995**). L'*Hyoscyamus* aussi contient des flavonoïdes glycosides (Hypersides, Quercitane), Les flavonoïdes aglycones

(Kaempferole), quelques amines volatiles (choline, pyroline), les coumarines et quelques dérivés d'alcaloïdes (Atroscine, acide gaminoburyrique), Scopetole, scopine, Tétra méthyl putrescine et les protéines (**Pudersell, 2006**).

Les grains d'*Hyoscyamus albus L*. Contiennent plusieurs lipides et acides gras insaturés (Acideolpique et l'acidepalmatique...) (**Pudersell, 2006**).

### **I.6. Intérêt thérapeutique des jusquiames**

Le genre *Hyoscyamus* fait partie des solanacées officinales, on les appelle aussi souvent les solanacées mydriatiques. Ce groupe est caractérisé par la présence d'alcaloïdes ayant tous le même noyau chimique dérivé du tropane, et des propriétés parasympholytiques provoquant en particulier une mydriase d'où leur nom, leur toxicité est connue depuis longtemps. Les drogues des plantes du genre *Hyoscyamus*, Belladone et *Datura* sont destinées à la préparation de forme galénique, la production et l'extraction d'atropine et de scopolamine et l'hyoscyamine (**Cartier et Roux, 2007**).

L'hyoscyamine est plus active que l'atropine, mais ces deux alcaloïdes possèdent les mêmes propriétés pharmacologiques.

Sur le système nerveux central, ils provoquent, à forte dose, une excitation, pouvant se traduire par un véritable délire atropinique. Cette action est peu marquée à dose usuelle, mais certains individus sont particulièrement sensibles aux effets centraux de l'atropine, en particulier les jeunes enfants et les personnes âgées (**Cartier et Roux, 2007**).

Sur le système nerveux autonome, ils ont aux doses thérapeutiques une action parasympholytique, ce sont des antagonistes de l'acétylcholine ou anticholinergiques (**Cartier et Roux, 2007**).

L'atropine inhibe les récepteurs muscariniques localisés dans les organes périphériques innervés par les fibres post-ganglionnaires du parasympholytique ce qui provoque: une mydriase, c'est-à-dire la dilatation de la pupille, avec paralysie de l'accommodation et une augmentation de la pression intraoculaire, une broncho dilatation ; une vasoconstriction ; une accélération de rythme cardiaque ; un ralentissement du péristaltisme ; un tarissement de toutes les sécrétions (salivaires, gastriques, sudorales, lacrymal, bronchiques) ; une augmentation de la pression intra-vésicale ; une action antispasmodique . Les plantes à scopolamine et à dose thérapeutique peuvent agir comme un sédatif du système nerveux central et antiparkinsonien, la scopolamine

est aussi une substance parasympholytique. Son utilisation peut entraîner des effets comparables à ceux de l'atropine mais avec un risque de somnolence (**Cartier et Roux, 2007**).

Les diverses phases de l'intoxication par la jusquiame sont les mêmes que celles que la belladone, avec cette différence qu'il y a une salivation abondante au lieu d'une sécheresse de la bouche (**Cartier et Roux, 2007**).

***Chapitre II :***  
***Les métabolites secondaires***

## II. Les métabolites secondaires

### II.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe sur la croissance et le développement des plantes (Amlan, 2010). Les métabolites secondaires constituent un ensemble de molécules qui ne sont pas strictement nécessaires à la survie d'une plante, d'une bactérie ou d'un champignon. Elles sont principalement la source d'odeurs jouant des rôles à la fois comme répulsif contre les prédateurs (concurrents écologiques), ou d'attractif : des pigments permettant de capter le rayonnement solaire mais aussi de protéger la plante contre ce rayonnement (Sylvain, 2010).

### II.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires comportent trois types :

- ✚ **Les composés phénoliques** : qui interviennent dans les interactions plante-plante (Allelopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera la lignine, les flavonoïdes. Les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins (Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998).
- ✚ **Les terpénoïdes** : Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le  $\beta$ -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire (Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998).
- ✚ **Les composés azotés** : qui comprennent les alcaloïdes et les glycosides. Ces derniers relarguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abimées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine; les terpènes, les polyisoprènes (Harborne et al., 1986).

## II.3. Les composés phénoliques

### II.3.1. Les polyphénols

#### II.3.1.1. Définition des polyphénols

Les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 1999, Lugasi *et al.*, 2003). Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles et ayant outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Dangles *et al.*, 1992; Hagerman *et al.*, 1998; Sarni-Manchado *et al.*, 2006).

#### II.3.1.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes. • Les tanins. • Les stilbènes. • Les lignanes et les coumestanes.
- Autres phytoestrogènes. • Les saponines (triterpénoïdes). • Les phytostérols et les phytostanols (Hagerman *et al.*, 1998).

#### II.3.1.3. Biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont:

##### ❖ La voie de l'acide shikimique

Dans cette voie, l'érythrose-4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (Haslam, 1994 ; Dewick, 1995) Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier *et al.*, 2006).

##### ❖ La voie de l'acide malonique (celle issue de l'acétate)

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger *et al.*, 1964; Richter 1993).

#### II.3.1.4. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La

capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Bahorun, 1997). Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (Babar Ali *et al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh *et al.*, 2008) et antioxydants (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

### II.3.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", qui signifie "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (Yakhlef, 2010).

#### II.3.2.1. Structure chimique et classification des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane, qui constitué de deux noyaux aromatiques A ; B et d'un hétérocycle oxygéné central C (Bouzide, 2009)

##### a) Les flavones

Le noyau flavone est dérivé du noyau flavane de base, dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) par la fixation à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison.

Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline. Elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides (Figure 2).

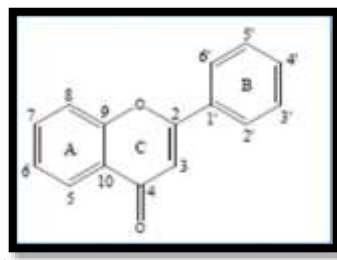
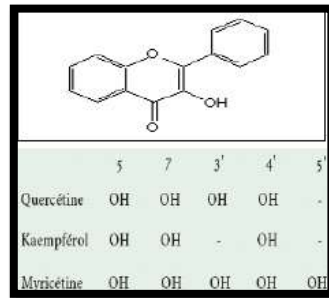


Figure 2 : Structure de base des flavones (Bruneton, 1999).

##### b) Les flavonols

Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement -OH en position C-3. En plus de ce radical -OH, les diverses molécules de flavonols en comprennent deux, trois, quatre ou cinq autres radicaux. Les flavonols sont beaucoup plus abondants dans le règne végétal

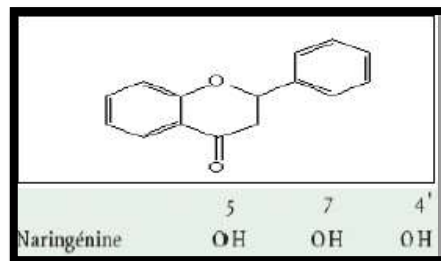
que les flavones et leurs concentrations sont plus élevées. Les principaux sont la quercétine, kaempférol et myricétine (**Figure 3**).



**Figure 3** : Structure de base des flavonols (**Bruneton, 1999**).

### c) Les flavanones

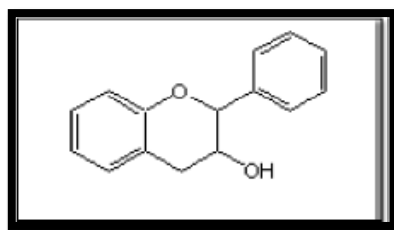
Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en position 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie. Elles existent sous forme libre ou sous forme glycosylée. Sous forme libre, les carbones en position 5 et 7 sur le cycle A peuvent être hydroxylés ou méthoxylés. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5' et 6'. Les deux principales flavanone sont la Naringénine et l'hespérétine (**Figure 4**)(**Havsteen, 2002**).



**Figure 4** : Structure de base des flavanones.

### d) Les flavanols

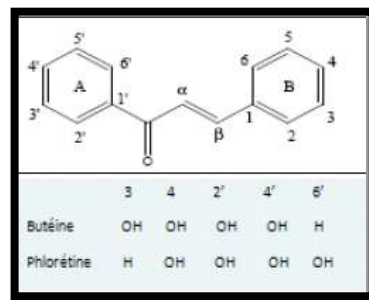
Ils se caractérisent par l'absence de l'atome d'oxygène dans la position 4, c'est la différence entre les flavanones et les flavanols. Les flavanols les plus connus sont le catéchine et L'épicatechine (**Figure 5**) (**Cowan, 1999**).



**Figure 5** : structure de base des flavonols (**Bruneton, 1999**).

### e) Les chalcones

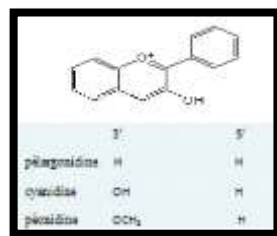
Les chalcones et principalement les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonée cétonique  $\alpha$  et  $\beta$  insaturée (saturée dans le cas des dihydrochalcones). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. Les plus abondants sont les butéine et les phlorétine (**figure6**).



**Figure 6** : Structure de base des chalcones (**Bruneton, 1999**).

#### f) Les anthocyanidines

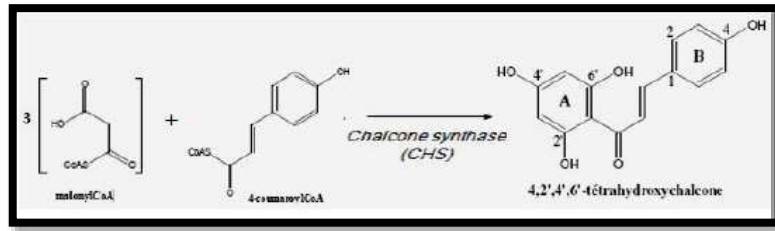
Les anthocyanidines ne possèdent pas de groupe -OH à la position 4 et ont une double liaison entre les positions 3 et 4. Les plus importants sont les pélagonidines, les cyanidines et les péonidines (**Figure 7**).



**Figure 7** : Structure de base des anthocyanidines (**Bruneton, 1999**).

#### II.3.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation. Cette dernière est catalysée par la chalconesynthase formée d'une unité phényle propanoïde (4-coumaroyl-CoA) avec trois unités malonyl-CoA. La structure de base en C-15 sous forme d'une chalcone soit 4,2',4',6'-tetrahydroxychalcone (**Figure 8**) (**Bruneton, 1999**).



**Figure 8** : L'étape clé de la formation des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes. Elle est en équilibre avec les flavonoïdes. Cet équilibre étant contrôlé par une enzyme « la chalcone isomérase », cette dernière induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une flavanone. (**Remesy *et al.*, 1996**).

### II.3.2.3. Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (**Lee *et al.*, 1994**).

La majorité des flavonoïdes apportés par l'alimentation sont sous forme glycosylée, ils peuvent occasionnellement y être présents sous forme de aglycone (**Ishii *et al.*, 2003**).

La plupart des flavonoïdes aglycones sont hydrophobes et peuvent donc traverser passivement les membranes biologiques. Alors que la liaison d'un groupement glucidique à un composé phénolique diminue son hydrophobicité et limite sévèrement sa diffusion passive (**Williamson *et al.*, 2000**). Il semblait alors que l'absorption des flavonoïdes glycosylés ne pouvait pas avoir lieu au niveau de l'intestin grêle. Cependant, Hallman et ses collaborateurs (**1995 et 1997**)

Ces auteurs ont alors suggéré que la partie glucidique associée aux flavonoïdes facilite leur passage dans les entérocytes via le système de transport des glucides (**Hallman *et al.*, 1997**).

### II.3.2.4. Activités des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités telles que : l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, oestrogénique, antiallergique, antioxydant, cytotoxique et anti tumorale (**Atmani *et al.*, 2009 ; Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

Ils jouent un rôle important dans la protection des systèmes biologiques contre les effets néfastes des processus oxydants sur des macromolécules telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Atmani *et al.*, 2009 ; Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

Il a été constaté que les flavonoïdes réduisent le taux des lipides et de glucose chez les êtres humains et encore améliorent l'immunité humaine (**Atoui *et al.*, 2005**).

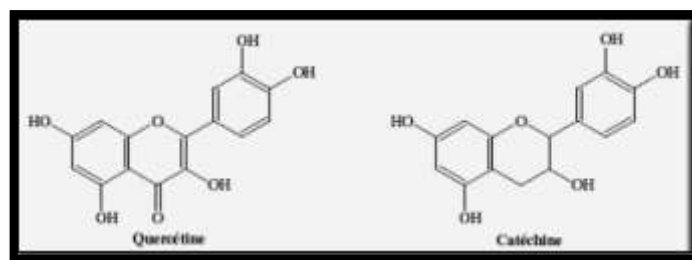
La plupart des activités biologiques des plantes dues à leurs propriétés antioxydantes car les flavonoïdes ont la capacité de réagir avec la plupart des radicaux libres. La quercétine, le kaempférol, la morine, la myricétine, la rutine, la quercétine et la silybine agissent comme antioxydants agissant en tant qu'extracteurs des radicaux libres (**Ratty, 1988**). L'activité de balayage des radicaux libres des flavonoïdes a été rapportée dans l'ordre :

myricétine > quercétine > rhamnetine > morine > diosmetine > narigénine > apigénine > catéchine > 5,7-dihydroxy-3', 4', 5'-triméthoxyflavone > robinine > kaempferol > flavone

(**Ratty, 1988**). L'effet antioxydant des flavonoïdes est dû à l'inhibition des radicaux libres et la neutralisation des enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase et encore la chélation des ions métalliques qui sont la cause de la production des ROS comme les ions du fer ( $Fe^{2+}$ ) et du cuivre ( $Cu^+$ ), mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène (**Cotelle, 2001**).

L'antioxydant est comme un agent anticancéreux dépend de sa compétence en inhibant et en inactivant les radicaux libres (**Mishra et al., 2013**). Les flavonoïdes ont la capacité de réduire les radicaux libres comme l'hydroxyle, le peroxyde et l'alkoxyde par le transfert d'un atome d'hydrogène du flavonoïde (Fl-OH) et ce dernier donne un autre hydrogène à un autre radical ce qui rend ce flavonoïde à un quinone stable (**Figure 14**) (**Mishra et al., 2013**).

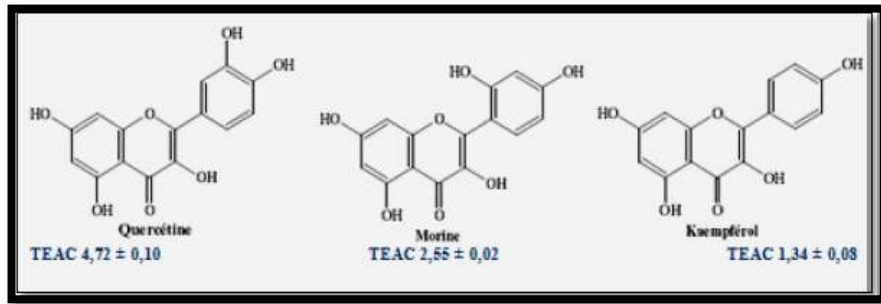
(a) : L'effet scavenger des ROS par les flavonoïdes (Fl-OH) et (b) : Les sites de liaison des métaux, le  $Me^{n+}$  : indique les ions métalliques (**Kumaret Pandey, 2013**). L'activité antiradicalaire des flavonoïdes dépend de leur structure, par exemple : les flavonoïdes qui ont une double liaison entre le carbone C2 et le C3 et un groupement carbonyle en C4 sont les flavonoïdes qui ont un effet antioxydant le plus puissant comme la quercétine qui a été découverte qu'elle a un effet antioxydant deux fois plus élevé par rapport à la catéchine (**Figure 9**) (**Kumaret et al., 2013**).



**Figure 9.** Différence entre la structure de quercétine et la catéchine (**Harborne et Williams, 2000**).

Les groupements hydroxyles en position C4' - C5' dans le cycle B et les nombres des groupements hydroxyles augmentent l'activité antioxydante des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé (**Woodman et al., 2005**). Des études faites ont montré que la morine avec deux

groupements hydroxyles et le kaempférol avec un seul groupement hydroxyle sont moins actifs que la quercétine (**Figure 10**).



**Figure 10.** Positionnement des groupements OH dans la quercétine, le kaempférol et la morine (Rice-Evans, 1996).

### II.3.3. Tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène de composés phénoliques de haut poids moléculaire, ils ont la capacité de former des complexes réversibles et irréversibles avec des protéines (principalement), des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectine... etc.), des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux (Schofield *et al.*, 2001).

#### II.3.3.1. Classification des tanins

En général, les tanins sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Khababae et Ree, 2001).

##### a) Tanins hydrolysables

Ce sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotannins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitanins).

##### b) Tanins condensés

Les tanins condensés sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavonoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse. Les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines (à partir de procyanidines) et les delphinidines (Khababae and Ree, 2001).

#### II.3.3.2. Fonctions des tanins

Les tanins sont un groupe de composés secondaires de plantes qui sont connus et employés par l'homme pendant des siècles (**Harborne, 1999 ; Schofield et al., 2001**). Ils possèdent des activités antidiurétiques, antidiarrhéiques, antiinflammatoires, antioxydantes et hémostatiques (**Dolara et al., 2005**), antibactériennes, antivirales, antiinflammatoires et antimutagènes et sont utilisés encore contre les blessures et les brûlures.

Encore, ils ont un effet vasoconstricteur et hémostatique et sont utilisés dans le traitement des hémorroïdes (**Bruneton, 1999**).

## II.2. Les polyphénols et les flavonoïdes du genre *hyoscyamus*

Le screening phytochimique a révélé que l'extrait méthanolique est riche en alcaloïdes et terpénoïdes et de plus les tanins et les polyphénols. L'analyse quantitative a montré que l'extrait méthanolique d'*H. albus* est riche en polyphénols totaux avec une teneur de  $111.1 \pm 1.82 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Le dosage par spectrophotométrie des flavonoïdes a montré la présence de ces substances dans tous les extraits méthanoliques avec des valeurs  $24.31 \pm 0.62 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait respectivement (**Benhouda, 2015**).

L'espèce *Hyoscyamus niger*, qui est très souvent confondu avec *Hyoscyamus albus*, et aussi une source très importante en alcaloïdes de tropane anticholinergique, outre elle contient les alcaloïdes non-tropane tel que la calystégine qui a une activité inhibitrice des glycosidases (**Sajeli et al., 2006**), des teneurs importantes en coumarines, flavonoïdes, stérols, tanins terpènes ont été également signalées par **Khan et Gilani, (2008)** dans les extraits bruts de la même espèce.

D'après **Harrison et Bartels (2006)**, les tanins et les polyphénols sont parmi les composés très actifs chez les plantes du genre *Hyoscyamus* et la famille des solanacées en général. (**Benhouda, 2015**).

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

D'après l'étude des activités pharmacobiologiques des extraits d'*Hyoscyamus albus* L. présentée par : Mlle. **Benhouda (2015)** ; Les résultats de l'activité analgésique montre que l'extrait MeOH a un effet analgésique centrale par la méthode de stimulus thermique et encore une activité antinoceptive périphérique avec le test de l'acide acétique et le test forma lin. Dans l'activité antipyrétique, l'extrait MeOH a réduit la température corporelle d'une façon significative et d'une manière dose-dépendante la fièvre induite par la levure de bière.

Concernant l'activité anti-inflammatoire, l'extrait MeOH a pu inhiber l'inflammation induite par la carragénane, les médiateurs chimiques (histamine et la sérotonine) et la solution formale d'une façon significative ( $P \leq 0.05$ ) et dose-dépendante **Benhouda (2015)**.

Tandis que l'activité antidiabétique de ce extrait, le diabète millitus induit par le Streptozotocine, suivi par l'administration orale des deux doses 100 et 200 mg /Kg p.c. de l'extrait MeOH aux rats diabétiques durant 30 jours a réduit d'une manière significative le taux de glucose, le bilan lipidique ainsi que HbA1C ont favorisé la sécrétion de l'insuline et l'élévation du taux de glycogène hépatique **Benhouda (2015)**.

A propos de l'activité cytotoxique de HAMEOH vis à vis aux lignées cellulaires MCF7, HeLa et PC-3, les concentrations testés de HAMEOH montrent une IC50=112.01 µg/ml, 129.23 µg/ml et 142.35 µg /ml contre PC-3, HeLa et MCF7 respectivement. Mercapto montre une IC50= 30.17 µg/ml, IC50= 40.21 µg /ml et 46.01µg/ml pour PC-3, HeLa et MCF7 respectivement.

Les extraits (EEp, EChl et EMe) de plante étudiée ont montré un effet antioxydant important par le test de blanchissement de β-carotène et le test au DPPH. Et avec une forte activité antibactérienne mais sans effet anticandidose **Benhouda (2015)**.

# ***Chapitre III :***

L'activité antioxydante

### III. L'Activité antioxydante

#### III.1. Définition

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

#### Définition d'un radical libre

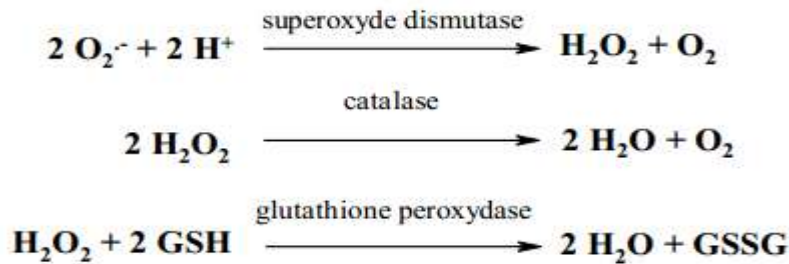
Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

#### III.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**).

##### III.2.1. Les antioxydants primaires

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



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

### III.2.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Figure 11) (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... etc (Kohen et Nyska, 2002).

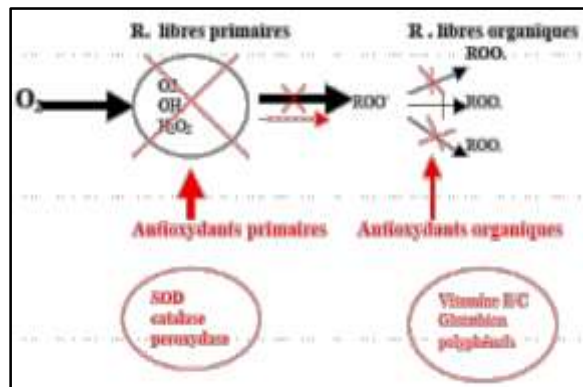


Figure 11 : les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

### III.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal *et al.*, 2002).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

### III.4. Mécanismes d'action des antioxydants

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

### III.5. Les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante

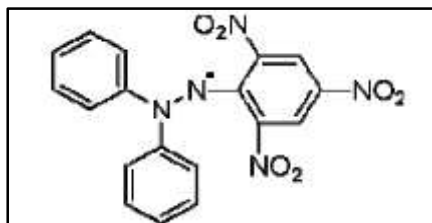
Les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante sont réparties en plusieurs tests (Tableau 1) :

Tableau 1 : description de quelques tests antioxydants *in vitro* chimique.

QUELQUES TESTS <i>IN VITRO</i> CHIMIQUES				
Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanismes réactionnels	• transfert d'électron majoritaire	• transfert d'électron et de proton	•transfert d'électron	• transfert de proton
Nature des molécules testées	• hydrophiles et lipophiles	• hydrophiles et lipophiles	•hydrophiles	•hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	• CI <sub>50</sub> et/ou en mg ou µmol équivalent Trolox <sup>®</sup>	• CI <sub>50</sub> et/ou en mg ou µmol équivalent Trolox <sup>®</sup>	•en mg ou µmol équivalent Fe <sup>2+</sup>	• CI <sub>50</sub> et/ou en mg ou µmol équivalent Trolox <sup>®</sup>
Avantages	•très facile à mettre en œuvre • peu coûteux	• très facile à mettre en œuvre • cinétique de réaction très rapide • peu coûteux	• très facile à mettre en œuvre •peu coûteux	•facile à mettre en œuvre •couteux (nécessité d'un fluorimètre) • Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO')
Inconvénients	• encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires •interférences possibles à 515 nm •forte dépendance au pH et au solvant • radical inexistant <i>in vivo</i>	• produits de dégradation antioxydants • radical inexistant <i>in vivo</i>	•pH utilisé non physiologique •interférences possibles à 595 nm •interférences avec composés possédant E° < 0,77 V	• mécanismes de génération des ROO' non physiologique • interférences possibles des protéines
Références	[Brand-Williams <i>et al.</i> , 1995; Pinelo <i>et al.</i> , 2004]	[Awika <i>et al.</i> , 2003; Arts <i>et al.</i> , 2004; Osman <i>et al.</i> , 2006]	[Benzie et Strain, 1996; Ou <i>et al.</i> , 2002]	[Ou <i>et al.</i> , 2001; Lopez <i>et al.</i> , 2003]
[Prior <i>et al.</i> , 2005]				

### III.5.1. Test au DPPH

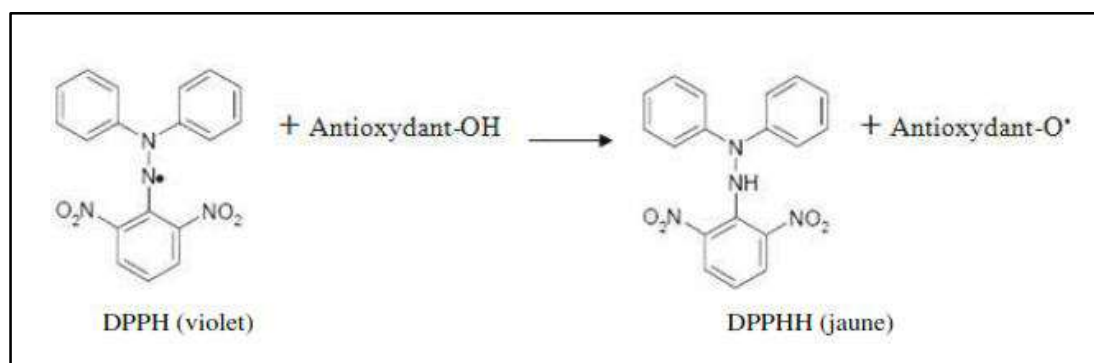
Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha, \alpha$ -diphényl $\beta$  picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958; Brand-Williams *et al.*, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Figure 12) (Popovici *et al.*, 2009).



**Figure 12** : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici *et al.*, 2009).

#### III.5.1.1.Principe

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphényl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Figure 13) (Maataoui *et al.*, 2006).



**Figure 13** : Réaction de test DPPH (2.2 Diphényl 1 picrylhydrazyl) (CONGO, 2012).

#### III.5.1.2. Dosage

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lutz *et al.* 2008)(Athamena *et al.*, 2010). 50 $\mu$ l de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanoïque du DPPH

(0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (**Bougandoura, 2013**).

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

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

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

**-Abs Échantillon** : Absorbance de l'échantillon.

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

### III.6. L'activité antioxydante du genre *hyoscyamus*

D'après l'étude de **Benhouda (2015)** en thèse de doctorat, tous les extraits testés d'*H. albus* inhibent d'une manière hautement significative ( $P \leq 0,0001$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène par rapport au contrôle négatif qui représente presque 100 % de la peroxydation.

L'inhibition la plus élevée a été fournie par l'EMe d'*H. albus* (76.00 %), l'ordre décroissant des extraits testés en terme d'activité antioxydante relative est comme suit :  $\alpha$ -tocophérol > EMe (*H. albus*) > EChl (*H.albus*) > EEp (*H.albus*).

Malgré cette inhibition, l'activité des extraits des feuilles d'*H. albus* reste significativement inférieure ( $P \leq 0,05$ ), par rapport au contrôle positif ( $\alpha$ - tocophérol).Les extraits (EEp, EChl et EMe) des plantes étudiées ont montré un effet antioxydant important par le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène et le test au DPPH. L'activité antiradicalaire de l'EEp des feuilles d'*H. albus* n'a pu être réellement quantifiée car aux concentrations maximales testées, il ne capte pas plus de 40 % du DPPH.

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les extraits EChl (*H.albus*) et EMe(*H.albus*) possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante dont l'EMe (*H.albus*) a donné une IC50 de l'ordre de 75.19 µg/ml. (**Benhouda, 2015**)

# **Partie pratique**

# *Chapitre I :*

Matériels et méthodes

## I. Matériel et Méthodes

### I.1. Objectif du travail

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

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

#### I.2.1. Matériel végétal

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

Après la récolte en mois de Juin les plantes ont été séchées sous abri et l'air libre, ensuite broyées et la poudre a été conservée dans des papiers KRAFT.

#### I.2.2. Les phytohormones utilisées

Les régulateurs de croissance jouent un rôle clé pour développer un mode de croissance spécifique dans les cellules ou les tissus cultivés (**Gruen, 1959**).

#### Les cytokinines

Les cytokinines ont été définies comme des composés qui, associées à l'auxine, induisent la division cellulaire (**To et Kieber ,2008**). Les cytokinines joueraient un rôle

déterminant au cours du développement des embryoides en embryons somatiques de stade cotylédonaire (Sakakibara, 2006).

BAP 6-benzyladénine ou la 6-benzylamino purine, une synthèse Composé (la forme naturelle étant la cytokinine B) couramment utilisée dans la culture des tissus végétaux. La 6-benzylaminopurine, la benzyl adénine ou la BAP est une cytokinine synthétique de première génération qui provoque une croissance des plantes et des réponses au développement. (D'Agostino et Kieber 1999).

BAP augmente la production d'alcaloïdes dans *Catharanthus roseus* (Zhao *et al.*, 2000). Et l'ajout de BAP au centre de la plantation des racines d'une plante *Artimisinin annua* Conduit à l'accumulation d'un composé Artemisinique (Bunk, 1997), Le composé kinitine lorsqu'il est apposé sur la plante *H. albus L.* Conduit à l'accumulation d'alcaloïdes et Tropane (Miguel et Barroso, 1994)

### Les auxines

La phytohormone auxine a été identifiée dans de nombreuses espèces de la lignée Verte (Johri, 2008).

IAA (Indol Acétique Acide) est principalement produit dans les méristèmes apicaux et les jeunes feuilles de plantes. En 2001 (Ljung *et al.*, 2001). La biosynthèse Auxin chez les plantes est assez complexe. Des voies multiples qui contribuent à la biosynthèse d'auxine de novo ont été postulées. Il existe deux voies principales largement acceptées pour synthétiser IAA les chemins indépendants de Trp et Trp (Mano et Nemoto 2012).

IAA augmente la production d'alcaloïdes dans *Hyoscyamus albus L* (Ibrahim *et al.*, 2009), Il augmente également l'accumulation d'un composé artemisinique A la racine de la plante *Artimisinin annua* (Bunk, 1997), Et il augmente l'accumulation de substances actives dans les racines d'une plante *Targetes Patula* (Arroo *et al.*, 1995)

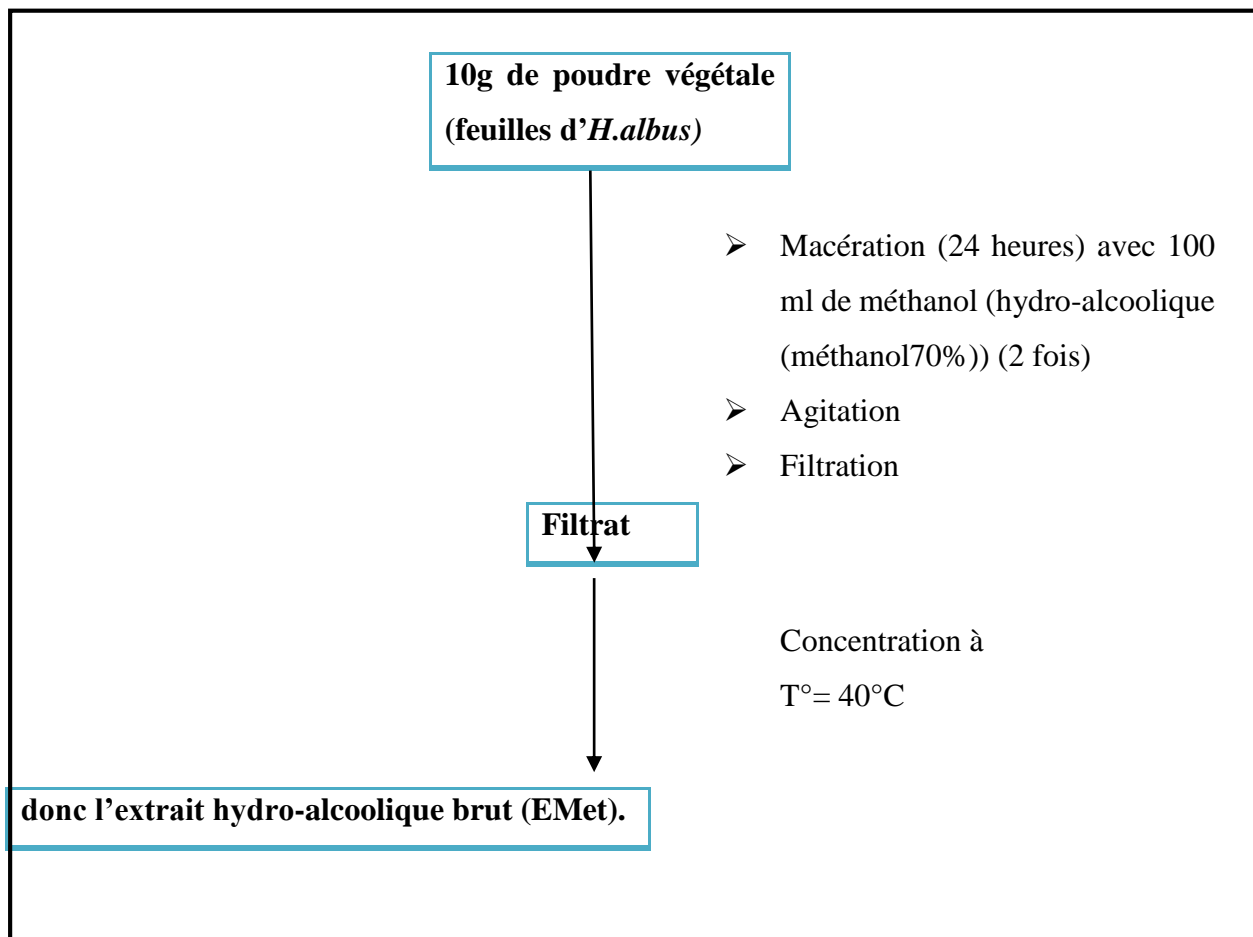
### I.2.3. Préparation des extraits

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

L'extraction est effectuée selon la méthode de (Diallo *et al.*, 2004) avec quelques modifications.

On a préparé l'extraits hydro-alcoolique (méthanol 70%) dont 10 g de poudre végétale de chaque traitement a été reprise avec 100 ml de méthanol à 70% dans un erlenmeyer de 200 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 24 heures (deux fois pour la même poudre) à la

température du laboratoire. Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur (HAHNVAPOR) sous vide à la température de 40 °C. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut (EMet) (**Figure14**).



**Figure14.** Schéma d'extraction par le solvant organique des feuilles d'*H.albus* (Diallo *et al.*, 2004).

#### I.2.4. Calcul du rendement des extraits

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de l'extrait après évaporation sur la quantité de poudre végétale utilisée (Loubaki *et al.*, 1999)

Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par La relation de (Pratima et Mathad, 2011) la formule suivante :

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

R% : rendement de l'extrait en pourcentage

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

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

### I.2.5. Analyse qualitative des extraits d'*H. albus*

#### I.2.5.1. Screening phytochimique d'extrait d'*H. albus*

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait méthanolique (N'Guessan *et al.*, 2009).

##### A. Mise en évidence des tanins

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

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (Laisser reposer quelques minutes), ce qui indique la présence de tanins galliques et la couleur brune verdâtre indique la présence de tanins catéchiques (Dohou *et al.*, 2003).

##### B. Mise en évidence des saponosides

➤ Test 1 : 5 ml de l'extrait brut méthanolique sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (Bruneton, 1999).

➤ Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (Benmahdi, 2001).

##### C. Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d'AlCl<sub>3</sub> (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (N'Guessan *et al.*, 2009).

##### D. Mise en évidence des composés réducteurs

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

A 1 ml de l'extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl<sub>3</sub> et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl<sub>3</sub>.

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

Parmi les composés réducteurs on note les coumarines.

##### E. Mise en évidence des coumarines

Parmi les composés réducteurs on note les coumarines, la mise en évidence de ces dernières se fait selon la méthode décrite par (Benmahdi, 2001). Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de

NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines.

#### *F. Mise en évidence des alcaloïdes*

##### **Test de Mayer :**

- Hgcl (13,5g) dans 40ml d'eau distillée .
- KI (49,8g) dans 40ml d'eau distillée.

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

5ml de solution ou extrait brut, ajouter quelques gouttes du réactif **Mayer**. La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels. (**Tiwari et Kakkar, 1990**).

##### **Test de Dragendorf**

3 ml de chaque extrait ont été mélangés avec 5ml d'acide chlorhydrique (Hcl) à 1%, après incubation dans un bain marie chaud, quelques gouttes de réactif de Dragendoff ont été rajoutées, la présence d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (**Evans, 2002**).

#### *G. Mise en évidence des quinones*

1g de matériel végétale sec et broyé et placé dans des tubes avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole après agitation et une repose de 24heures, après les extraits sont filtrés la présence de quinones libers est confirmée par l'ajoute quelque goutte de NaOH 10% lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Ribérreau, 1968**).

#### *H. Mise en évidence des coumarines*

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

L'observation d'une fluorescence bleue intense indique que leur présence (**Bachiaga, 2011**).

### **I.3. Etude quantitative**

#### **I.3.1. Dosage des polyphénols**

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de (**Singleton et al., 1999**): utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. 200µl de l'extrait dilué 10 fois est ajouté à 1 ml de réactif de Folin–Ciocalteu dilué suivi par une incubation de 5 min, plus 800 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, le mélange est incubé pendant 90 min.

L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic) (Boizot et charpentier, 2006).

La teneur en poly phénols a été exprimée en microgrammes équivalents de l'acide gallique par grammes du poids d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mgE}$ ) à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique présentée dans la (figure 15) ci-dessous.

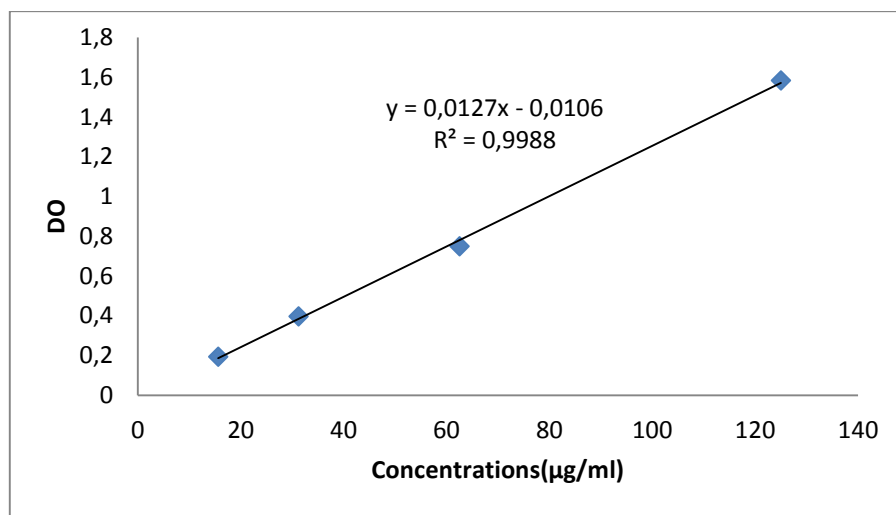


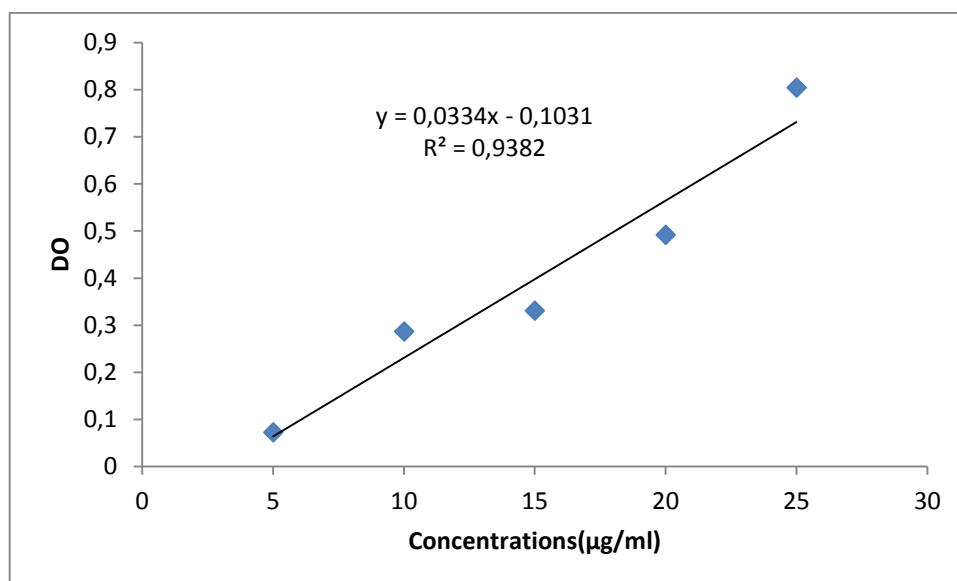
Figure15 : Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique

### I.3.2. Dosage des Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits sont de couleur jaune absorbé dans le visible à 420 nm (Ordenez *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes des différents extraits de la plante traitée par les phytohormones ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium 0,5 ml de  $\text{AlCl}_3$  (2%) est ajouté au 0,5 ml de l'extrait méthanolique puis le mélange est incubé pendant 10 min, la lecture s'effectue à 420nm en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic).

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mgE}$ ) à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine présentée dans la (figure 16) ci-dessous.

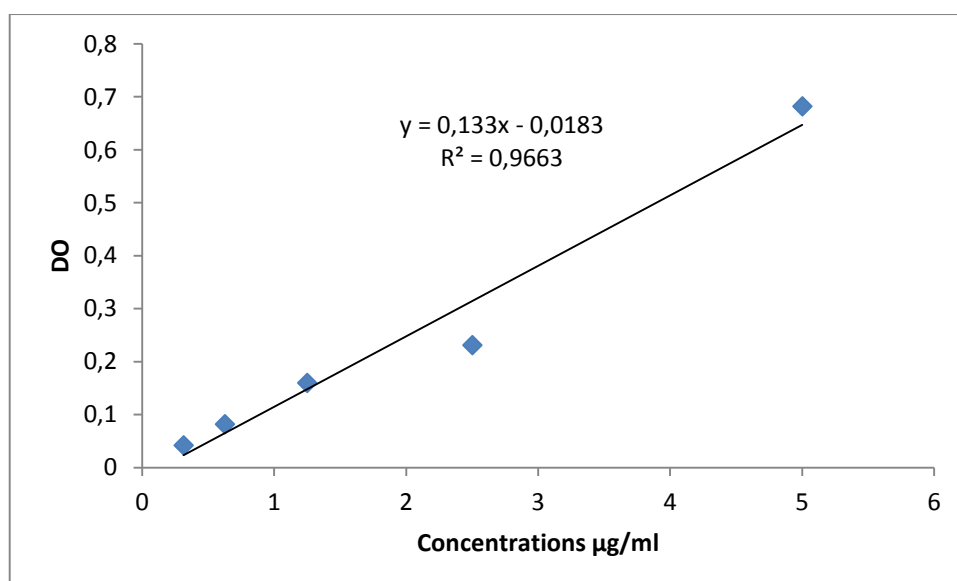


**Figure16 : Courbe d'étalonnage de la Quercitine**

### I.3.3. Dosage des Tanins

50µl des extraits bruts est mélangé avec 500 µl de la vanilline (4%), 1,5 ml de HCl concentré est ajouté au mélange suivi par une incubation de 20min à une température ambiante et la lecture s'effectue en utilisant le spectrophotomètre heliose (thermo spectronic).

La teneur en Tanins a été exprimée en milligrammes équivalents de catéchine par grammes du poids d'extrait (µg ECT/mgE) à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine présentée dans la (**figure 17**) ci-dessous.



**Figure17 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine**

#### I.4. Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Le test de DPPH est réalisé selon la méthode décrite par Bruits et Bucar (1996) ; où 200µl de chacun des extraits méthanoliques de la plante traitée par les phytohormones sont mélangées avec 1,8ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après 30 min d'incubation, l'absorbance est lue à 517nm. Dont le contrôle positif est l'acide ascorbique.

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

Pourcentage d'inhibition : Pourcentage d'inhibition du DPPH (**I%**) est calculé de la manière suivante (Njar *et al.*, 1995 ; Malairajan *et al.*,2007):

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

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

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

#### I.5. Analyse statistique des données

Les analyses de variance ont été effectuées par le logiciel SAS et l'analyse des composantes principales des résultats a été réalisée par le logiciel statistique STATISTICA

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

***Chapitre II :***  
***Résultats et discussion***

## II. Résultats et discussion

Ce chapitre présente tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs discussions.

### II.1. Etude phytochimique

#### II.1. Rendements des extraits bruts

Les extraits de la plante *H. abus* L. traitée par les différents phytohormones BAP et IAA avec les doses 0,10 et 20mg/L, nous a permis de déterminer les rendements de leurs extraits bruts et qui ont présenté une différence significative entre eux et entre les traitements (**Tableau 2**).

**Tableau 2 : les rendements des extraits**

Les traitements	Le rendement (%)
Témoin	14,93
BAP (10mg/l)	17,88
BAP (20mg/l)	26,88
IAA (10mg/l)	25,62
IAA (20mg/l)	22,95
BAP X IAA (10x10mg/l)	10,43
BAP X IAA (10x20mg/l)	10,76
BAP X IAA (20x10mg/l)	11
BAP X IAA (20x20mg/l)	11,62

D'après les résultats mentionnés dans le **tableau (2)** les rendements des extraits des traitements par les phytohormones séparés sont augmentés par rapport au témoin non traité et le meilleur rendement est donné par le traitement avec le BAP (20mg/L)( 26,88%) par contre les traitements avec les phytohormones interagées a diminué les rendements des extraits par

rapport au témoin non traité qui a donné (14,93%) et les traitements avec les phytohormones séparées dont le faible rendement est enregistré par le traitement avec BAPXIAA (10x10mg/L) (10,43%). Donc on peut dire que l'interaction de phytohormones utilisées a un effet négatif par diminution sur le rendement des extraits.

### II.1.2. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique des extraits des différents traitements par le BAP et IAA avec les doses 0,10 et 20mg/l séparés et interagés sont présentés dans le (tableau 3) ci-dessous

**Tableau 3 : Résultats du screening phytochimique des extraits methanoliques de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones**

Les traitements	Les flavonoïdes	Les tanins	les saponosides	les coumarines	les alcaloïdes	les quinones	les composés réducteurs
<b>Témoin</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAP (10mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAP (20mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>IAA (10mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>IAA (20mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAPXIAA (10x10mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAPXIAA (10x20mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAPXIAA (20x10mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+
<b>BAPXIAA (20x20mg/l)</b>	++	+	-	+	+++	+	+

Tous les résultats du screening phytochimique des différents extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones sont similaires donc il n'y a pas un effet des phytohormones sur la présence des différents métabolites secondaires testés et ces résultats montrent que les différents extraits méthanoïques de la plante *H. albus* L. contiennent du : flavonoïdes, tanins, coumarines, quinones, composés réducteurs et alcaloïdes et ne contiennent pas des saponosides. Ce qui confirme les travaux de **Benhouda et al. (2014)** qu'ils ont trouvé que la même espèce récoltée à Batna contient aussi les mêmes métabolites qui a révélé la présence de flavonoïdes, saponosides, tanins et alcaloïdes chez l'*Hyoscyamus albus* L.

La richesse du plante *H. albus* L. par les métabolites secondaires à intérêt thérapeutique pourrait expliquer son usage traditionnel (**Nabil et al., 2009**) .

## **II.2. Etude quantitative des composés phénoliques**

### **II.2.1. la teneur en polyphénols**

L'analyse quantitative des extraits des traitements de la plante *H. albus* L. par les phytohormones en polyphénols a été déterminée à partir de l'équation de la régression de la courbe d'étalonnage exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent de l'acide gallique par mg de l'extrait (**tableau4**).

**Tableau 4 : Teneur en polyphénols de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones**

Les traitements	Teneur en polyphénols ( $\mu\text{gEAG/mg E}$ )
Témoin	354,26 $\pm$ 1,36
BAP (10mg/l)	198,33 $\pm$ 0,51
BAP (20mg/l)	38,85 $\pm$ 1,37
IAA (10mg/l)	37,46 $\pm$ 1,36
IAA (20mg/l)	81,64 $\pm$ 0,89
BAPXIAA (10x10mg/l)	192,94 $\pm$ 0,50
BAPXIAA (10x20mg/l)	244,44 $\pm$ 1,84
BAPXIAA (20x10mg/l)	67,63 $\pm$ 1,55
BAPXIAA (20x20mg/l)	56,07 $\pm$ 2,86

L'analyse de variance des différents traitements montre qu'il y a une différence significative entre les différents traitements ( $p < 0,001$ , annexe 03) et les teneurs en polyphénols des extraits de ces traitements, car les groupes homogènes sont bien représentés dans la (**figure18**).

La (**figure18**) montre les résultats de la teneur en polyphénols des extraits des différents traitements dont la meilleure teneur est obtenue par le témoin non traité avec une teneur égale à (354,26 $\pm$ 1,36) $\mu\text{g EAG/mg E}$  suivi par le traitement par BAP X IAA avec les doses (10 X 20 )mg/L par une moyenne de (244,44 $\pm$ 1,84)  $\mu\text{g EAG/mgE}$ ; Car nous constatons que toutes les teneurs en polyphénols des différents traitements sont inférieures à celles présentées par rapport au témoin non traité ce qui explique l'effet des phytohormones utilisées l'auxine: IAA et le cytokinine: BAP qui ont un effet de diminution sur l'accumulation des polyphénols contrairement à ce qui est trouvé par **KADI et al. (2013)** qui a montré que par les mêmes traitements la quantité des autres métabolites secondaires comme les alcaloïdes sont

doublée deux fois. On peut dire d'après tout ça que l'effet de phytohormones utilisées a orienté la plante vers la production et l'accumulation des alcaloïdes en premier temps par l'activation du gène de l'enzyme (H6H) Hyoscyamine 6 $\beta$ -hydroxylase que la production des polyphénols et ces phytohormones ont activé le gène de la production des alcaloïdes (Elizab et and Sarah, 2009).

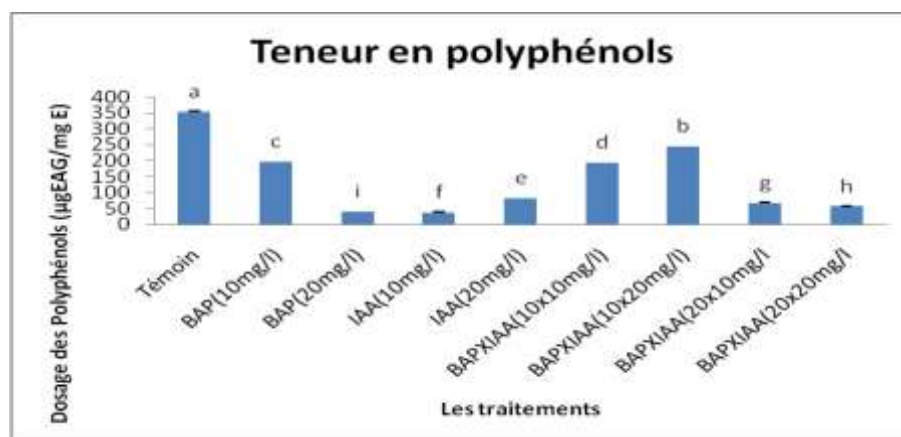


Figure 18 : Les teneurs en polyphénols

### II.2.2. La teneur en flavonoïdes

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

**Tableau 5 : Teneur en flavonoïdes de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones**

Les traitements	Teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{gEQ}/\text{mg E}$ )
Témoin	163,65 $\pm$ 1,73
BAP (10mg/l)	73,58 $\pm$ 2,51
BAP (20mg/l)	19,17 $\pm$ 0,55
IAA (10mg/l)	47,08 $\pm$ 1,70
IAA (20mg/l)	41,92 $\pm$ 0,66
BAPXIAA (10x10mg/l)	87,01 $\pm$ 1,18
BAPXIAA (10x20mg/l)	102,95 $\pm$ 1,56
BAPXIAA (20x10mg/l)	36,53 $\pm$ 0,50
BAPXIAA (20x20mg/l)	36,42 $\pm$ 1,16

L'analyse de variance des différents traitements a montré qu'il y a une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes et entre les traitements ( $p < 0,001$ , annexe 02) ce qui reflète la distribution des groupes homogènes présentés dans la (**figure19**).

Les résultats de la teneur en flavonoïdes sont présentés dans le (**tableau 5**) et la (**figure19**), le témoin non traité possède une teneur la plus élevée de l'ordre de (163,65 $\pm$ 1,73 $\mu\text{g EQ}/\text{mgE}$ ) suivi par le traitement par BAPXIAA (10x20mg/l) (102,95 $\pm$ 1,56  $\mu\text{g EQ}/\text{mgE}$ ), ces teneurs sont assez importantes par rapport aux autres traitements. Le faible rendement est trouvé chez le traitement par BAP (20mg/l) avec (19,17 $\pm$ 0,55 $\mu\text{gEQ}/\text{mgE}$ ).

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

l'effet des conditions de la culture et que les phytohormones utilisées ont un effet d'accumuler les alcaloïdes (Trease et Evans, 1996)

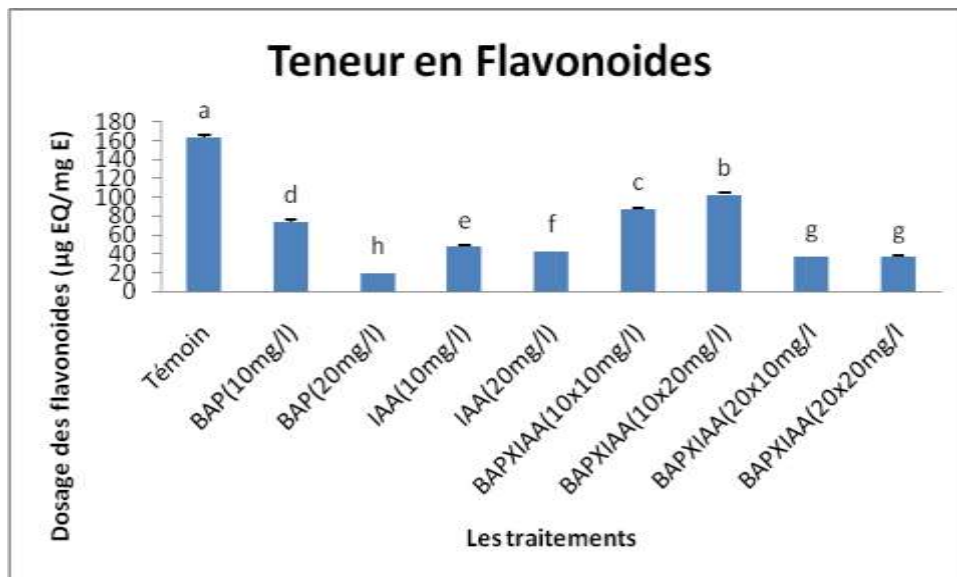


Figure 19 : Teneurs en flavonoïdes

### II.2.3. la teneur en tanins

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

L'analyse de variance des différents traitements a montré qu'il y a une différence significative entre les traitements et entre les teneurs en tanins et de ces traitements ( $p < 0,001$ , annexe 04).

Les résultats de la teneur en tanins sont présentés dans le (tableau 6) et la (figure 20).

Tableau 6 : Teneur en tanins de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones

Les traitements	Teneur en tanins ( $\mu\text{gECT}/\text{mg E}$ )
Témoin	100 $\pm$ 1
BAP (10mg/l)	54,4 $\pm$ 0,60
BAP (20mg/l)	17,41 $\pm$ 0,48
IAA (10mg/l)	11,91 $\pm$ 0,53
IAA (20mg/l)	15,11 $\pm$ 0,63
BAPXIAA (10x10mg/l)	34,91 $\pm$ 0,07
BAPXIAA (10x20mg/l)	35,47 $\pm$ 0,53
BAPXIAA (20x10mg/l)	22,59 $\pm$ 0,21
BAPXIAA (20x20mg/l)	8,66 $\pm$ 0,20

Les tanins de tous les extraits ont des teneurs varient entre (100 $\pm$ 1) et (8,66 $\pm$ 0,20)  $\mu\text{g ECT}/\text{mgE}$  dont l'extrait du témoin possède teneur la plus importante par rapport aux autre traitements. Les phytohormones utilisées ont présenté un effet de diminution sur l'accumulation des tanins par rapport au témoin non traité et la faible teneur est enregistrée chez le traitement par BAPXIAA avec les fortes doses.

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

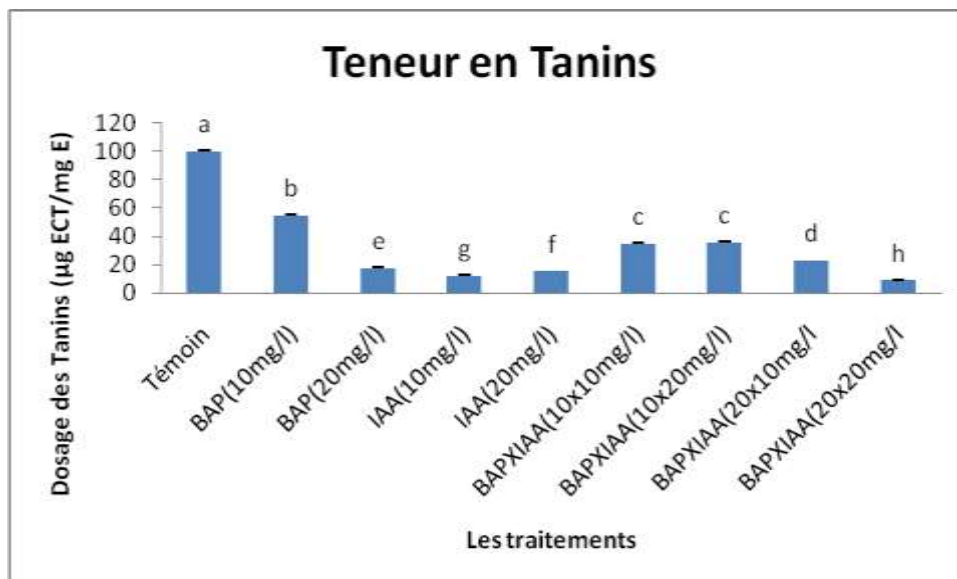


Figure 20 : Teneurs en tanins

Les phytohormones favorisent l'absorption des minéraux surtout les cations comme l'azote pour l'utiliser dans la production des alcaloïdes tropaniques au lieu de produire les autres métabolites secondaire qui sont présentés en quantité moins importante que les alcaloïdes (Christen *et al.*, 1992), et d'après Dodds et Roberts (1995) il y a des auxines inhibiteurs de la production des métabolites secondaires.

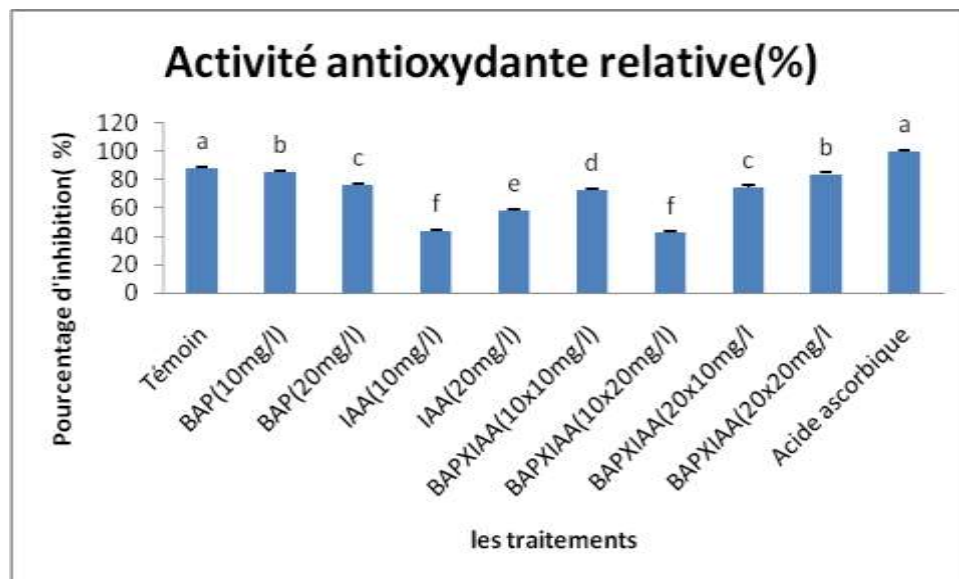
### II.3. Evaluation de l'activité antioxydante relative

L'analyse de variance montre que tous les extraits méthanoliques des différents traitements de la plante *H. albus* L. présentent des activités antioxydantes significativement différentes et les traitements aussi présentent des différences significatives entre eux ( $P < 0.001$ , annexe 05). L'extrait méthanolique du témoin non traité par les phytohormones (BAP et IAA) possède le meilleur pourcentage d'inhibition de l'ordre de  $(88 \pm 1) \%$ , c'est un pourcentage très rapproché à ce qui est enregistré par le contrôle l'acide ascorbique. Les autres extraits révèlent des pourcentages variant entre  $(85,33 \pm 1,52) \%$  et  $(42,36 \pm 0,75) \%$  et se sont des pourcentages qui reflètent des activités antioxydantes relatives assez importantes formant des groupes homogènes présentés dans le (Tableau 7) et la (figure 21).

**Tableau 7 : Les pourcentages d'inhibition des extraits de la plante *H. albus* L. traitée par les phytohormones**

Les traitements	Pourcentage d'inhibition (%)
Témoin	88±1
BAP (10mg/l)	85,33±1,52
BAP (20mg/l)	76±1
IAA (10mg/l)	43,33±0,57
IAA (20mg/l)	58,33±0,66
BAPXIAA (10x10mg/l)	72,63±0,65
BAPXIAA (10x20mg/l)	42,36±0,75
BAPXIAA (20x10mg/l)	74,83±0,45
BAPXIAA (20x20mg/l)	84±1
Acide ascorbique	100±1

Les résultats du témoin et les traitements par le BAP (10mg/L), BAPXIAA (20X20mg/L) sont supérieurs à 76% présenté par l'extrait méthanoïque de la plante *H. albus* L. récoltée à Batna par (Benhouda et al., 2014).



**Figure 21 :** l'activité antioxydante relative des extraits des différents traitements par les phytohormones de la plante *H. albus* L.

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

L'analyse en composantes principales des différents paramètres mesurés (teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins, pourcentage d'inhibition) des différents extraits de la partie aérienne de la plante *H. albus* L. a permis de relever que les deux premiers axes ont les valeurs propres les plus élevées. Ils expliquent 99,13 % de la variabilité détectée, le premier axe absorbe à lui seul 80,08 %, alors que le deuxième explique 19,05 %.

La configuration des paramètres étudiés par l'APC (**figure 22**), permet de délimiter deux groupes représentés comme suit :

**Le groupe I :** regroupe l'activité antioxydante des extraits de la plante traitée par les phytohormones qui est liée positivement au premier et deuxième axe.

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

La présentation des différents traitements dans le cercle de corrélation (**figure 23**) nous a conduits à limiter deux groupes comme suit :

**Le groupe I :** il regroupe le témoin et les traitements : BAP (10mg/L), IAA (10mg/L), BAPXIAA (10X10mg/L) qui sont liées négativement avec le premier axe et positivement avec le deuxième axe par un pourcentage de corrélation (72,76%).

**Le groupe II :** regroupe les traitements par les différents phytohormones avec la dose de 20mg/L séparés ou interagés (BAP : 20mg/L, IAA : 20mg/L, BAPXIAA : 20X20mg/L) qui sont liés négativement au premier et au deuxième axe.

Et quand on fait la projection des paramètres mesurés des différents extraits des différents traitements sur les traitements utilisés, on peut révéler que le témoin non traité et les traitements à faible dose (10mg/L) ont présenté un effet positif sur l'accumulation des composés phénoliques surtout les flavonoïdes et les polyphénols et qui ont présenté une activité antioxydante relative assez importante. Les composés phénoliques possèdent une activité antioxydante très importante surtout les métabolites polaires qui sont présent en grande quantité dans les solvants polaires comme le méthanol (Yang et al., 2012 ; Roudsari et al., 2009)

L'*H. albus* L. est une plante très riche en alcaloïdes tropaniques et le traitement par les phytohormones BAP et IAA séparés et interagés a orienté la plante vers la production et l'accumulation des alcaloïdes au lieu de produire les autres métabolites comme les flavonoïdes (Kadi et al., 2013)

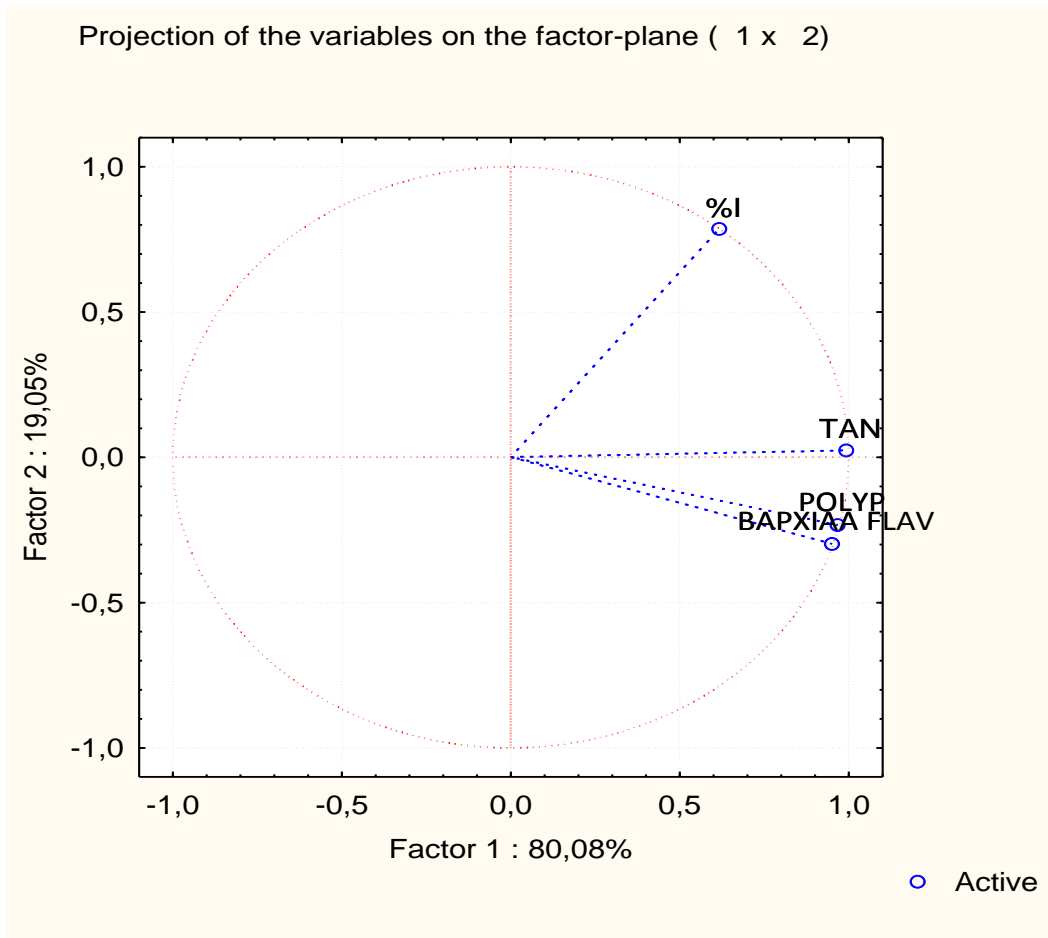


Figure 22 : Projection des paramètres mesurés sur le plan engendré par les axes 1 et 2.

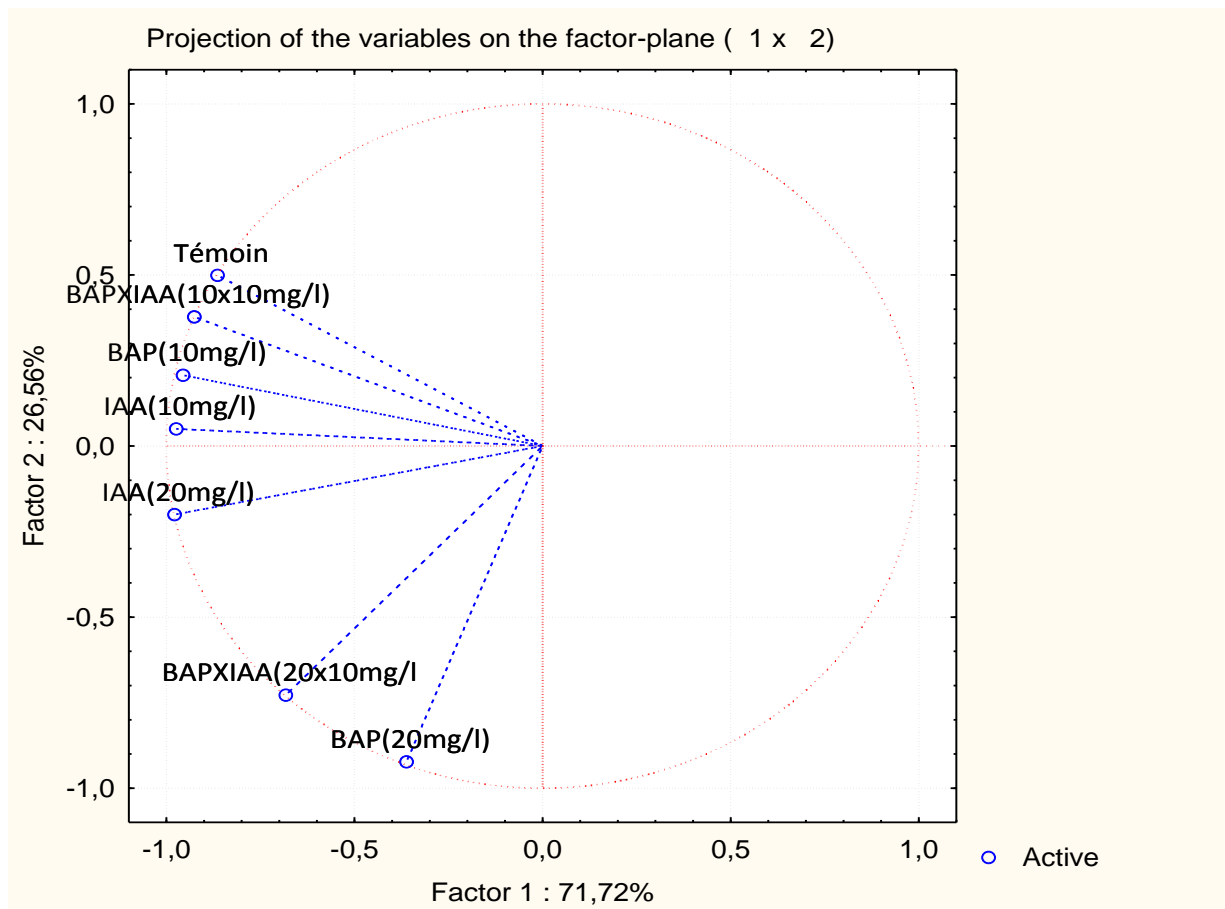


Figure 23 : Projection des traitements sur le plan engendré par les axes 1 et 2.

## II.5. Discussion générale

- ✓ La plante *H. albus* L. est une plante très riche en alcaloïdes (**Kadi et al., 2010**) donc la totalité des acides aminés sont orientés vers la production des alcaloïdes au lieu de produire les autres métabolites secondaires comme les composés phénoliques... ce qui explique les résultats trouvés, dont on a trouvé: le témoin non traité accumule des teneurs les plus importantes en composés phénoliques ( polyphénols, flavonoïdes et tanins) par rapport aux plantes traitées par les phytohormones soit séparées ou interagées. Contrairement à nos résultats, **Kadi (2010)** a trouvé que les mêmes extraits des traitements effectués sur la plante *H. albus* L. que les phytohormones utilisées ont doublés la quantité des alcaloïdes accumulés par rapport au témoin non traité et c'est l'inverse de nos résultats.
- ✓ Les phytohormones favorisent l'absorption des minéraux surtout les cations comme l'azote pour l'utilisé dans la production des métabolites secondaires (**Christen et al., 1992**), et d'après (**Dodds et Roberts ,1995**) il y a des auxines inhibiteurs de la

production des métabolites secondaires ce qui explique des fois les faibles quantités des métabolites secondaires accumulées lors des traitements avec les phytohormones interagées en comparaison avec les traitements avec les phytohormones séparées.

- ✓ Les phytohormones augmente la production métabolites secondaire dans la famille des solanacées comme la *Catharanthus roseus* (**Zhao et al., 2000**).
- ✓ Le traitement de la plante *H. albus* L. avec les phytohormones BAP et IAA séparées et interagées conduit à l'accumulation des métabolites secondaire comme les alcaloïdes (**Miguel et Barroso, 1994 ; Kadi, 2010**).
- ✓ L'auxine augmente la production des métabolites secondaire dans *Hyoscyamus albus* L. et d'autre plantes médicinales (**Ibrahim et al., 2009 ; Arroo et al., 1995**),
- ✓ Les phytohormones augmentent la production d'une enzyme (N-Methyl Putrescine Transférase) responsable de produire métabolites secondaire dans *Hyoscyamus albus* L. (**Elizabet and Sarah, 2009**)
- ✓ Activité antioxydante démontrée par la méthode (BBC), peut être due surtout à la présence des composés phénoliques présents dans ces extraits, ce qui est confirmé par la corrélation linéaire notable et significative observée ( $R_2=0.9999$ ,  $p<0.05$ ) entre leur teneur en polyphénols et leur pouvoir antioxydant. Comme dans le cas de l'activité antimicrobienne, l'activité antioxydante dépend de plusieurs facteurs : la concentration de l'extrait, la méthode d'évaluation, la sensibilité des anti oxydants à la température du test et à la nature des extraits (**Kadri et al., 2011**).
- ✓ Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (**Roudsari et al., 2009**). L'activité antiradicalaire des extraits EMe (*H. albus*) est probablement liée à leur contenu en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins. Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (**Yang et al., 2008**).

# *Conclusion générale*

### Conclusion

Le monde naturel est plein de plantes et d'autres sources qui sont à l'origine des molécules bioactives. Les sources de ces substances bioactives comprennent les plantes et les sources d'origine animale. Les molécules bioactives sont des molécules importantes qui sont biologiquement actives dérivées des sources naturels ou et par synthèse chimique.

Lors de ce travail, on s'est intéressé à l'étude des effets des phytohormones BAP et IAA sur l'accumulation des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) et à évaluer l'activité antioxydante des extraits de ces traitements.

L'effet du traitement avec les phytohormones ( **BAP X IAA** ) interagées sur de la plante *H. albus* L. est un effet négatif par diminution du rendement des extraits par rapport au témoin non traité, par contre les traitements avec le BAP a donné le meilleur rendement.

Il n'y a pas un effet des phytohormones sur la présence et la qualité des différents métabolites secondaires. Les résultats du screening phytochimique montrent que les différents extraits méthanoliques de la plante *H. albus* L. des traitements contiennent les mêmes métabolites secondaires: flavonoïdes, tanins, coumarines, quinones, composés réducteurs et alcaloïdes et ne contiennent pas des saponosides.

l'auxine IAA et le cytokinine BAP possèdent un effet de diminution sur l'accumulation des polyphénols, par rapport au témoin non traité.

Les phytohormones BAP X IAA ont un effet de diminution sur l'accumulation des flavonoïdes, et en tanin

les extraits méthanoliques des différents traitements de la plante *H. albus* L. présentent des activités antioxydantes significativement différentes.

Les résultats de l'analyse statistique montrent qu'il y a des différences significatives entre les traitements et entre les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et en tanins ainsi qu'il y a une différence significative entre les pourcentages d'inhibition des différents traitements, donc il y a une différence significative entre les activités antioxydantes de chaque traitement.

Nos résultats ont montré que les phytohormones ont un effet de diminution sur activités antioxydants (l'inhibition des extraits) de la plante *H. albus* L.

## *Conclusion générale*

Malgré les résultats obtenus, cette étude nécessite d'autres études pour chercher les méthodes d'augmenter les composés phénoliques dans la plante *H. albus* L. et d'autres tests pour mieux évaluer et comprendre le mode d'action et les principaux actifs de cette plante.

*Références  
bibliographiques*

- A.,Fernandez-Gutierrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.
- Abdelly,C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*.331: 372-379.
- Amlan K., Patra J.S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen.*Pytocheistry*.71 p1198-1222.
- Arroo R.R. J.; Develi A.; Meijers Van de Westerlo E.; Kemp A.K.; Croes, A.F.; Wullens G.J.. (1995).** Effects of exogenous auxin on root morphology and secondary metabolism in *Tagetes patula* hairy roots cultures. *Phys. Plant*.93: 233-240.
- Arroo R.R. J.; Develi A.; Meijers Van de Westerlo E.; Kemp A.K.; Croes, A.F.; Wullens G.J.. (1995).** Effects of exogenous auxin on root morphology and secondary metabolism in *Tagetes patula* hairy roots cultures. *Phys. Plant*. 93: 233-240.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S., 2010.** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* *Lebanese Science Journal*. Vol 11 (1):72p.
- Atmani D ., Nassima C ., Dina A ., Meriem B ., Nadjet D ., Hania B ., (2009).** Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity. *Current Nutrition & Food Science*; 5: 225-237.
- Atoui A.K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P. (2005).** Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.*, 89: 27-36.
- Attiso M. A. (1979).** Une matière première de grande consommation. *Le courrier de L'UNESCO-ONU*, Paris, 7-8.
- Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007).**Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.*Molecules*.12: 607-621
- Bahorun T., (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritiias*, p 83-94.
- Benhouda A., 2015.**etude des activites pharmacobiologiques des extraits d'*Umbilicus rupestris* (Salisb Dandy) ET *Hyoscyamus albus L.*thèse doctorat.univ.Batna.p117.
- Benmahdi A., (2001).** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie*, 6, pp. 11-27.
- BLOIS M S., 1958.** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. (181) : 1199-1200.
- Boizot N., and Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp79-82.

- Bougandoura N., Bendimerad N., 2013.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. (9): 15p.
- Bown D. (1995).** *Encyclopaedia of herbs and their uses* .Dorling Kindersley,London. ISBN0.22: 7513-12031.
- Bown D. (1995).** *Encyclopaedia of herbs and their uses* .Dorling Kindersley, London. ISBN0.22: 7513-12031.
- Brand-Williams W., Cuvelier M E., Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft and Technologie*. (28): 25-30.
- Bruneto, J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème Edition. Tec & Doc(Ed). Paris, p. 575.
- Bruneton J. (1999).***Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, (3ème éd).Tec et Doc (Ed), Paris , p. 1120.
- Bruneton J., (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575.
- Bunk G.J. (1997).** Hormone influences on growth and secondary metabolite production in *A. annua*. M.S. Thesis. Worcester Polytechnic Institute, Worcester, MA.. USA. P 25-31.
- Cartier O. et Roux D. (2007).***Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. 3eme edition wolters. Kluxer, P: 92.
- Chevallier A. (1996).** *The encyclopedia of medicinal plants* dorling Kindersley. London, ISBN. 9:280751-303148.
- Christen P.; Aoki T. ; Shimomura K.. (1992).** Characteristics of growth and tropane alkaloid production in *Hyoscyamus albus* L. hairy roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes* A4. *Plant Cell Reports*.11: 297-600.
- Christen P.; Aoki T.; Shimomura K.. (1992).** Characteristics of growth and tropane alkaloid production in *Hyoscyamus albus* L. hairy roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes* A4. *Plant Cell Reports*.11: 297-600.
- Congo M., 2012.** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (*Salvadoraceae*).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.
- Cotelle N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem.*, 1: 569-590.
- Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents.*Clinical Microbiology Reviews*, 12(4). 564–582.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** *Plant Secondary Metabolites: Occurrence,Structure and Role in the Human Diet*. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- D'Agostino IB, Kieber JJ (1999)** Molecular mechanisms of cytokinin action.

**Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, 2003, p. 317.

**Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R.** Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.*(1992), 33: 5227-30.

**Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., Maiza A., (2004).** Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisées Traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R.Chimie* , 7:1073-1080.

**Dodds J.H.; Roberts W.. (1995).** *Experiments in plant tissue culture.* Cambridge University press. 3rd edition. 189 pp

**Dohou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Mira G.N.(2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine; *Thynelaea lythroides*. *Bull.Soc.Pharm.Bordeaux*, 142, pp. 61-78.

**Dolara P., Luceri C., De Filippo C., Femia AP., Giovannelli L., Carderni G., Cecchini C., Silvi S., Orpianesi C., Cresci A., (2005).** Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutation Research*, 591: 237–246.

**Edeaga M. (2005).** Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. Alpen Editions s.a.m., p 18.

**Elisabet M.; Palazón J.; Mercedes B.; Lidia O.; Cusidó R.M.; Oksman-Caldentey K.**

**Elizabet M.; Sarah E- O'connor.. (2009).** Opportunities in metabolic engineering to facilitate scalable alkaloid production. *Natural products from plant cell cultures.* p 292- 300.

**Evans W.C. (2002).** *Pharmacognosy.* 15th edition W.B. Saunders, Toronto, Harcourt Pub Ltd., pp: 516-525.

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M.,**

**Favier A.** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* 2003; 108-117.

**Favier A.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006; 64: 390-396.

**Fleeger JL, Flipse IJ.** Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 1964, 47 (5): 535-8.

**Frank P.; Rene A.. (2008).** *Natural compounds as drugs.* Volume 1. Birkhäuser. 350 pp.

**Garcia-Closas R., Gonzalez CA., Agudo A., Riboli E., (1999).** Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control*, 10:71-75.

**Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero,**

- Goullé J.P., Pépin G., Dumestre T. V., Lacroix C. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. Annales de Toxicologie Analytique. pp :22-35.
- Grieve A.. (1984).** Modern herbal .Penguin .ISBN0-14-046-440-9.
- Gruen HE. (1959).**Auxins and Fungi. Annu Rev Plant Physiol 10: 405–440.
- Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R.** Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005; 554-558.
- Harborne J.B ., (1999).** An overview of antinutritional factors in higher plants. In: Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding Caygill JC and Mueller-Harvey I.eds. Nottingham Univ Press, UK; pp: 7-16.
- Harborne J.B ., (1999).** An overview of antinutritional factors in higher plants. In: Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding Caygill JC and Mueller-Harvey I.eds. Nottingham Univ Press, UK; pp: 7-16.
- Harborne J.B. and Williams C.A. (2000)** .advances in flavonoid research since 1992.Phytochemistry,55: 481-504.
- Harborne J.B. and Williams C.A. (2000)** .advances in flavonoid research since 1992.
- Harrison A. P. and Bartels E. M. (2006).** A Modern Appraisal of Ancient Etruscan Herbal Practices.American Journal of Pharmacology and Toxicology,1(1): 21-24.
- Harrison A. P. and Bartels E. M. (2006).** A Modern Appraisal of Ancient Etruscan Herbal Practices.American Journal of Pharmacology and Toxicology,1(1): 21-24.
- Haslam E.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. Nat. Prod. (1994), 11: 41-66.
- Havsteen B.H. (2002).**The biochemistry and medical significance of the flavonoids.
- Ibrahim A.; Abd El Kawi M.; Nower A.; Abd Motaal A.; Abd Aal A.. (2009).** Alkaloid production and organogenesis from callus of *Hyoscyamus muticus* L. in vitro. J. of Applied sciences research. 5 (1): 82-92.
- Ibrahim A.; Abd El Kawi M.; Nower A.; Abd Motaal A.; Abd Aal A.. (2009).** Alkaloid production and organogenesis from callus of *Hyoscyamus muticus* L. in vitro. J. of Applied sciences research. 5 (1) : 82-92.
- Jean-François Léger** ,noms vernaculaires des taxons de la BDNFF
- Johri MM. (2008).**Hormonal regulation in green plant lineage families.Physiol M Ol Biol Plants 14:23–38.
- Jouzier E.(2000).** Solanacées médicinales et philatélie Bull. Soc Pharm Bordeaux, pp : 144.
- Kadi K., (2010).** Contribution à l'étude de l'effet des hormones végétales sur l'accumulation de substances actives dans la plante d' *Hyoscyamus albus* L.thèse doctorat.univ Mantouri Constantine.p 124.

- Kadri A., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak1 M., Gdoura R.(2011).**Chemical composition and antioxidant activity of Marrubium vulgare L.essential oil from Tunisia. African Journal of Biotechnology, 10(19):3908-3914.
- Khababae K. et Ree T.V. (2001).** Tannins: Classification and Definition. Nat. Prod. Rep., 18:641–649.
- Khan A. et Gilani A.H. (2008).** Pharmacodynamic evaluation of Terminalia bellerica for its antihypertensive effect. J. Food Drug Anal., 16: 6-14.
- Khan A. et Gilani A.H. (2008).** Pharmacodynamic evaluation of Terminalia bellerica for its antihypertensive effect. J. Food Drug Anal., 16: 6-14.
- Kirtikar K.R. et Basu B.D. (1984).** Indian medicinal plants. M/S Periodical Experts, New Delhi.pp: 1794.
- Kohen R. and Nyska A. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicol. Path. 2002; 30: 620-650.**
- Kumar S.and Pandey A.K. (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: Overview. The Scientific World Journal, 2(16):2-16.
- Launert E.. (1981).** Edible and medicinal plants. ISBN 0-600-37216-2.
- Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food Chem. 51, pp. 7292-7295.
- Lee M.R. (2006).** Solanaceae III: henbane, hags and Hawley Harvey Crippen. J R Coll Physicians Edinb,36: 366–373.
- Leikin J.B.; Paloucek D. F. P.; Pharm D.. (1998).** Poisoning & Toxicology Compendium With Symptoms index. Lexi-Comp. 1042 pp.
- Linuma , M. et all. (1993).** Constituents of Vancouveria hexandra heterocycles (35) ,407.
- Ljung, K., Bhalerao, R.P. and Sandberg, G. (2001)** Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth.
- Loubaki C. B., Ouattara s. A., Ouattara T. A. C., Ouedraogoffraore R., Traore s. A., (1999).**Activités antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de Detarium microcarpum[Cesalpinaceae (Guill et Perrj] sur huit espèces bactériennes impliquées dans certaines maladies infectieuses au Burkina Faso. Sciences et Médecine, 1: 66-73.
- M.; Piñol M. T.. (2007).** Biotransformation of Hyoscyamine into scopolamine in transgenic Tobacco cell cultures. J. Plant physiology.V.164: 521-524.
- Maataoui B S., Hmyene A., Hilali S., 2006.** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (Opuntia ficus indica). Lebanese Science Journal. (1):3-8.
- Mahmood U., Yogendra S., Raghunath S., Thakur R. (2001).**2,3-dimethylnonacosane and tropane alkaloids from Hyoscyamus albus.Phytochemistry; 24(7):1618-1619.

- Malairajan P., Gopalakrishnan G., Narasimhan S., Veni K.J.K., and Kavimani S. (2007).** Antiulcer activity of crude alcoholic extract of *Toona ciliata* Roemer (heartwood). *Journal of Ethnopharmacology*, 110: 348-351.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- Mano, Y. and Nemoto, K. (2012).** The pathway of auxin biosynthesis in plants.
- Manske R. A. F.; Holmes H. L.. (1950).** The Alkaloids: chemistry and physiology. Volume I. Academic Press INC. p 361-366.
- Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A., 2013.** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol 14 (1): 52p.
- Michael H.; Joanne B.; Simon G.; Elizabeth M. W.. (2004).** Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Churchill Livingstone. 309 pp.
- Miguel M. G.; Barroso J. G.. (1994).** Accumulation of stress metabolites in cell suspension cultures of *Hyoscyamus albus*. *Phytochemistry*.35: 371.
- Miguel M. G.; Barroso J. G.. (1994).** Accumulation of stress metabolites in cell suspension cultures of *Hyoscyamus albus*. *Phytochemistry*.35: 371.
- Mishra A., Sharma A. K., Kumar S., Saxena A. K., and Pandey A. K. (2013).** *Bauhinia variegata* leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant and anticancer activities. *BioMed Research International*, Article ID 915436, 10 pages.
- Molyneux P., Songklanakarin J., 2004.** The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sciences Technology* .Vol 26 (2) : 211-219.
- N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traore D., Akéassi L. ,(2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* , 6 (1), pp.1-15.
- N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traore D., Akéassi L. ,(2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* , 6 (1), pp.1-15.
- Nabil J-V; Celedonio G.; Angel G.R.; Rafael Z.. (2009).** Cloning characterization and analysis of expression profiles of a cDNA encoding a hyoscyamine 6 $\beta$ -hydroxylase (H6H) from *Atropa baetica* Willk. *Plant physiology and biochemistry*.V.47: 20-25.
- Nabil J-V; Celedonio G.; Angel G.R.; Rafael Z.. (2009).** Cloning characterization and analysis of expression profiles of a cDNA encoding a hyoscyamine 6 $\beta$ -hydroxylase (H6H) from *Atropa baetica* Willk. *Plant physiology and biochemistry*.V.47: 20-25.
- New Optically Active Coumarinolignan, from the Seeds of *Hyoscyamus niger*. *Chem.Pharm.Bull*;54(4): 538-541.

- Njar V., Adesanwo J., Raji Y. (1995).** Methyl Angolenate: Antiulcer Agent from the Stem Bark of *Entandrophragma angolense*. *Planta Medica.*, 61: 91-91.
- Oksman-Caldentey K. M. (2007).** Tropane and nicotine alkaloid biosynthesis-novel approaches towards biotechnological production of plant-derived. *Pharmaceuticals*, *Curr Pharm. Biotechnol.* 8: 203-210.
- Ordonez A.A.L., Gomez J.D., Vattuone M.A., Isla M.I. (2006).** Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jaq.), Swart extract. *Food chem.*, 97: 452-458.
- Pawlak Z., Bylka W., Jazurek B., Matlawska I., Silkorska M., Manikowski H., Bylka G.B., (2010).** Antioxidant activity of flavonoids of different polarity, assayed by modified ABTS cation radical decolorization and EPR technique. *Acta biologica cracoviensla*, 57 (1): 97-104.
- Pharmacol Therap*, 96: 67-202.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4) :8p.
- Pudersell K.. (2006).** Tropane alkaloid production and riboflavin excretion in the field and tissue cultures /press of henbane (*hyoscyamus albusL*), p 15-16.
- Quetin-Leclercq J. (2002).** Le Voyage Insolite De La Plante Au Médicament . *Journal de Pharmacie de Belgique* ,57 :11-20.
- Ratty A.K. (1988).** Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. *Biochem Med Metabol BioI* 39:67-79.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med*, 20: 933-956.
- Roberts M.F, Wink .M. (1998)** ;alcaloids :biochemistry ecology and medicinal applications. Plenum press. New York.
- Roudsari M., Chang P., Pegg R., Robert T., (2009).** Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chemistry*, 114:717–726.
- Sajeli B., Sahai M., Suessmuth R., Asai T., Hara N., and Fujimoto Y., (2006).** Hyosgerin, a New Optically Active Coumarinolignan, from the Seeds of *Hyoscyamus niger*. *Chem. Pharm. Bull*; 54(4): 538-541.
- Sajeli B., Sahai M., Suessmuth R., Asai T., Hara N., and Fujimoto Y., (2006).** Hyosgerin, a New Optically Active Coumarinolignan, from the Seeds of *Hyoscyamus niger*. *Chem. Pharm. Bull*; 54(4): 538-541.
- Sajeli B., Sahai M., Suessmuth R., Asai T., Hara N., and Fujimoto Y., (2006).** Hyosgerin, a
- Sakakibara, H. (2006)** Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annu Rev Plant Biol* 57:431-49.

**Simon S., Kubeš M., Baster P., Robert S., Dobrev P.I., Friml J., Petrašek J., Zažimalova E. (2013).** Defining the selectivity of processes along the auxin response chain: a study using auxin analogues. *New Phytol* 4:1034–1048.

**Singleton V.L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 299, pp. 152-178.

**Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C.** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med.* 2002; 33: 575-586.

**Tiwari and Kakkar H.P.A.(1990).** Phytochemical examination of *Spilanthus acemella* (Murr.). *Journal of the Indian Chemical Society*, 67 (9), pp.784–785.

**To, J. P., and J. J. Kieber (2008)** Cytokinin signaling: two-components and more. *Trends Plant Sci* 13(2):85-92.

**Treas G. E et Evans W.C. (1983).** *Pharmacognosy*, 12 th Ed. Bailliers and Tindall. London, pp:45-47.

**Trease G.; Evans W. C.. (1996).** *Trease and Evans Pharmacognosy*. 14th Edition. WB Saunders Company Ltd. London, Philadelphia. Toronto, Sydney. Tokyo.

**Valdes B., Talavera S. and Fernandez-Galiano E. (1987).** *Flora Vascular de Andalucía Occidental*, vol. 2 Ketrès editoria. Barcelona. p.361.

**Yang J., Guo J., Yuan J., (2008).** In vitro antioxidant properties of rutin .*LWT*, 41:1060-1066

**Zhao, J., Zhu W.; Hu H. (2000).** Enhanced ajmalicine production in *C.roseus* cell cultures by combined elicitor treatment from shaker to 20 L air lift bioreactor. *Biotechnology Letters*, 22: 509-514.

**Zhao, J., Zhu W.; Hu H.. ( 2000).** Enhanced ajmalicine production in *C.roseus* cell cultures by combined elicitor treatment from shaker to 20 L air lift bioreactor. *Biotechnology Letters*, 22: 509-514.

**Zhi-yun Z., Ming L.A., D'Arcy W.G.(1994).** *SOLANACEAE*. *Flora of China* 17: 300–332.

# *Les annexes*

## Annexes

### Annexe 01: Appareils utilisés



**Balance analytique**



**Vortex**



**Rota vapeur**

### Annexe 02 : ANOVA FLAV

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	---------	-------------	---------	--------

Model	8	79460.16999	9932.52125	13776.0	<.0001
-------	---	-------------	------------	---------	--------

Error	18	12.97800	0.72100		
-------	----	----------	---------	--	--

Corrected Total	26	79473.14799			
-----------------	----	-------------	--	--	--

R-Square	Coeff Var	Root MSE	KX2_4_D_FLAV Mean
----------	-----------	----------	-------------------

0.999837	1.294371	0.849117	65.60074
----------	----------	----------	----------

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------	-------------	---------	--------

## Annexes

ESP	8	79460.16999	9932.52125	13776.0	<.0001
-----	---	-------------	------------	---------	--------

### Annexe 03 : ANOVA POLYP

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

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

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

### Annexe 04 : ANOVA TAN

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

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

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

### Annexe 05 : ANOVA %I

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

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

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