

Résumé :

Hyoscyamus albus fait partie de la famille des Solanacées , largement répandues dans le bassin méditerranéen. Ses propriétés biologiques sont dues à sa richesse en substances bioactives. Lors de cette présente étude, notre intérêt s'est porté d'une part, sur la composition phénolique et les activités réductrice et anti-radicalaire de cinq extraits . Une teneur en composés phénoliques est de :**35.58±0.009 mgEAG/g MS** tandis qu'en flavonoïdes est **5.16±0.13mgEQ/gMS** , alors qu'en tannins condensés **18.65 EC/gMS**. Le test du pouvoir réducteur indique une meilleure activité de l' extraits éthanolique .Alors que l'effet scavenger contre le radical DPPH, avec l' **EC50** de **34.61245 µg/ml** pour l'extrarait éthanolique ce qui lui confère une activité anti-radicalaire la plus élevée. Le test ABTS à **1 mg/ml** a révélé que tous les extraits présentent un très faible potentiel antioxydant.

Mots clés :*Hyoscyamus albus* , Solanacées, composés phénoliques, activité réductrice , pouvoir réducteur , effet scavenger, DPPH ,ABTS.

Abstract:

Hyoscyamus albus belongs to the Solanaceae family, widespread in the Mediterranean basin. Its biological properties are due to its richness in bioactive substances. In this present study , our interest is focused on the one hand , on the phenolic composition and reducing and anti- radical five extracts . A phenolic compound content is:

35.58 ±0.009 mgEAG / g MS while in flavonoids is **5.16±0.13mgEQ/gMS** , whereas condensed tannins **18.65 EC /gMS** . The reducing power of the test indicates a better activity of the ethanol extracts . While scavenger effect against DPPH radical with the **EC50** of **34.61245 µg/ml** for extarait ethanol which gives it an anti- radical the higher . The ABTS assay **1mg /ml** showed that all extracts have a very low antioxidant potential.

Keywords : *Hyoscyamus albus*, Solanaceae , phenolic compounds, reducing activity , reducing power, scavenger effect , DPPH, ABTS.

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico –Chimique

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Dosages des composés phénoliques et activité antioxydants des extraits de *Hyoscyamus albus*

Présenté par :

M^{elle} AGOUNI Naima

Membres du jury :

Grade et Lieu

Présidente : M^{me} Oukil N .

MCB

Promotrice : M^{me} Bedjou F.

Pr.UAMB

Examineur : M^r Harfi Ts.

MAA

Examinatrice : M^{me} Saadaoui K.

MAA

Année : 2013-2014

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et le courage pour réaliser ce modeste travail.

*Je remercie tout particulièrement ma promotrice **Dr BEDJOU. F** pour sa supervision, son appui, sa compréhension et pour les plus amples conseils qui m'ont permis d'affranchir les écueils rencontrés le long de la période de réalisation de mon travail et permettant le bon déroulement du travail.*

*Je tiens à dire un grand merci à **M^{elle} BOUREBABA.L**, qui a codirigé mon mémoire avec plein de sagesse, de générosité et de gentillesse. Je la remercie sincèrement pour ses conseils et son aide si précieuse.*

Aux membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont accordés en jugeant ce travail.

*Je remercie également tous le personnel De laboratoire (**ANIMALRIE**) **SAIDA et HABIBA**.*

À tous ceux qui, directement ou indirectement ont contribué à ce travail, j'adresse mes plus sincères remerciements.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont donnés un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

J'espère qu'ils trouveront dans mon travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mes chers frères et sœurs.

A tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.

Naima

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Solanacées (*Hyoscyamus Albus*)

I-1-Généralités sur les Solanacées	3
I-2- Généralités sur les polyphénols et alcaloïdes.....	5
I-3-Composition phytochimique des Solanacées.....	8
I-4-Localisation des alcaloïdes	10
I-5--Utilisation en thérapeutique	10
I-6-Effets toxiques	10

Chapitre II : Activités antioxydants

II-1- Le stress oxydant	11
II- 2- Radicaux libre.....	11
II-3- Moyens de défense contre les radicaux libres.....	13

Partie pratique

I-Matériel et méthodes	18
I-1-Matériel végétal.....	18
I-2-Méthodes.....	18.
I-2-1- Préparation des extraits bruts.....	18
I-2-1-2-Calcul du rendement pondérale.....	20
1-2-2-Dosage des composés phénoliques	20
1-2-2-1- Dosage des composés phénoliques totaux.....	20
1-2-2-2-Dosage des flavonoïdes	21
1-2-2-3--Dosage des tannins condensés	22
I-2-3-Mesure de l'activité antioxydant	23
I-2-3-1- Activité « scavenging » du radical DPPH•.....	23
I-2-3-2-Pouvoir réducteur	25
I-2-3-3-Mesure de l'activité antioxydants par la méthode ABTS	27
II- Résultats et discussions	29
II-1-Rendement d'extraction.....	29
II-2-Les composés phénoliques.....	29
II-2-1-Dosage des composés phénoliques totaux.....	29
II-2-2-Dosage des flavonoïdes	30
II-2-3-Dosage des tannins condensés	31
II-3-Evaluation de l'activité antioxydant	32
II-3-1- Activité « scavenging » du radical DPPH•.....	32
II-3-2- Pouvoir réducteur	35
II-3-3- Mesure de l'activité antioxydant par la méthode ABTS	37
Conclusion	39

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Abréviation	Explication
ABTS	2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide Sulfonique).
AH	Antioxydant donneur d'hydrogène
ALC₃	Clorures d'aluminium
EC50	Concentration effective à 50%.
DPPH	2-2diphenyl-1-picrylhydrazyl
Fe²⁺	Fer oxydé
Fe³⁺	Fer réduit
FeCl₃	Clorures de fer
FRAP	Ferrique Réduire pouvoir antioxydant
H₃PW₁₂O₄₀	Acide phosphotungstique
H₃PMo₁₂O₄₀	Acide phosphomolybdique
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
LDL	lipoprotéine de faible densité
MgEAG/gMS	Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.
Mg EQ/g Ps	Milligramme d'équivalent quercétine par gramme du poids sec de la plante.
Mg/g	milligramme par gramme.
(mM E trolox/gd'extrait)	Milli molaire d'équivalent de Trolox par gramme d'extrait.
MS	Matière sèche
PM	Poids moléculaire
%	pourcentage
SOD	Superoxyde dismutase
TEAC	Capacité Antioxydante en Equivalent Trolox
TROLOX	Dérivé hydrosoluble de la Vitamine E (Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2carboxylique)
v/v	Volume/Volume.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1_a	Plante entière de <i>Hyoscyamus albus</i>	4
1_b	Fleurs et feuilles de <i>Hyoscyamus albus</i>	4
1_c	Fruits de <i>Hyoscyamus albus</i>	4
2	Structures de quelques Flavonoïdes.	7
3	Structure chimique de tannin condensé et tannin hydrolysable.	7
4	Structure chimique de l'atropine	9
5	Structure chimique de Scopolamine	9
6	Structure chimique d'Hyoscyamine	10
7	Structure chimique de la vitamine E	15
8	Structure chimique de l'acide ascorbique	16
9	Photographie de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> .	18
10	Préparation des extraits bruts à partir des feuilles de « <i>Hyoscyamus albus</i> »	19
11	Protocole de dosage des composés phénoliques totaux.	21
12	Schéma représentant la procédure suivie pour l'extraction des flavonoides totaux	22
13	Protocole de dosage des tannins condensés	23
14	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).	24
15	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH	24
16	Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur	26
17	Protocole de la mesure de l'activité antioxydants par la méthode ABTS	27
18	Concentrations en composés phénoliques totaux de « <i>Hyoscyamus albus</i> »	30
19	Concentrations en flavonoïdes par mg EQ /gMS des feuilles de « <i>Hyoscyamus albus</i> »	31
20	Teneurs en tannins condensés de différents extraits des feuilles de « <i>Hyoscyamus albus</i> ».	32
21	Activité scavenging du DPPH en présence d' antioxydants de références.	33

22	Pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits des feuilles de <i>Hyoscyamus albus</i> .	33
23	Le pouvoir réducteur des standards en fonction de différentes concentrations.	35
24	Le pouvoir réducteur des extraits de <i>Hyoscyamus albus</i> .en fonction de différentes Concentrations.	36
25	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS ⁺ .	37

Liste des tableaux :

Tableaux	Titre	Page
I	Classification de <i>Hyoscyamus albus</i>	5
II	Exemple de quelques radicaux libres	12
III	Rendement d'extraction calculé à partir de <i>Hyosyamus albus</i> .	29
IV	Valeurs des IC50 des antioxydants standards et des extraits de <i>Hyoscyamus albus</i> .	34
V	Le pouvoir antioxydant des extraits de <i>Hyoscyamus albus</i> en TEAC	38

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (**Lhuillier, 2007**).

Plusieurs composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine et de façon empirique par plusieurs populations.

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**Bérubé-Gagnon, 2006**).

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en thérapeutique, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun, 1997**).

Hyoscyamus albus est une plante médicinale de la famille des solanacées, en Amérique du Sud et en Amérique centrale que l'on rencontre le plus grand nombre d'espèces. Elle est connue pour ses propriétés ophtalmologiques, odontologiques et gynécologiques. Ses graines ont des propriétés hypnotiques et analgésiques.

Cette plante est riche en alcaloïdes actifs dans le domaine neurologique.
(**Jouzier, 2005**).

C'est une plante dont les activités liées aux polyphénols et qui sont mal connues en raison de sa toxicité.

Le but de ce travail est l'extraction des polyphénols avec différents solvants et l'évaluation leur activité antioxydants.

Pour ceci le mémoire a été structuré en deux parties :

- ✓ Partie bibliographique qui expose les propriétés thérapeutiques connues de la plante utilisée par certaines populations, sa composition chimique, ainsi que sa classification botanique.

- ✓ Partie pratique qui expose les protocoles utilisés pour l'extraction des polyphénols , leur dosage , leur activité antioxydants , les résultats obtenus ainsi qu'une conclusion.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les
solanacées :
Hyoscyamus albus

I-1-Généralités sur les Solanacées :

Les **Solanacées** sont une famille de plantes dicotylédones (Magnoliopsida) appartenant à l'ordre des Solanales, dont le nom vient du genre *Solanum*. Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes avec des feuilles alternes, simples et sans stipules. La famille comprend près de 98 genres et 2 700 espèces et occupe une grande diversité d'habitats. Cette famille cosmopolite est présente partout dans le monde à l'exception de l'Antarctique. Mais c'est en Amérique du Sud et en Amérique centrale que l'on rencontre le plus grand nombre d'espèces. Elle comprend des espèces alimentaires d'une grande importance économique telles que la pomme-de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersicum*), l'aubergine (*Solanum melongena*) et les piments (*Capsicum*). De nombreuses plantes ornementales très populaires appartiennent à l'ordre des Solanacées : *Petunia*, *Schizanthus*, *Salpiglossis* et *Datura*. Certaines espèces, riches en alcaloïdes, sont mondialement connues pour leurs usages médicaux, leurs effets psychotropes ou pour leur toxicité : belladone, morelle, brugmansia, datura, mandragore, tabac.

(Olmstead *et al.*, 1999) .

I-1-1- *Hyoscyamus Albus*:

Le genre *Hyoscyamus* comporte une vingtaine d'espèces surtout représentées dans le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale.

La jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus* L.) est une plante médicinale appartenant à la famille des Solanaceae, très riche en alcaloïdes tropaniques surtout L'atropine et la scopolamine. C'est pour cela que toutes les jusquiames sont toxiques.

À dose thérapeutique, la Jusquiame est employée comme parasympholytique et sédatif nerveux. (Jouzie ,2005).

I-1-2-Description botanique :

I-1-2-1-Caractère morphologique de la plante :

Les principaux caractères morphologiques de la jusquiame blanche sont :

-Plante annuelle et pérennante de 20-50 cm, velue-visqueuse, à odeur vireuse faible

- Feuilles molles, visqueuses , pétiolées, ovales-orbiculaires,dentées à dents triangulaires.
- Fleurs inférieures pédonculées.
- Calice très velu, le fructifère faiblement nervé-réticulé, à lobes courts, triangulaires-aigus.
- Corolle irrégulière, à limbe oblique d'un jaune pâle non veiné en réseau, à gorge et filets des étamines verdâtres.
- Etamines dépassant un peu la gorge.
- Capsule peu renflée à la base
- Répartition : Région méditerranéenne.
- Floraison : Avril-septembre.(**Bonnier et Layens ,1894**).cette plante est illustrée dans les figures n1a, 1b et 1c :



Figure 1_a : Plante entière



Figure 1_b: fleurs et feuilles



Figure 1_c :fruits de *Hyoscyamus albus*

(**Bonnier et Layens ,1894**).

I-1-3-Propriétés:

- C'est une plante qui a de nombreux alcaloïdes actifs principalement Hyoscyamine.
- À des doses élevées elle devient narcotique.
- Utilisé dans l'homéopathie comme remède apaisant.
- Chez les peuples primitifs a été utilisée comme un aphrodisiaque , la principale composante de "philtres d'amour".

Utilisé sous surveillance médicale pour traiter l'épilepsie , l'insomnie , l'asthme, etc.

(**Wunderlin, 1998**)

I-1-4-Position systématique :

La classification de *Hyoscyamus albus* est présentée dans le tableau n° I :

Tableau n° I :Classification de *Hyoscyamus albus* (Serra B,1989).

Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Classement	Solanales
Famille	Solanacées
Genre	Hyoscyamus
Espèce	<i>Hyoscyamus albus L</i>

I-2- Généralités sur les polyphénols et alcaloïdes :

I-2-1- Les polyphénols :

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 9000 structures connues différentes allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animal.

Ces corps jouent un rôle fondamental car ce sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que les boissons telles que le café, le cacao ou le thé. l'homme consomme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E

(Scalbert *et al.*, 2005).

I-2-1-1--Structures chimiques et classification des polyphénols :

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient.

On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros, 2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents

naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux.

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les phénols simples (C₆): un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C₆-C₁).
- Les flavonoïdes (C₆-C₃-C₆): 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné.
- Les tannins hydrolysables et non-hydrolysables.
- Les stilbènes (C₆-C₂-C₆).
- Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.

Autres phytoestrogènes :

- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols (**Paraskevi , 2007**). Bien qu'ils ne

soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates.

I-2-2- Les flavonoïdes :

L'ensemble des flavonoïdes, qui possèdent une origine biosynthétique commune, ont un élément structural de base en C₁₅ (C₆-C₃-C₆). Selon le degré d'oxydation du noyau central, qui peut être ouvert ou fermé, les flavonoïdes peuvent-être regroupés en neuf classes distinctes : chalcones, aurones, flavones, isoflavones, flavonols, flavanones, flavane-3-ols flavane-3,4-diols et anthocyanes. Ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes.

Dans celles-ci, ils sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre. La liaison glycosidique pouvant être de type C-O-C ou de type C-C. D'autres types de liaisons se retrouvent fréquemment chez les flavonoïdes comme des sulfatations ou des prénylations (**Livermore ,2002**).

La figure 2 illustre quelques structures de flavonoïdes.

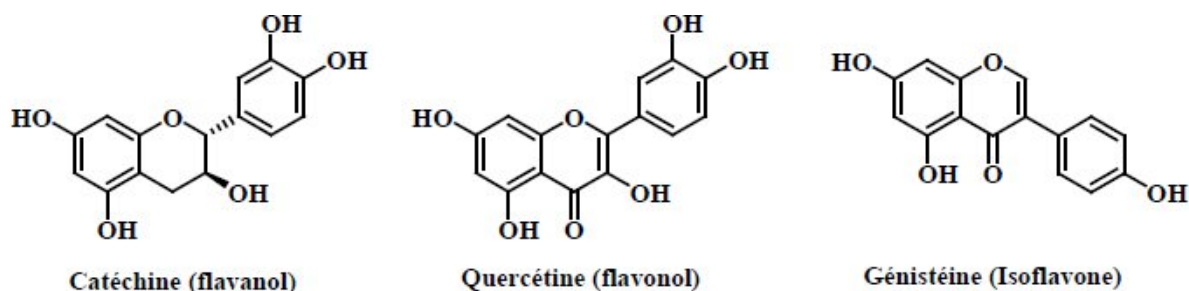


Figure 2 : Structures de quelques Flavonoïdes. (Rösch, 2004)

I-2-3-Tannins :

I-2-3-1-Définition :

Les tannins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre, en petite quantité, dans de très nombreuses plantes. Ce sont des substances phénoliques assez complexes, ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines qu'elles contiennent. Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérigènes et à la transplantation de tumeurs expérimentales. (Bruneton, 1999).

I-2-3-2-Structure :

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins différents par leur structures ainsi que par leur origine biogénétique : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. (Bruneton, 1999).

Les deux types de tannins sont illustrés dans la figure n°3:

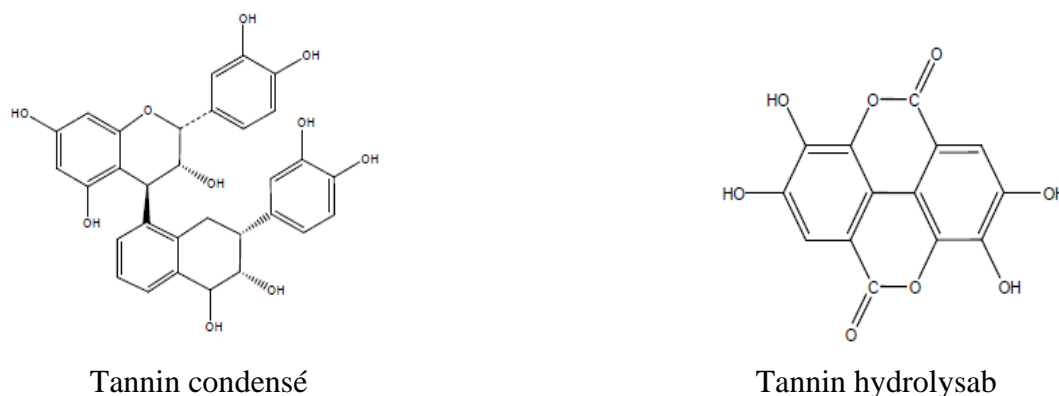


Figure 3: Structure chimique de tannin condensé et tannin hydrolysable. (Bahaz, 2010).

I-2-4-Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine - à partir de l'opium en 1806 (**Harborne1995**), plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes .Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques.

Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes.

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits.

(**Bhat et al., 2005**).

I-3-Composition phytochimique des Solanacées :**I-3-1-Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont des bases azotées, produites par les plantes comme métabolites secondaires. Ils présentent une action physiologique sur les animaux même à faible dose. Les tropanes sont les alcaloïdes les plus connues que l'on trouve chez les Solanacées. Les plantes qui contiennent ces substances ont été utilisées durant des siècles comme poisons. Cependant, malgré leur effet toxique reconnu, beaucoup de ces substances présentent des propriétés pharmaceutiques utiles. Les Solanacées renferment différents types d'alcaloïdes plus ou moins actifs ou toxiques, comme la scopolamine, l'atropine, l'hyoscyamine et la nicotine. On les trouve dans des plantes telles que la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus*), la belladone (*Atropa belladonna*), la stramoine (*Datura stramonium*), la

la mandragore (*Mandragora autumnalis*) (**Eckart , 2008**), les principaux types d'alcaloïdes de la famille des Solanacées sont les suivants:

I-3-1-1-Les alcaloïdes tropaniques : Ce sont des substances organiques dérivés du tropane (mélange racémique), qui est un composé azoté bicyclique de formule brute $C_8H_{15}N$. Ce type d'alcaloïdes comprend, entre autres, l'atropine, la cocaïne. Ces alcaloïdes sont retrouvés chez plusieurs espèces de solanacées, comme la mandragore (*Mandragora autumnalis*) et la jusquiame noire (*Hyoscyamus niger*). L'atropine est utilisée pour dilater la pupille au cours des examens oculaires. Et est considérée comme stimulant du système nerveux central. Elle

est utilisée comme traitement en cas d'empoisonnement par les gaz neurotoxiques ou les insecticides organophosphorés. La structure chimique de l'atropine est montrée dans la figure n°4 :

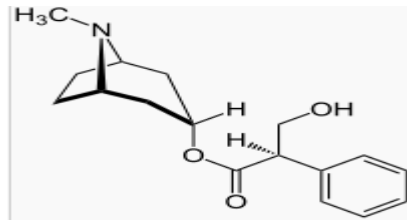


Figure 4 : Structure chimique de l'atropine (Eckart , 2008)

I-3-1-1-1-La scopolamine :

Cette substance extraite à partir de *Hyoscyamus muticus* et *Scopolia atropioides*, est un autre tropane utilisé à petite dose pour traiter les nausées. La scopolamine et hyoscyamine sont des tropanes largement utilisés en pharmacologie et en médecine en raison de leurs effets sur le système nerveux parasympathique. Ces alcaloïdes ne peuvent être remplacés par une autre classe de composés. La figure n°5 montre sa structure chimique.

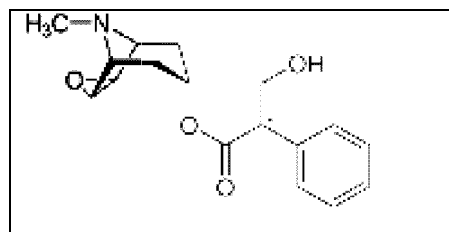


Figure 5 : Structure chimique de Scopolamine . (Olmstead *et al.*, 1999).

I-3-1-1-2-Hyoscyamine :

C'est l'isomère lévogyre de l'atropine. Comme cette dernière, elle a des effets parasympathicolitiques (qui s'opposent à l'action du système nerveux parasympathique) se traduisant par une tachycardie, une mydriase, une diminution des sécrétions (salive, sueur) et un ralentissement du transit intestinal. Elle agit en se liant aux récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans le système nerveux central et périphérique empêchant ainsi l'action du neurotransmetteur (Olmstead *et al.*, 1999). La figure n°6 montre sa structure chimique.

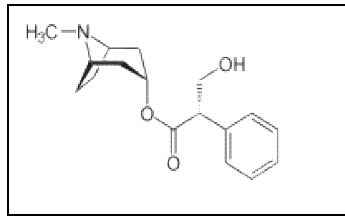


Figure 6 : Structure chimique d'Hyoscyamine [Olmstead *et al.*,1999].

I-4-Localisation des alcaloïdes:

Les alcaloïdes principaux des graines sont l'hyoscyamine (75 %) et la scopolamine (25 %) (Bruneton, 2005). Dans les racines, le principal alcaloïde est aussi l'hyoscyamine suivie par la scopolamine, Les feuilles sont riches en plus des substances minérales. (18-20 %) (Uchida, 1993).

I-5-Utilisation en thérapeutique :

Hyoscyamus albus est une espèce de grande valeur médicinale, en raison de ses propriétés ophtalmologiques, odontologiques et gynécologiques. Aujourd'hui, les propriétés à la fois toxiques et thérapeutiques de la plante sont connues au Maroc notamment. De fait, là-bas, ajoutée à la composition d'un poison, elle en augmente l'efficacité grâce à ses propriétés antiémétiques.

En outre, comme thérapeutique, on l'utilise pour ses propriétés sédatives antispasmodiques, contre les douleurs de vessie. Ses graines ont des propriétés hypnotiques et analgésiques (Bruneton, 2005).

I-6-Effets toxiques :

Dans la Grèce antique , *Hyoscyamus albus* était bien connue pour produire des altérations dramatiques de la conscience. D'autres rapports mentionnent une sorte de folie divine, des vertiges , hallucinations ,délires...(Sabat, 1957).

Chapitre II :
Activités
antioxydants

II- 1-Le stress oxydant :

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression, physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée **stress oxydant**, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker et al.,1982**).

Le stress oxydant est un état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme .

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives d'O₂, N₂ ou Cl₂ .
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes).
- Mécanismes de réparation insuffisants.

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré. (**Minotti et Aust,1987**).

II- 2- Radicaux libres :

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité. (**Justine et al., 2005**).

II- 2- 1- Production de radicaux libres :

La production de ces espèces oxygénées réactives est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés. (**Justine et al., 2005**).

II- 2- 2- Origine de production des ERO :

Il existe 2 sources de radicaux libres :

1- Les sources endogènes :

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (**Gauche et Hausswirth, 2006**).

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- Des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie
 - Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées
- (**Milan et Van Antwerpen, 2004**).

2- Les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres, une fois dans l'organisme.

(**Justine et al., 2005**).

II- 2-3- Principaux radicaux libres rencontrés en biologie :

Les espèces réactives de la molécule d'oxygène et les radicaux libres ont comme particularité une réactivité très élevée. Le tableau n° II présente les principaux radicaux libres :

Le tableau II : Exemple de quelques radicaux libres : (**Favier, 2006**).

Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$
Radical hydroxyl	OH^{\cdot}
Oxygène singulet	O_2
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}
Peroxyde d'azote	H_2O_2
Nitroxyde	NOO^{\cdot}
Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$
Radical peroxy	ROO^{\cdot}

II- 2-4- Dommages oxydatives dus aux radicaux libres :

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. (Rahman, 2002) . Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN.

Toutes ces altérations augmentent le risque de développer des maladies. Parmi elles, nous citons, les maladie d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque ,les oedèmes et vieillissement prématuré de la peau et le cancer (Ali *et al.*, 2008).

II- 3-Moyens de défense contre les radicaux libres :

D'après Halliwell (1994), un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration et qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. (Virot ,2004).Les principaux antioxydants sont :

II-3 -1-Les enzymes et les vitamines antioxydants :

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes.

II-3-2-Les systèmes antioxydants enzymatiques :

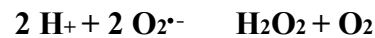
Pour contrôler la production permanente des ROS, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique). En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (Cominacini *et al.*,1997). les enzymes citons:

II-3-2-1-La superoxyde dismutase (SOD) :

Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zn dépendante), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire.

La SOD est une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante. C'est l'enzyme antioxydante "anti-O₂⁻" la plus importante dans toutes les

cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée. L'absence de cette enzyme peut être létale. (Cominacini *et al.*, 1997).



II-3-2-2-La glutathion peroxydase (GPX) :

Les enzymes de cette famille sont Selenium (Se)-dépendante. La glutathion peroxydase (GPX) est présente dans le cytoplasme où elle joue un rôle majeur dans la régulation de l'état redox physiologique intracellulaire des cellules vasculaires. Elle catalyse la réduction des hydroperoxydes (H_2O_2), et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène. (Cossarizza *et al.*, 2009).



II-3-3-Les systèmes antioxydants non enzymatiques :

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet *scavenger*) avec les oxydants soit en stoppant, ou en ralentissant les processus d'oxydation.

Pendant ces réactions, les antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des prooxydants, Ces antioxydants sont d'origine alimentaire. (Duval *et al.*, 2003).

II-3-3-1- La vitamine E ou α -tocophérol :

La vitamine E ou α -tocophérol (α -Toch) est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile, correspondant à un noyau chromanol et une extrémité hydrophobe (chaîne phytyle). L' α -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDLs. Chaque particule LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules d' α -tocophérol. Ce dernier est incorporé dans les particules de LDLs au cours de leur métabolisme, grâce à une protéine appelée (*α -tocophérol transfer protein*). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -Toch, qui est un inhibiteur de la propagation radicalaire, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2^{\cdot} , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection. L' α -Toch, en cédant son hydrogène, se transforme lui-même en produit radicalaire mais de faible réactivité. L' α -Toch peut réagir directement avec le radical initiateur, tel que le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$), inhibant ainsi la formation du radical

$RO_2\cdot$. La réaction de la vitamine E avec l'anion superoxyde $O_2\cdot^-$ est très lente et par conséquent peu probable.

L' α -TocH peut aussi réguler à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase du foie, la glutathion-transférase et la NAD(P)H réductase. L' α -TocH n'est pas biosynthétisée. Elle est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. Elle se trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les amandes, les légumes verts, le beurre, la margarine, les poissons gras. (Esterbauer *et al.*, 1991). La figure n°7 représente sa structure chimique.

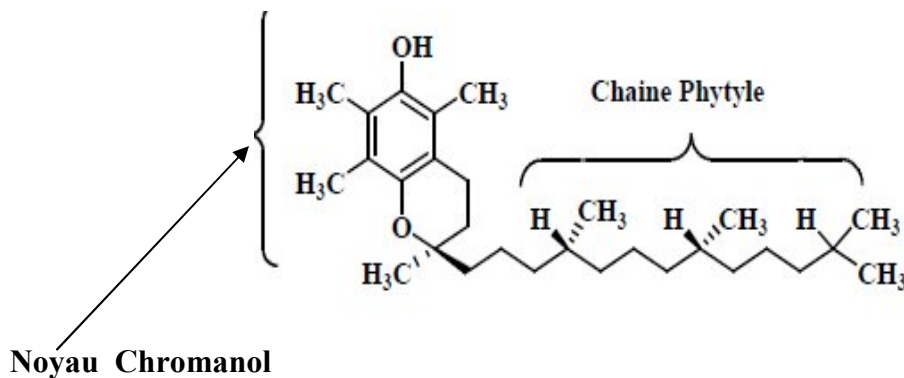


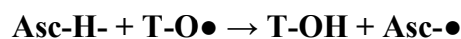
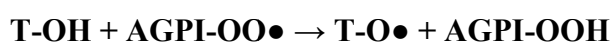
Figure 7 : Structure chimique de la vitamine E (Esterbauer *et al.*, 1991).

II-3-3-2-La vitamine C ou acide ascorbique :

La vitamine C ou acide L-ascorbique n'est pas fabriquée par le corps. Elle est rapportée par l'alimentation ou la supplémentation. C'est une vitamine hydrosoluble retrouvée dans les fruits et légumes. Elle est très sensible à l'oxydation et est détruite lorsque les aliments sont coupés ou déchirés ce qui expose les cellules à l'air. Les alcalis, comme le bicarbonate de soude ou des antiacides peuvent détruire l'acide ascorbique.

L'anion ascorbate agit principalement en piégeant directement les ROS et/ou RNS (majoritairement $O_2\cdot^-$ et le $ONOO^-$). Il est aussi capable de recycler l' α -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique .

(Fang *et al.*, 2002) :



La figure n°8 montre la structure chimique de la vitamine C :

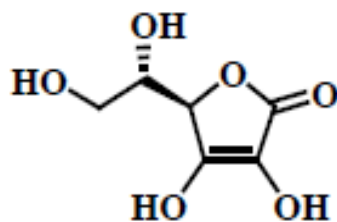


Figure 8 : Structure chimique de l'acide ascorbique (Fang *et al.*, 2002).

II-3-3-3-Substances végétales actives des plantes:

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

II-3-3-3-1-Les composés phénoliques :

Ce sont des molécules issues du métabolisme secondaire, ils interviennent dans différents aspects de la vie de la plante et sont de plus en plus utilisés en thérapeutique

De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL) ce qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose.En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribuent à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée

dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères

(Manach *et al.*, 2005).

III-3-3-3-2-Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée

(Hodek *et al.*, 2002). Ils expriment les propriétés anti-oxydantes par :

Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, la protection des systèmes de défense antioxydants de

l'organisme.

Ce sont des antioxydants mais il ne faut pas négliger leurs propriétés prooxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (**Milane, 2004**).

II-3-3-3-Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Par exemple certains ont des propriétés antispasmodiques dans le système gastro-intestinal et également des propriétés anti-sécrétrices (utiles au cours des interventions chirurgicales) comme l'hyoscyamine. Autres sont largement utilisés dans le domaine de l'ophtalmologie en tant qu'agent mydriatique (pour dilater la pupille) comme l'atropine (**Bhat et al., 2005**).

Partie
Pratique

Matériels

et

méthodes

I-1-Matériel végétal :

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*, une plante de la famille des solanacées. Elle a été cueillie au mois de février 2014 dans la région D'Il-Maten.

L'identification de la plante a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie de l'université de Béjaia en se référant à la flore Algérienne de **Quezel et Santa (1963)**.

Une photographie de la plante est illustrée dans la figure n°9.



Figure 9 : Photographie de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*.

I-1-1-Préparation de la poudre végétale :

Après la récolte, la partie aérienne a été lavée et mise à sécher dans l'étuve à 40°C ; la matière sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Puis passés au tamis électrique afin d'avoir une poudre homogène de granulométrie de 125µm conservée dans des flacons en verre fumés et stockés à l'abri de la lumière.

I-2-Méthodes :**I-2-1:Préparation des extraits bruts :**

La préparation des extraits bruts à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus* a été réalisée selon le protocole cité par **Peschel *et al.*, (2006)** illustré dans la figure n°10.

I-2-1-1-Mode opératoire :

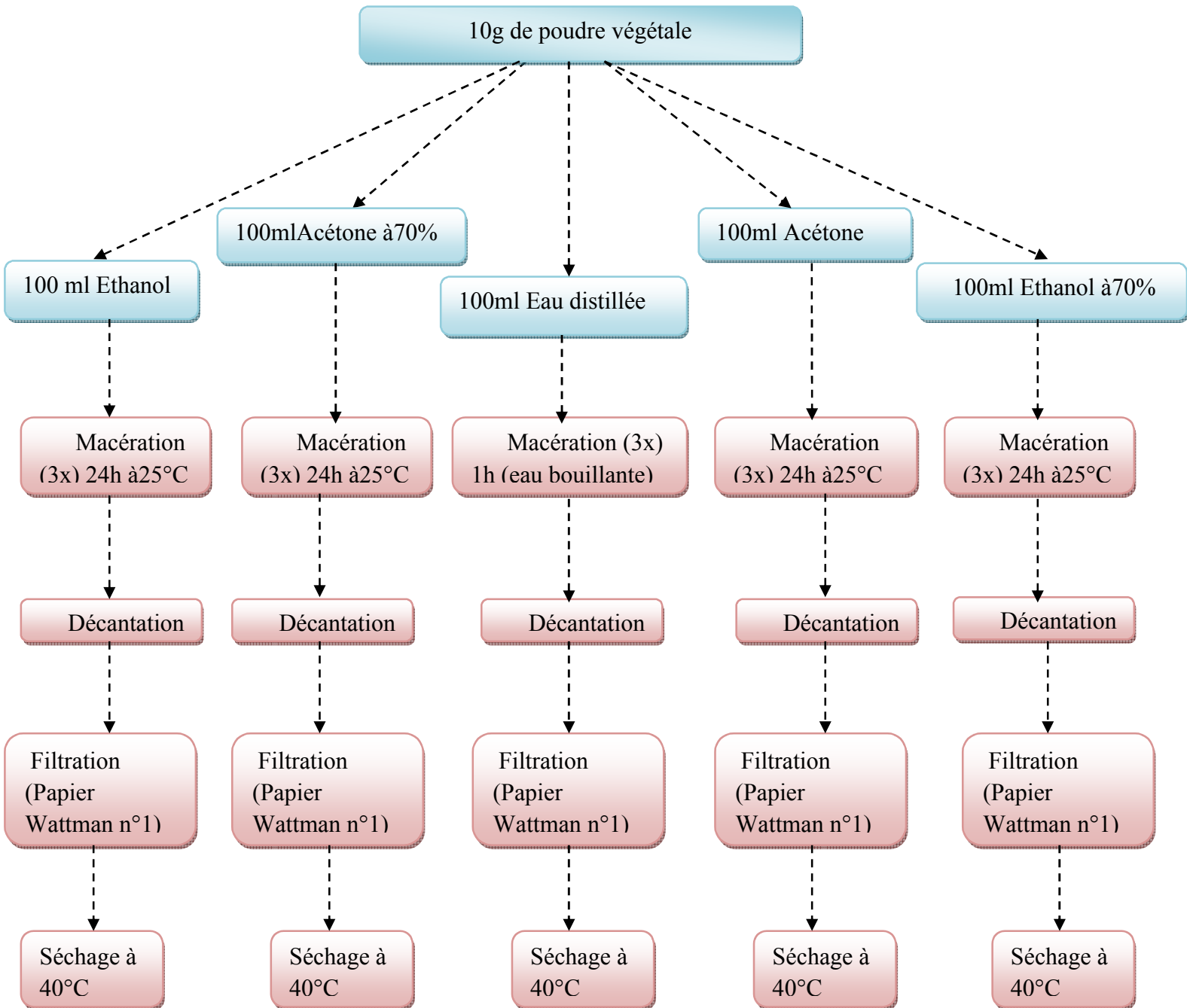


Figure 10 : Préparation des extraits bruts à partir des feuilles de « *Hyoscyamus albus* » (Peschel *et al.*, 2006).

I-2-1-2-Calcul du rendement pondérale:

Le rendement en extraits bruts est le rapport entre le poids de l'échantillon et le poids de la matière sèche. Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\% = [(P_0 - P_1) / P_E] \times 100.$$

Où **R%** : rendement de l'extraction en pourcentage ;

P₀ : Poids de l'extrait dans la boîte de Pétri en g ;

P₁ : Poids de la boîte vide en g.

P_E : Poids de la matière sèche en g. et **Ross (1965) in Wong et al., (2006)**

I-2-2-Dosage des composés phénoliques**1-2-2-1--Dosage des composés phénoliques totaux : Singleton**

Le dosage des composés phénoliques totaux dans nos extraits est déterminé selon la méthode décrite par **Singleton et Ross (1965) in Wong et al., (2006)** en utilisant la spectrophotométrie

1-2-2-1-1-Principe :

Le dosage des composés phénoliques totaux a été réalisé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu adaptée par **Singleton et Ross (1965) in Wong et al., (2006)**. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et charpentier, 2006**). Le mode opératoire est détaillé dans la figure n°11.

1-2-2-1-2-Mode opératoire :

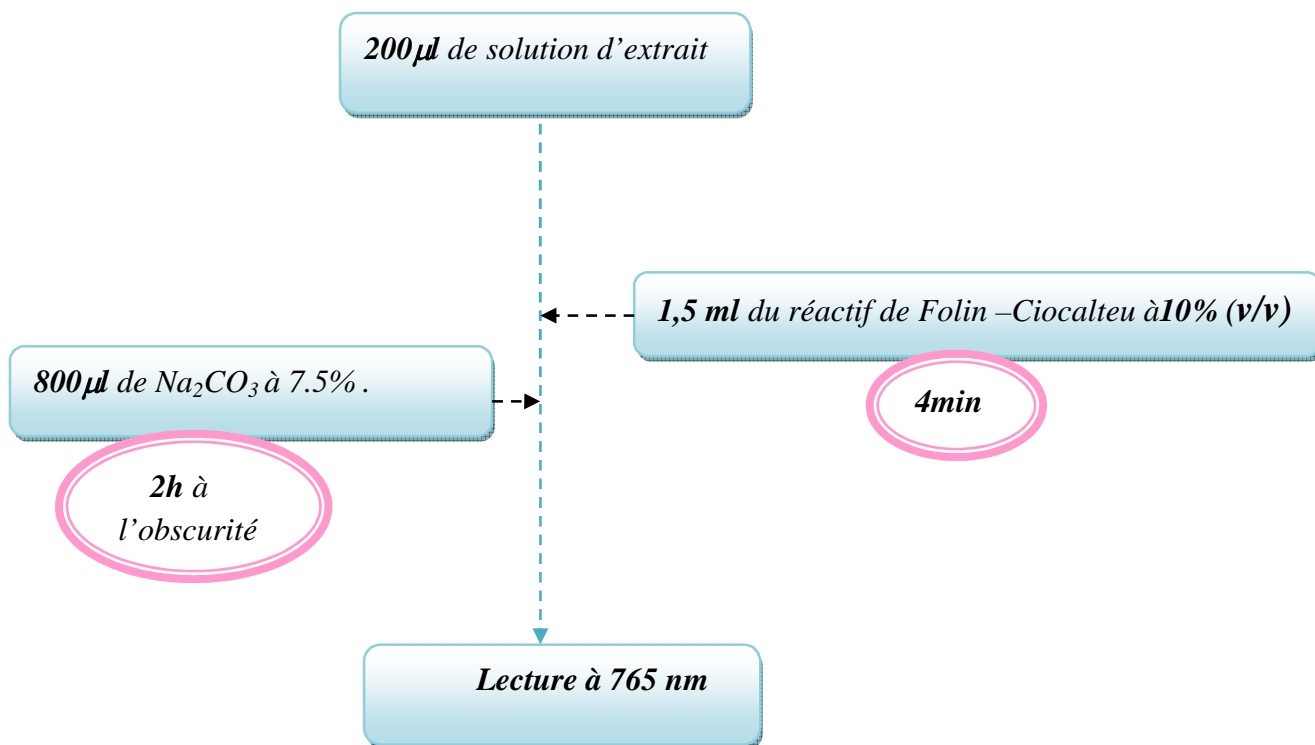


Figure 11 : Protocole de dosage des composés phénoliques totaux
(Singleton et Ross (1965) in Wong *et al.*, (2006)).

❖ **Le témoin** est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par de méthanol.

1-2-2-1-3-Expression des résultats :

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent en acide gallique par 1 gramme de poids sec (mg EAG/g MS).

1-2-2-2-Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes dans les cinq extraits de *Hyoscyamus albus* a été effectuée par une méthode adaptée par **Djeridane *et al.*, (2006)**.

1-2-2-2-1-Principe :

Le principe est basé sur l'utilisation de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure

d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika , 2005) les étapes de ce protocole sont illustrées dans la figure n°12.

1-2-2-2-Mode opératoire :

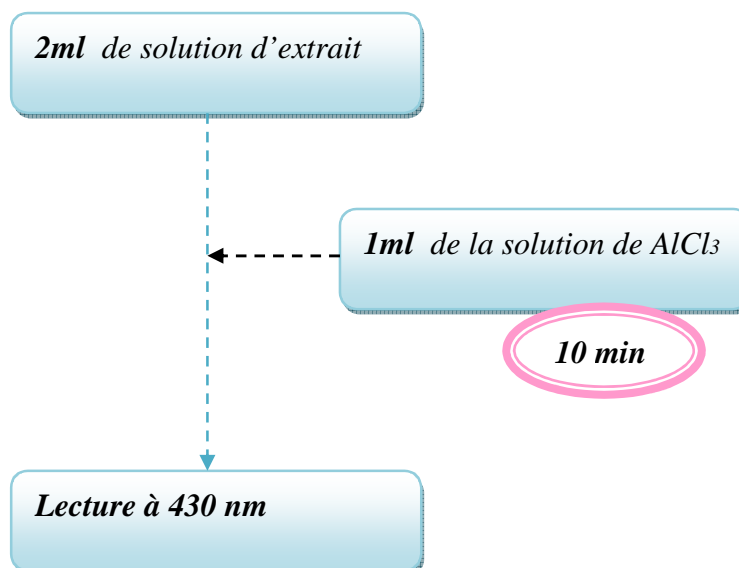


Figure 12 : Schéma représentant la procédure suivie pour l'extraction des flavonoïdes totaux (Djeridane *et al.*, 2006).

- ❖ **Le témoin** est préparé de la même façon sauf que la solution de $AlCl_3$ est remplacée par l'eau distillée.

1-2-2-2-3-Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche.

1-2-2-3-Dosage des tannins condensés :

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de la vanilline selon

Broadhurst et Jones (1978) in Saad *et al.*, (2012).

1-2-2-3-1-Principe :

La vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle au taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde. (Broadhurst et Jones (1978) in Saad *et al.*, (2012)). Le protocole de dosage est résumé dans la figure n°13.

1-2-2-3-2-Mode opératoire :

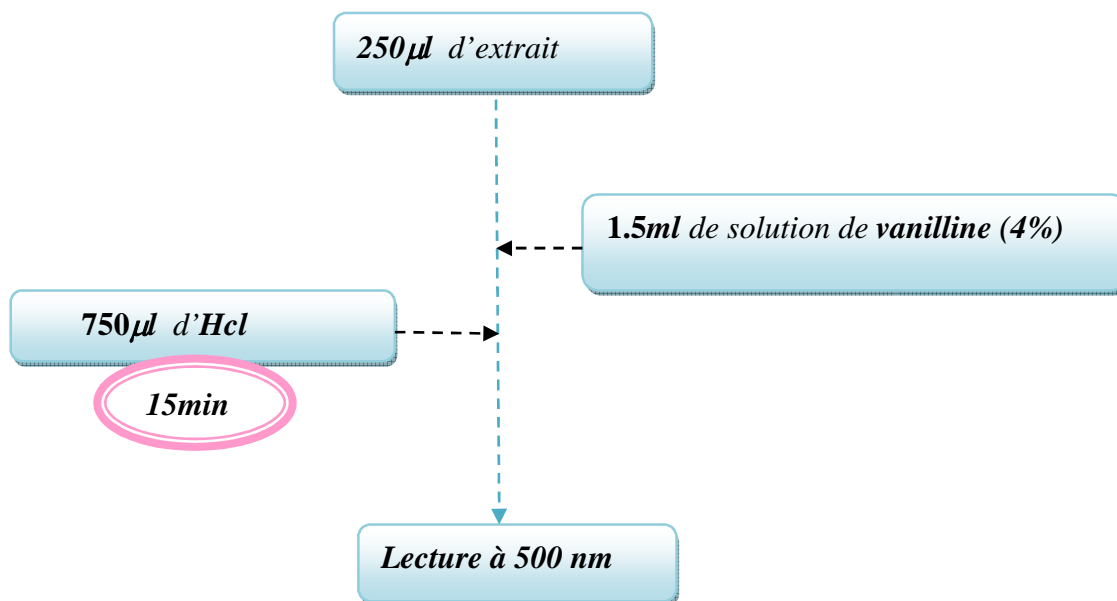


Figure 13 : Protocole de dosage des tannins condensés

(Broadhurst et Jones (1978) in Saad *et al.*, (2012)).

- ❖ **Le témoin** est préparé de la même façon sauf que la solution de vanilline est remplacée par du méthanol.

1-2-2-3-3-Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière sèche.

I-2-3-Mesure de l'activité antioxydants :

Afin d'évaluer l'activité antioxydant de nos extraits, trois tests ont été utilisés (le test de DPPH, du radical cation ABTS⁺ et du pouvoir réducteur).

I-2-3-1- Activité « scavenging » du radical DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) :**I-2-3-1-1-Principe :**

La méthode du DPPH· introduite par Blois, (1958) in Lai *et al.*, (2009) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH· en présence d'un antioxydant

donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H. Le mécanisme de réduction est résumé dans la figure n° 14.

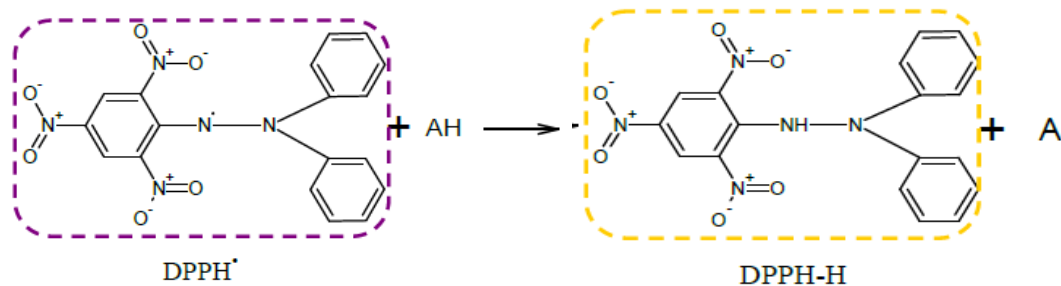


Figure14: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH· entre l'espèce radicalaire DPPH· et un antioxydant (AH).

(Blois, (1958) in Lai *et al.*, (2009))

❖ La réduction du DPPH· en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette qui peut être suivie à 517 nm ce qui reflète la présence de substances antiradicalaires dans le milieu. Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort. (Rice-evans *et al.*, 1995). Le résumé du protocole est représenté dans la figure n°15.

I-2-3-1-2-Mode opératoire :

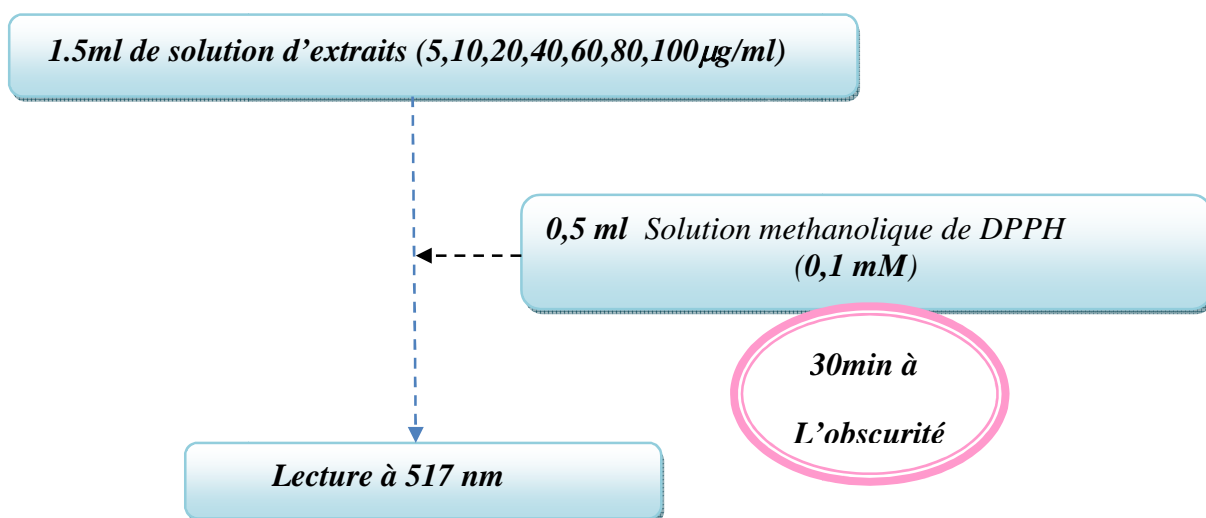


Figure 15 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH d'après (Blois, (1958) in Lai *et al.*, (2009))

I-2-3-1-3-Expression des résultats :

La capacité antioxydante de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation:

$$\% \text{ inhibition du radical DPPH} = (A_C - A_T) / A_C * 100$$

- ❖ A_C correspond à l'absorbance du contrôle (l'extrait est remplacé par du méthanol).
- ❖ A_T correspond à l'absorbance du test – absorbance de témoin du test (Le DPPH est remplacé par de méthanol).

I-2-3-2-Pouvoir réducteur :**I-2-3-2-1-Principe :**

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) qui est décrite par **Oyaizu (1986)** in **Ferreira et al., (2007)** est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés phénoliques.

**I-2-3-2-2-Mode opératoire :**

Le mode opératoire est illustré dans la figure n°16.

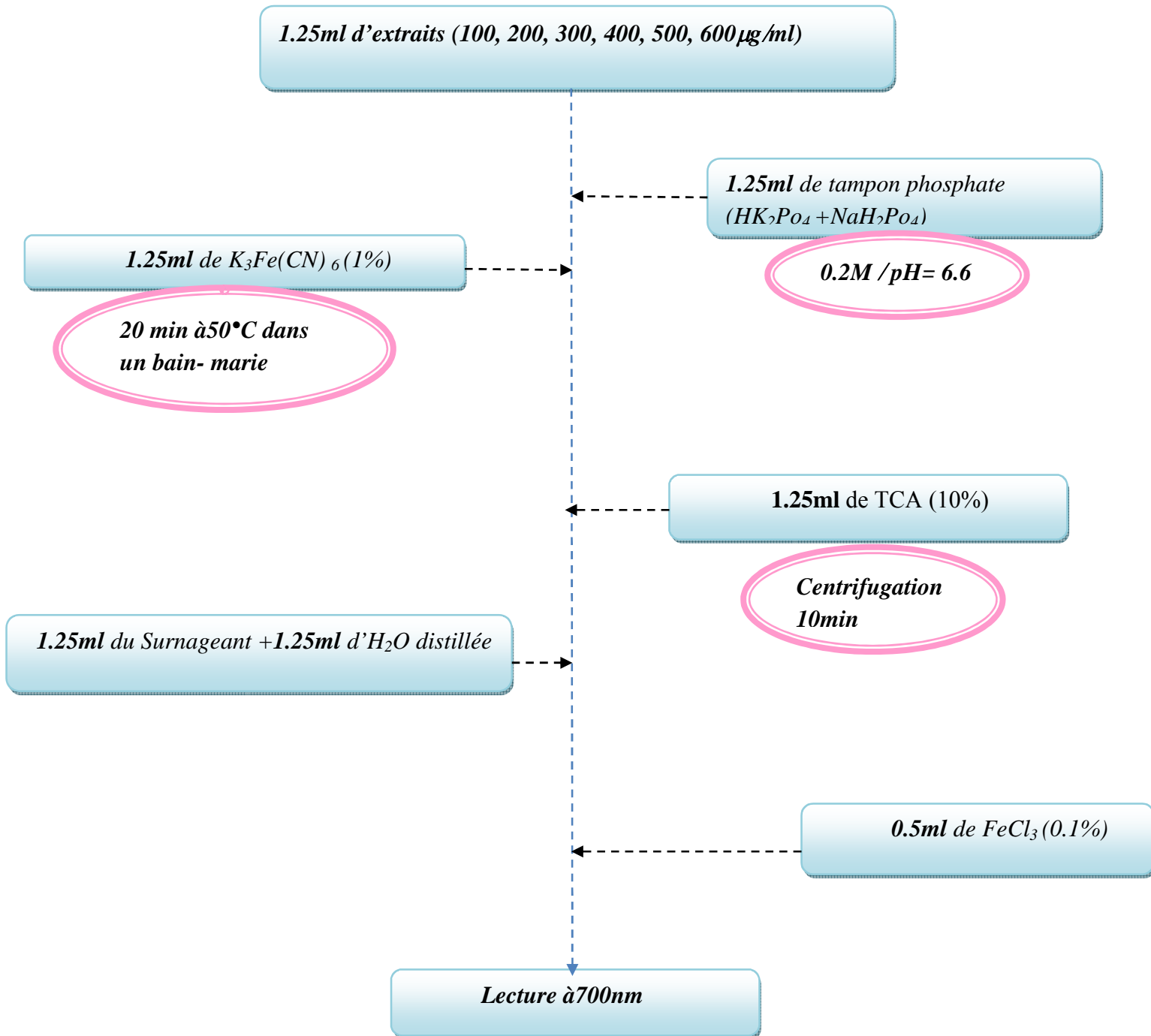


Figure 16 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur

(Oyaizu ,1986) in Ferreira et al., (2007)).

❖ **Dans le témoin :** l'extrait est remplacé par de méthanol.

I-2-3-2-3-Expression des résultats :

Pour chaque concentration, une absorbance est mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

I-2-3-3-Mesure de l'activité antioxydants par la méthode ABTS :

Cette méthode permet de déterminer la Capacité Antioxydants en Equivalent Trolox.

I-2-3-3-1-Principe :

Au cours de cette réaction, ce réactif de couleur bleu est reconverti en forme neutre incolore. La réaction peut être suivie par spectrophotométrie. Ce test est souvent désigné sous le nom de Capacité Antioxydants en Equivalent Trolox (TEAC). La réactivité des différents antioxydants testés est comparée à celle du Trolox, qui est un analogue hydrosoluble de la vitamine E. (Barclay *et al.*, 1985).

Le mode opératoire a été réalisé selon le protocole de **Re *et al.*, (1999)** représenté dans la figure n°17.

I-2-3-3-2-Mode opératoire:

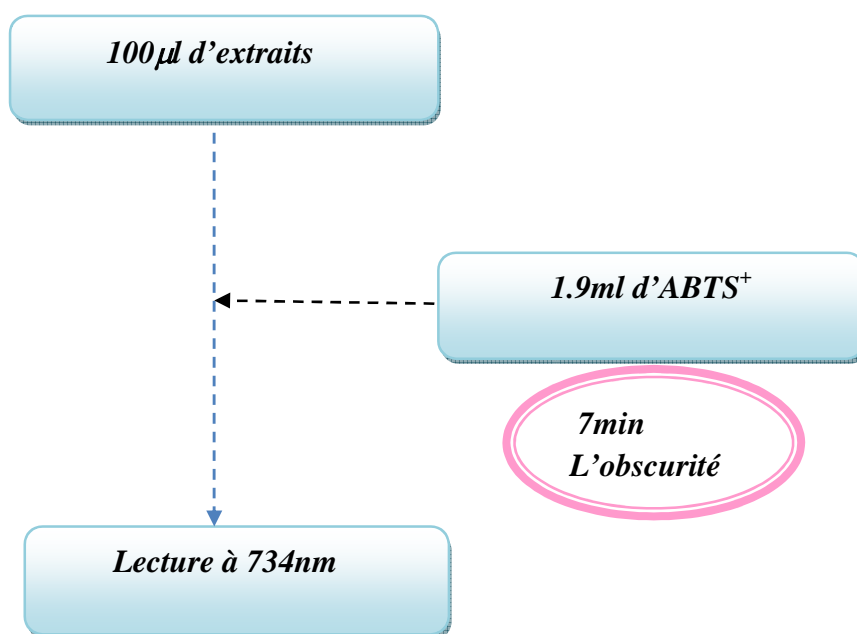


Figure 17 : Protocole de la mesure de l'activité antioxydants par la méthode ABTS.

(Re *et al.*, 1999).

I-2-3-3-3-Expression des résultats :

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition du radical cation ABTS⁺ suivant cette équation:

$$\% \text{ d'inhibition du radical cation ABTS}^+ = [(A_C - A_T) / A_C] * 100$$

- ❖ A_C correspond à l'absorbance du contrôle (l'extrait est remplacé par du méthanol).
- ❖ A_T correspond à l'absorbance du test.

- ✓ Le TEAC « capacité antioxydant équivalente au trolox », correspond à la concentration de Trolox (analogue hydrophile de la vitamine E) donnant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1Mm du composé testé.

Résultats
et
discussions

II-1-Rendement d'extraction pondérale:

Le tableau n° III représente le rendement d'extraction de cinq extraits de nos échantillons :

Tableau n° III : Rendement d'extraction pour les cinq extraits utilisés.

Extrait	Le rendement (%)
Extrait aqueux	24.46%
Extrait éthanolique	11.87%
Extrait éthanolique à 70 %	28.06%
Extrait acétonique	4.29%
Extrait acétonique à 70 %	22.41%

D'après ces résultats nous constatons que l'extrait éthanolique à 70 % enregistre un rendement de l'ordre de **28.06 %** suivi par l'extrait aqueux de **24.26 %** et acétonique à 70 % qui est de **22.41 %**. D'autres rendements plus au moins importants ont été observés dans les extraits éthanolique (**11.84%**) et acétonique (**4.29 %**).

Donc on constate que l'éthanol à 70%, l'eau et l'acétone à 70 % sont les meilleurs extracteurs pour *Hyoscyamus albus*, donc qui y présente une meilleure solubilité (Telli et al., 2010).

II-2-Les composés phénoliques :

II-2-1-Dosage des composés phénoliques totaux :

La quantification des composés phénoliques totaux à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) avec « l'acide gallique » à différentes concentrations

(annexe). La teneur en composés phénoliques totaux de chaque extrait a été alors calculée à partir de cette courbe et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique par gramme de matière sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure n° 18.

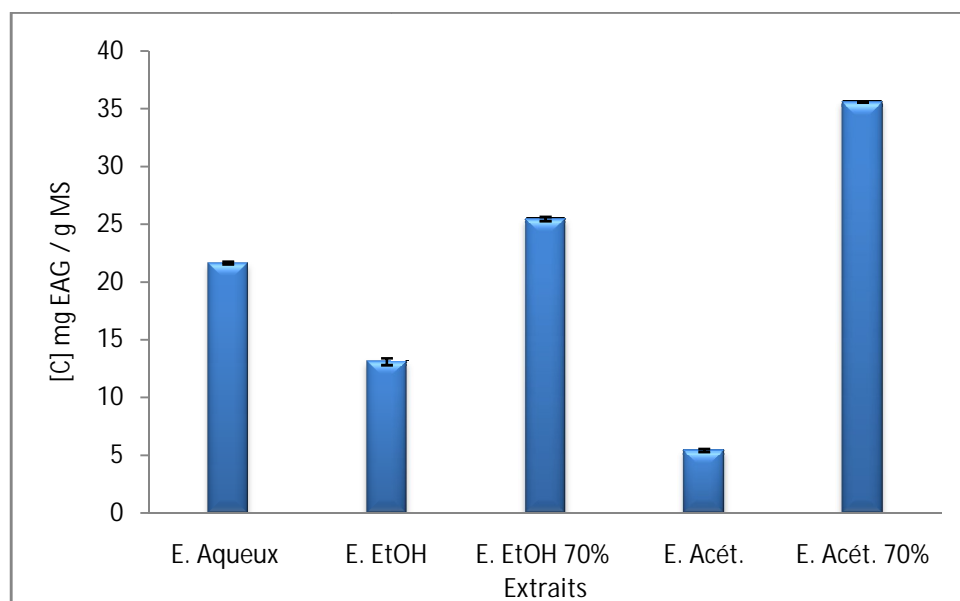


Figure 18 : Concentrations en composés phénoliques totaux de « *Hyoscyamus albus* »

On remarque d'après les résultats que la quantité de composés phénoliques varie entre **5** et **35 mg/EAG/g MS**. Le taux de composés phénoliques le plus élevé a été détecté dans l'extrait acétonique à 70% (**35.58 ± 0.009 mgEAG/g MS**), il est 7 fois supérieur à celui obtenu avec l'acétone (**$5.40 \pm 0,13$ mgEAG/g MS**).

Donc l'acétone à 70% et l'éthanol à 70% sont des solvants très polaires, ils ont extrait une quantité un peu plus élevée de polyphénols par rapport aux autres solvants.

Ces différences de teneurs en polyphénols obtenues avec les cinq solvants d'extraction (eau distillée, éthanol, éthanol à 70%, acétone et acétone à 70%) sont fonction du ratio de solubilité entre solvant/soluté.

On conclut que la solubilité des composés phénoliques est fonction de leur degré de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé. (**Falleh et al., 2008**).

II-2-2-Dosage des flavonoïdes :

La figure n°19 montre le taux de flavonoïdes obtenus avec les différents solvants et calculés par rapport à une courbe étalon réalisé avec la quercétine (**annexe**).

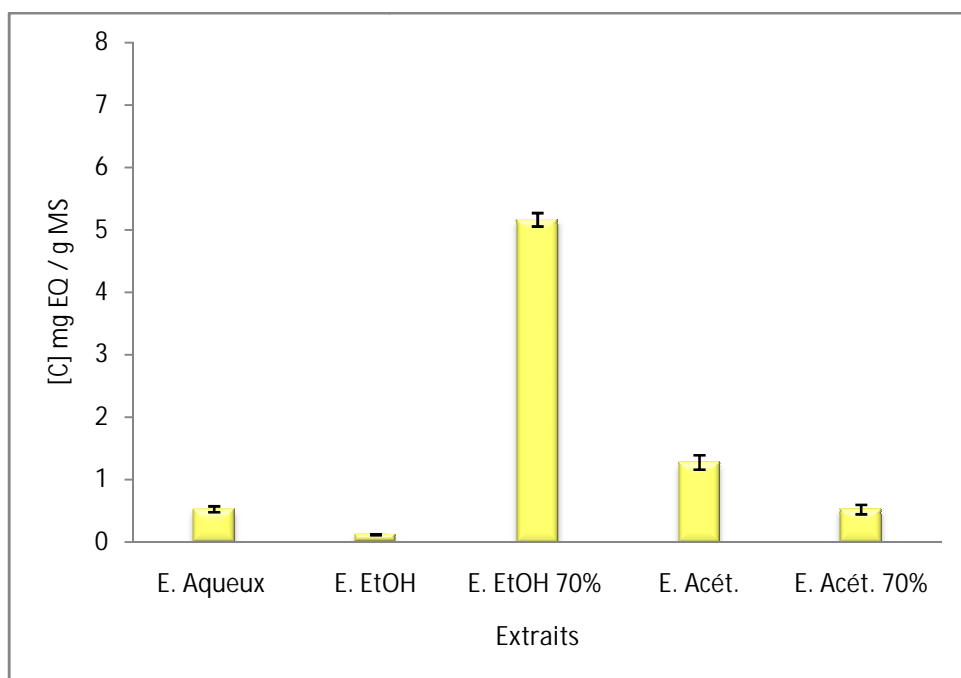


Figure19 : Concentrations en flavonoïdes par mg EQ /gMS des feuilles de

« *Hyoscyamus albus* »

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait éthanolique à 70% contient une concentration plus élevée en flavonoïdes ($5.16 \pm 0.10 \text{ mgEQ/gMS}$) par rapport aux autres extraits, notamment l'extrait éthanolique ($0.11 \pm 0.004 \text{ mgEQ/gMS}$).

Donc on conclut que l'éthanol à 70% est le meilleur solvant extracteur des flavonoïdes par rapport aux autres solvants. On remarque que les feuilles d'*Hyoscyamus albus* sont très pauvres en flavonoïdes.

II-2-3-Dosage des tannins condensés :

Le dosage des tannins condensés présenté en figure 20 est réalisé en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine exprimé en mg d'équivalent par gramme de matière sèche (annexe).

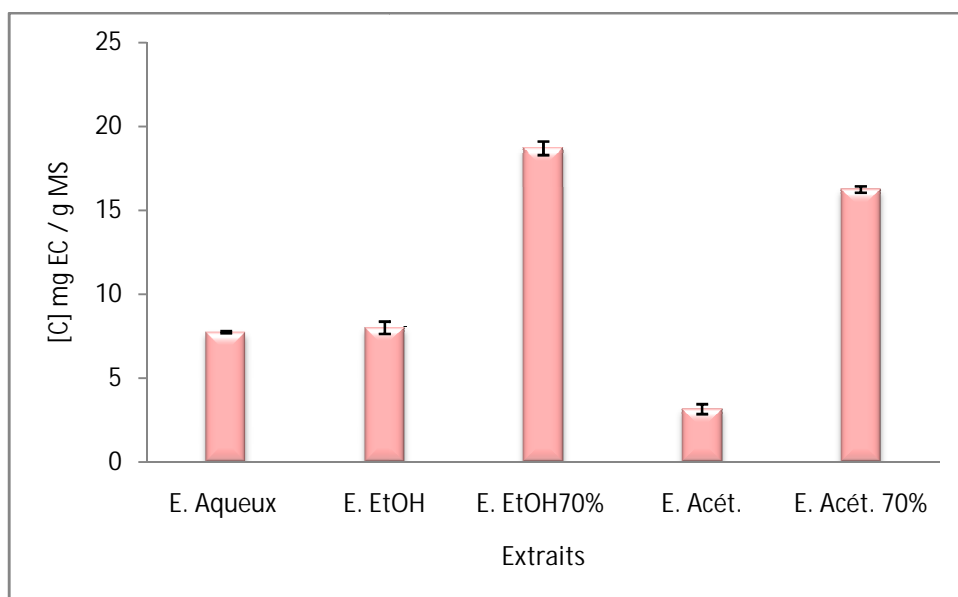


Figure 20 : Teneurs en tannins condensés des différents extraits des feuilles de « *Hyoscyamus albus* ».

D'après ces résultats on constate que le taux des tannins condensés le plus élevé est détecté dans l'extrait éthanolique à 70% (**18.65± 0.40EC/gMS**) il est 6 supérieur à celui retrouvé dans l'extrait acétonique (**3.88±0.29 EC/gMS**) , les deux extraits (aqueux et éthanolique) ont presque les mêmes teneurs.

D'après les résultats obtenus par **Alghzeer et ses collaborateurs (2012)** on constate que *Hyoscyamus albus* (**Solanacées**) est riche en tannins .

Dans ces dosages on remarque que l'éthanol à 70% et l'acétone à 70% sont les meilleurs solvants extracteurs, en raison de leur polarité.

D'après tous ces résultats on conclut que les feuilles de *Hyoscyamus albus* sont riches en polyphénols totaux et en tannins condensés , en revanche ils sont très pauvres en flavonoides.

II-3-Evaluation de l'activité antioxydants :

II-3-1- Activité « scavenging » du radical DPPH• :

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant par la méthode du DPPH se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH• [**Popovici et al., (2009)**].

Les figures n° 21 et 22 illustrent le pourcentage « scavenging » du radical DPPH des antioxydants standards et nos extraits.

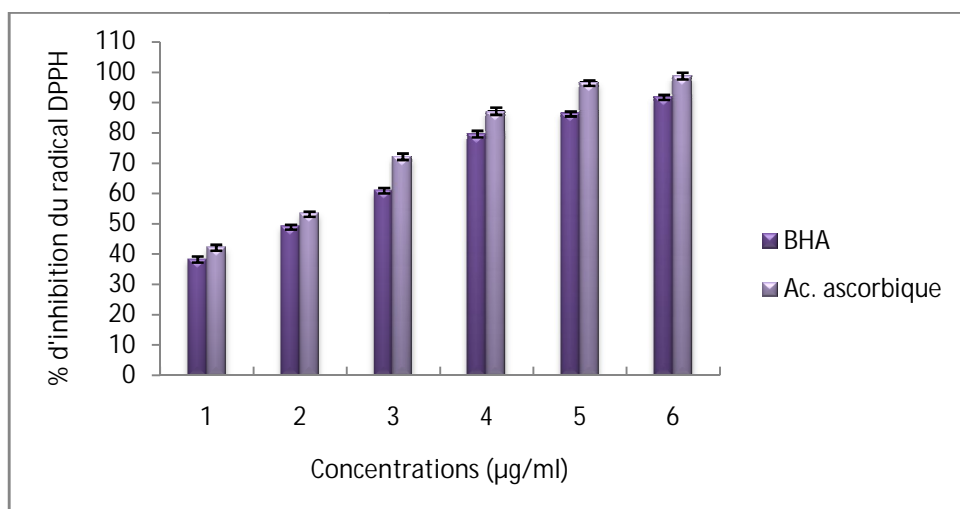


Figure 21 : Activité scavenging du DPPH en présence d'antioxydants de références

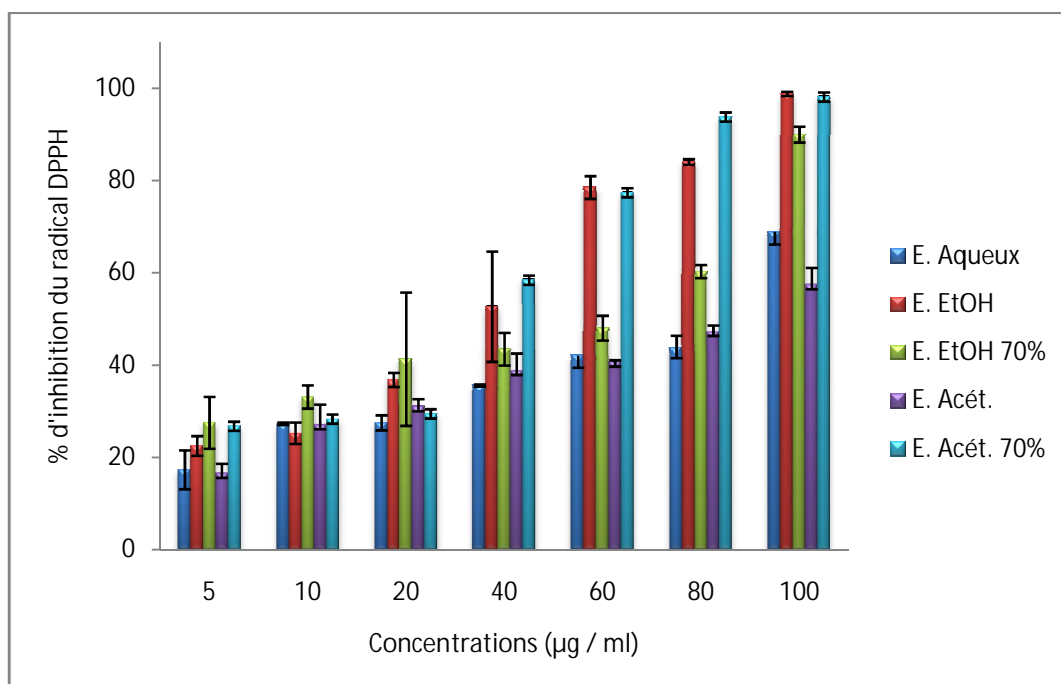


Figure 22: Pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de *Hyoscyamus albus*.

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydants de différents extraits de la plante : *Hyoscyamus albus*.

D'après les résultats obtenus, on constate que l'activité anti-radicalaire augmente en augmentant la concentration.

Les standards employés présentent des pourcentages scavenging allant de **38,23%**(BHA) à **98,63%** (acide ascorbique).

Par exemple pour l'extrait éthanolique l'effet scavenging du DPPH est de **98,12%** à une concentrations de 100µg d'extrait /ml de méthanol, il a montré la plus forte activité anti-DPPH.

II-3-1-1-Détermination de EC50:

Dans la majorité des études, la réactivité vis-à-vis du radical DPPH est estimée par la concentration effective EC50 de l'antioxydant (**Popovici et al., 2009**).

Cette valeur est inversement liée à la capacité antioxydants d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration du radical de 50%. Plus L'EC50 est faible, plus l'activité antioxydants du composé testé est importante (**Villaño et al., 2007**).

Le tableau n° IV regroupe les valeurs des EC 50 des standards et de nos extraits.

Tableau n° IV: Valeurs des EC50 des antioxydants standards et des extraits de *Hyoscyamus albus*.

Extraits	EC ₅₀ (µg/ml)
Extrait aqueux	78.74
Extrait éthanolique	34.61
Extrait éthanolique à 70%	62.87
Extrait acétonique	80.43
Extrait acétonique à 70%	35.94
BHA	2.17
Acide ascorbique	1.76

L'extrait acétonique de *Hyoscyamus albus* présente l'EC50 la plus élevée, ce qui lui confère l'activité anti-radicalaire la plus faible par rapport aux standards.

Par exemple, l'EC50 de l'extrait acétonique (**80,43µg/ml**) est supérieure

à celle de l'acide ascorbique (**1,76µg/ml**). Tandis que l'extrait éthanolique représente l'EC50 la plus faible (**34.61µg/ml**) ce qui lui confère l'activité anti-radicalaire la plus élevée .

II-3-2- Pouvoir réducteur :

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}).

L'activité antioxydants à été réalisé en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax$) utilisant 2 standards « l'acide ascorbique » et « BHA » à différentes concentrations.

Les figures n° 23 et 24 montrent le pouvoir réducteur des standards et des cinq extraits de *Hyoscyamus albus*.

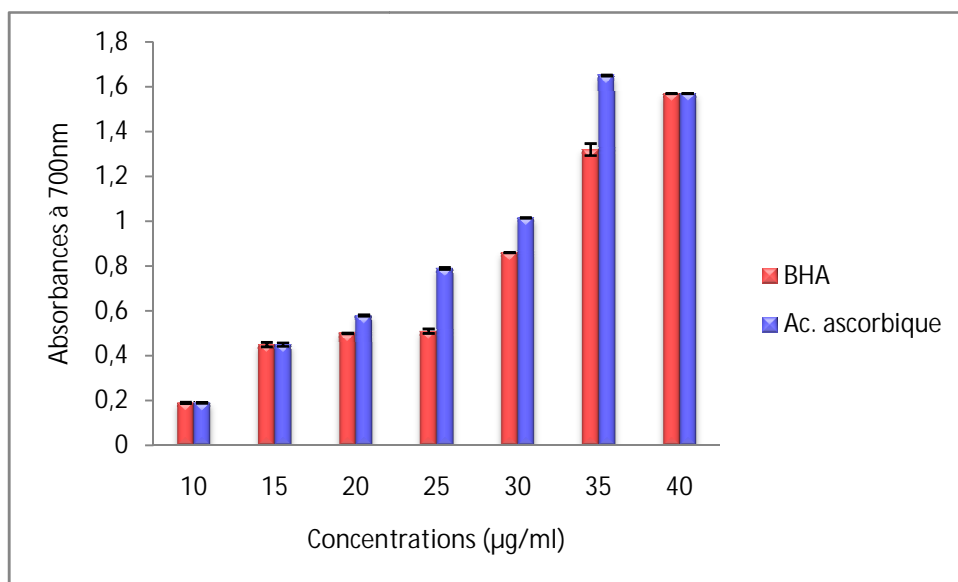


Figure 23 : Le pouvoir réducteur des standards en fonction de différentes concentrations.

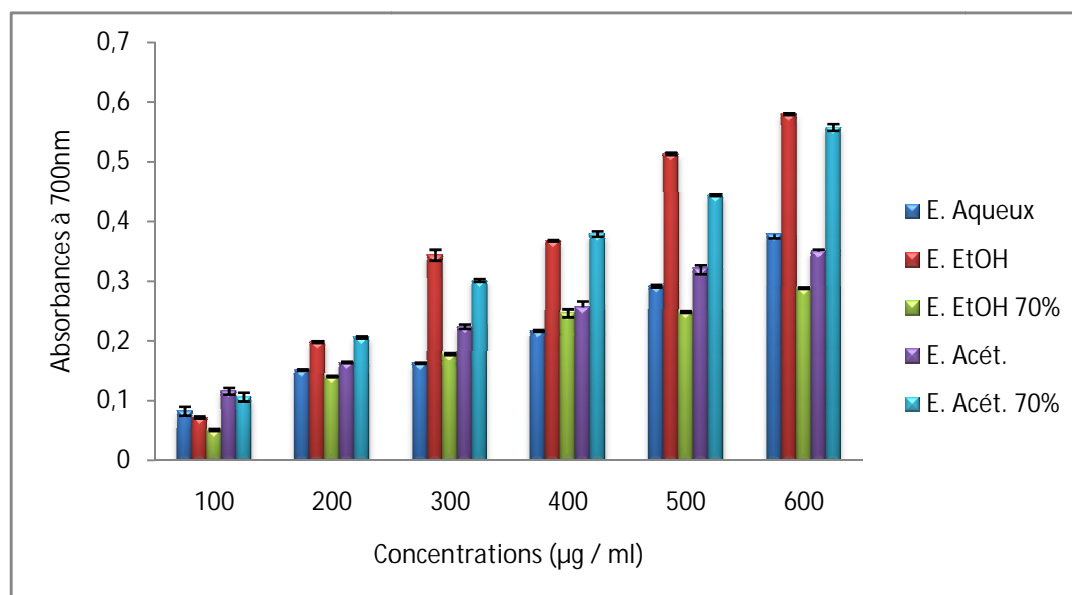


Figure 24 : Le pouvoir réducteur des extraits de *Hyoscyamus albus*. en fonction de différentes Concentrations.

D'après les résultats obtenus, on constate que le pouvoir réducteur de nos extraits augmente en augmentant la concentration.

Les standards utilisés possèdent le pouvoir réducteur allant de **0.19** à **1.57** respectivement pour l'acide ascorbique et BH.

Pour nos extraits (aqueux, éthanolique, éthanolique à 70%, acétonique et acétonique à 70%), le pouvoir réducteur le plus important a été enregistré dans l'extrait éthanolique à 70% (**0.58**)

Les résultats obtenus par **Alghzeer et al.,(2012)** sur *Hyoscyamus albus* sont différents de ceux obtenus dans notre cas : à 500µg/ml l'absorbance obtenue est de **0.35**.

Ceci pourrait être lié à la nature du solvant, ainsi que la méthode d'extraction utilisées, ce qui n'est pas précisé dans leur publications.

Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que l'extrait éthanolique présente un pouvoir réducteur important donc il renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort, tandis que les autres extraits qui ont montré un pouvoir réducteur moins

fort peuvent renfermer des substances à potentiel réducteur donneur d'électron aussi moins fort.

II-3-3- Mesure de l'activité antioxydants par la méthode ABTS :

Dans cette méthode, la capacité antioxydants est exprimée en équivalent Trolox® (TEAC) ce qui correspond à la concentration (mmole/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester. (Miller et Rice-Evans, 1997).

La figure n°25 représente le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ en se référant à la courbe standard de Trolox.(annexe).

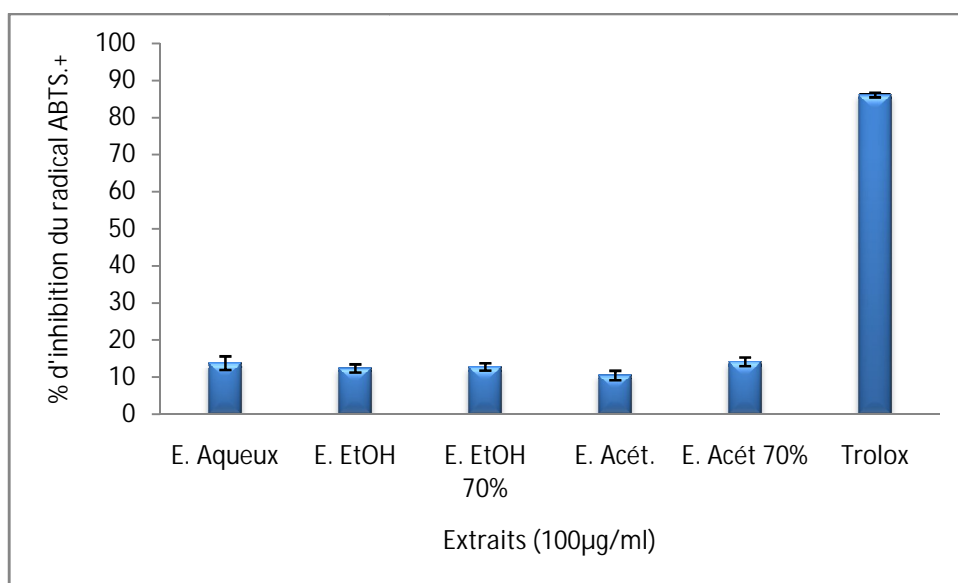


Figure 25 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺.

A partir de cette figure, nous constatons que tous les extraits présentent une activité anti radicalaire inférieure à celle exprimée par le standard à une concentration de 100µg/ml. L'extrait acétonique à 70% et l'extrait aqueux présentent des pourcentages de **14.16%** et **13.81%** respectivement, quant au reste des extraits, ils présentent **12.79%**, **12.38%** et **10.49%** respectivement pour les extraits éthanoliques à 70%, éthanolique et acétonique.

II-3-3-1-La méthode TEAC :

La valeur TEAC correspond à la concentration (mmol/l ou mg/l) de Trolox (l'analogue hydrophile de la vitamine E) ayant la même activité que la concentration unitaire du composé à tester. Cette méthode a été employée dans de nombreux laboratoires en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de sa corrélation avec l'activité biologique des

antioxydants.(Sánchez-Moreno, 2002). Tableau n° V représente le pouvoir antioxydants des extraits de *Hyoscyamus albus* en TEAC.

Tableau n° V : Pouvoir antioxydants des extraits de *Hyoscyamus albus* en TEAC.

Les extraits	TEAC(mME Trolox/gd'extrait
Extrait aqueux	1.41
Extrait éthanolique	1.44
Extrait éthanolique à 70%	1.58
Extrait acétonique	1.53
Extrait acétonique à 70%	1.66

Solen le tableau n° V, on remarque que la capacité antioxydants équivalente au Trolox(TEAC) de nos extraits varie entre **1.41mM** pour l'extrait aqueux et **1.66mM** pour l'extrait acétonique à 70%.

A partir de l'histogramme on remarque que le TEAC le plus élevé est enregistré était avec l'extrait acétonique à 70%,ce qui implique qu'il possède l'activité anti ABTS la plus efficace.

Conclusion

Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'extraction des composés phénoliques, dosage de leur différentes classes ainsi l'évaluation de l'activité antioxydant (inhibition du radical DPPH, ABTS⁺ et le pouvoir réducteur) d'une plante médicinale très peu connue appartenant à la familles des solanacées « *Hyoscyamus albus* ».

Différents solvants ont été utilisés pour l'extraction des polyphénols à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus*.

Les résultats obtenus montrent que les meilleurs teneurs en composés phénoliques ont été obtenues avec l'acétone à 70 % (**35.58mgEAG/g MS**).

Les teneurs en flavonoïdes sont plus faibles : elles varient de **0.11mgEQ/gMS** pour l'extrait éthanolique à **5.16mgEQ/gMS** pour l'extrait éthanolique à 70 %.

Dans le cas des tannins condensés le meilleur solvant extracteur est l'éthanol à 70 % qui a permis d'obtenir une teneur de **18.65 EC/gMS**.

L'activité antioxydants testée par le biais du radical libre synthétique a montré que la meilleure activité a été obtenue avec l'extrait éthanolique (**98,20%**), c'est ce même extrait qui a donné l'EC50 la plus faible (**34.61 µg/ml**), ce qui lui confère l'activité radicalaire la plus importante .

- ✓ Il serait souhaitable de réaliser une chromatographie analytique afin d'identifier les composés phénoliques actifs de la plante.
- ✓ De chercher les potentielles activités biologiques in vivo de ces molécules .
- ✓ De chercher les activités des alcaloïdes tropaniques autres que celles actuellement Connues.

- ✓ De réaliser des tests de toxicité, indispensables dans toute évaluation pharmacologique d'une molécule.

Référence
bibliographique

- ❖ **Alghazeer.R., El-Saltani.H., Saleh .,N., Al-Najjar.A., et Hebail.F.(2012).** Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts.*Natural Science* .**4(5):**324-335.
- ❖ **Bahaz M et Rachdi H.(2010)** .« *Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de Rhetinolepis Lonadoides Coss (Tichert)* », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur .Université d'Ouargla.
- ❖ **Barclay, LRC; Locke, SJ; MacNeil, JM (1985).**"L'auto-oxydation dans les micelles - Synergie de vitamine C avec vitamines liposolubles-E et soluble dans l'eau Trolox", *Can. J. Chem.* **63(2):** 366-374, doi : 10.1139/v85-062.
- ❖ **Bérubé - Gagnon, J. (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.
- ❖ **Bhat, S. V.; Nagasampagi, B. A.; Sivakumar, M.(2005)** .*Chemistry of Natural Products*.Narosa, New Delhi, India. Ch. 4 :237.
- ❖ **Blois ,M.S. (1958).**Antioxidant determinations by the use of a 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.
- ❖ **Bonnier et Layens , (1894).** Tables synoptiques des plantes vasculaires de la flore de France.
- ❖ **Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felingera, A.(2010).**Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*.**1217:** 7972–7980.
- ❖ **Bruneton,J.(1999).***Pharmacognosie,Phytochimie,Plantes médicinales*,(3èmed.).Editions Tec & Doc Lavoisier, p 1120.
- ❖ **Bruneton J ,) 2005)** .*Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux*, s 3eme édition de TEC & DOC. 618 p.
- ❖ **Cominacini L, Garbin U, Pasini AF, Davoli A, Campagnola M, Contessi GB, Pastorino AM, and Lo Cascio V. (1997).** Antioxidants inhibit the expression of intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 induced by oxidized LDL on human umbilical vein endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* **22:** 117–127.

- ❖ **Cossarizza A, Ferraresi R, Troiano L, Roat E, Gibellini L, Bertoncelli L, Nasi M, and Pinti M. (2009).** Simultaneous analysis of reactive oxygen species and reduced glutathione content in living cells by polychromatic flow cytometry. *Nat Protoc.* **4**: 1790–1797.
- ❖ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654-660.
- ❖ **Djerdane, A. (2008)** « *Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales* », Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat (L'école normale supérieure de Kouba –Alger Docteur.
- ❖ **Duval C, Cantero AV, Auge N, Mabile L, Thiers JC, Negre-Salvayre A, and Salvayre R. (2003).** Proliferation and wound healing of vascular cells trigger the generation of extracellular reactive oxygen species and LDL oxidation. *Free Radic Biol Med* .**35**: 1589–1598.
- ❖ **Eckart Eich, (2008).** *Solanaceae and Convolvulaceae: secondary metabolites Biosynthesis, chemotaxonomy, biological and economic significance*, Springer.
- ❖ **Esterbauer H, Schaur RJ, and Zollner H. (1991)** .Chemistry and biochemistry of 4-hydroxy nonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* **11**: 81–128.
- ❖ **Fang YZ, Yang S, and Wu G. (2002).** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* .**18**: 872–879.
- ❖ **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* **64(6)**: 390-396.
- ❖ **Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M. & Barros, L. (2007).** Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, **100**: 1511–1516.
- ❖ **Gauche, E., Hausswirth, C. (2006).** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité.* **58** : 43-66.
- ❖ **Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions.* **139**:1-21

- ❖ **Jouzier , E.(2005).** Solanacées médicinales et philatélie. *Plante science*. **144** :311-332.
- ❖ **Justine, Odile, Carole P. (2005).** Interêt de la supplementation en antioxydant dans l'alimentation des carnivores domestiques thèse : TOU 3 – 4116 Université Paul-Sabatier de Toulousee.
- ❖ **Kuroyanagi M ., Uchida K. (1993).**Ueno, « Tropane alkaloid production in hairy roots of *Hyoscyamus niger* transformed with *Agrobacterium rhizogenes* », *Plant Tissue Culture Letters*, **10**: 3.
- ❖ **Lagnika L., (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. *Thèse de doctorat*. Université Louis Pasteur. Strasbourg, 249 p.
- ❖ **Levizou, E., Petropoulou, Y. & Manetas, Y. (2004).** Carotenoid composition of peridermal twigs does not fully conform to a shade acclimation hypothesis. *Photosynthetica*, **42**(4): 591 -596.
- ❖ **Lhuillier, A. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches :*Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissatrichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.
- ❖ **Livermore, D.M. (2002)** .Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*, **34**(5), 634-640.
- ❖ **Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique 3ème Ed : *Technique et documentation*. Lavoisier .Paris. 211p.
- ❖ **Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie*, Université Louis Pasteur Strasbourg I.
- ❖ **Miller, N.J ; Rice-Evans, C.A. (1997).** The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chem.***60** : 331-7.
- ❖ **Minotti, G. and Aust S.D. (1987)** .*Chem.* **262**,1098-1104.
- ❖ **Naczk M. & Shahid F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatography A*. **1054**: 95-111.

- ❖ **Olmstead, R. G., J. A. Sweere, R. E. Spangler, L. Bohs, and J. D. Palmer. (1999).** Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. pp. 111-137. En: Solanaceae IV: advances in biology and utilization, M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, and J. P. Jessop (eds.). The Royal Botanic Gardens, Kew Artículo en inglés [[archive](#)].
- ❖ **Paraskevi, Moutsatsou.(2007).**The spectrum of phytoestrogens in nature : our knowledge is expanding. *Hormones*.**6(3)**: 173-193.
- ❖ **Parrilla, M.C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* .**71**: 230 - 235.
- ❖ **Peschel W., Sandez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzia I., Jiménez D.,Lamuella-Ravantos ,R.,Buxaderas S., Codina C., (2006).**An industrial approach in the search of naturel antioxydants from vegetable and fruit wastes. *Food chemistry*.**97**:137-150.
- ❖ **Popovici, C., Saykova, I. & Bartosz, T. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *e-Revue de génie industriel*. **4** : 1313 - 8871.
- ❖ **Rahman, I. (2002).** Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructivepulmonary disease: antioxidant therapeutic target. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*,**1(3)** : 291-315.
- ❖ **Re, R., Pellegrini, N., Proteggebnte, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Science Inc*, **26**:1231-1237.
- ❖ **Rice-Evans C. A., Miller J. M., and Paganga G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationship of flavon- plant foods. *Eur. J. Cancer Prev.* **7**: 17-21.
- ❖ **Rösch, D., Mügge, C., Fogliano, V. and Kroh, L.W. (2004)** .Antioxidant oligomericproanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(22)**, 6712-6718.
- ❖ **Saad, H., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B. & Ayed, N. (2012).** Characterization of pomegranate peels tannin extractives. *Industrial Crops and Products*, **40** : 239– 246.
- ❖ **Sabat G.(1957)** .*Contribution à l'étude des intoxications criminelles par les jusquiames*. Thèse de Doctorat en Médecine .Université d'Alger .90p.

- ❖ **Sánchez-Moreno C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int.* **8(3):**121-137.
- ❖ **Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* **45:** 287–306.
- ❖ **Serra B. (1989).** *Gran Enciclopedia de plantas medicinales*. Editions Tikal ISBN 84-305-8496-X. P. 203-204.
- ❖ **Villaño, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M. & Garcia- Parrilla, M.C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta, 71:* 230 - 235.
- ❖ **Virost, S. (2004).** Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de la cristalline. *Thèse de doctorat*, Université Claude Bernard-Lyon 1.
- ❖ **Walker, J.E.M., Saraste, M.J., Runswick and N.J.Gay. (1982).** Distantly related sequences in the alpha and beta subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J, 1 (8) :* 945-51.
- ❖ **Walker, Richard B.; Agric. Everette, Jace D (2009).** "reaction taux comparatives de différents antioxydants avec ABTS radical cationique", *J. Food Chem* **57 (4):** 1156-1161, doi : [10.1021/jf8026765](https://doi.org/10.1021/jf8026765) , PMID 19199590.
- ❖ **Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W. & Chen, F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry, 97:* 705-711.
- ❖ **Wu, S.J. & Ng, L.T. (2008).** Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT, 41 :* 323–330.
- ❖ **Wunderlin, R.P. (1998).** *Guide Vasc. Floride*. University Press of Florida, Gainesville. P 11-806.

Annexes

Les préparations du dosage des polyphénols :

Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
Folin-Ciocalteu	2ml/18ml d'eau distillée
Bicarbonate de sodium	1.2g/16ml d'eau distillée

Les préparations du dosage des flavonoïdes :

Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
Chlorure d'aluminium	26.6ml/20ml d'eau distillée
Acétate de sodium	80mg/20ml d'eau distillée

Les préparations du dosage des tannins condensés :

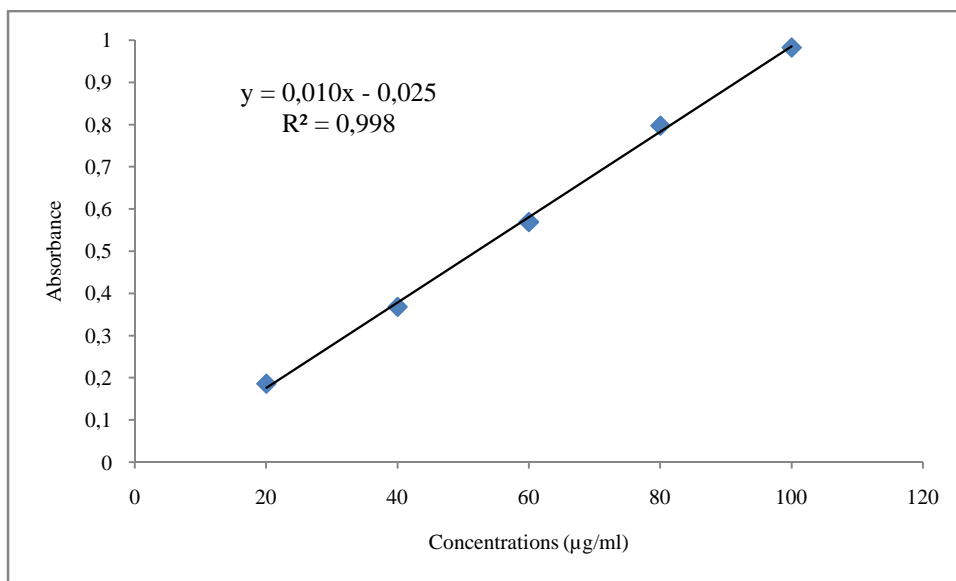
Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
Vanilline	1.2g/30ml de méthanol

Les préparations de l'activité anti-radicalaire contre le DPPH :

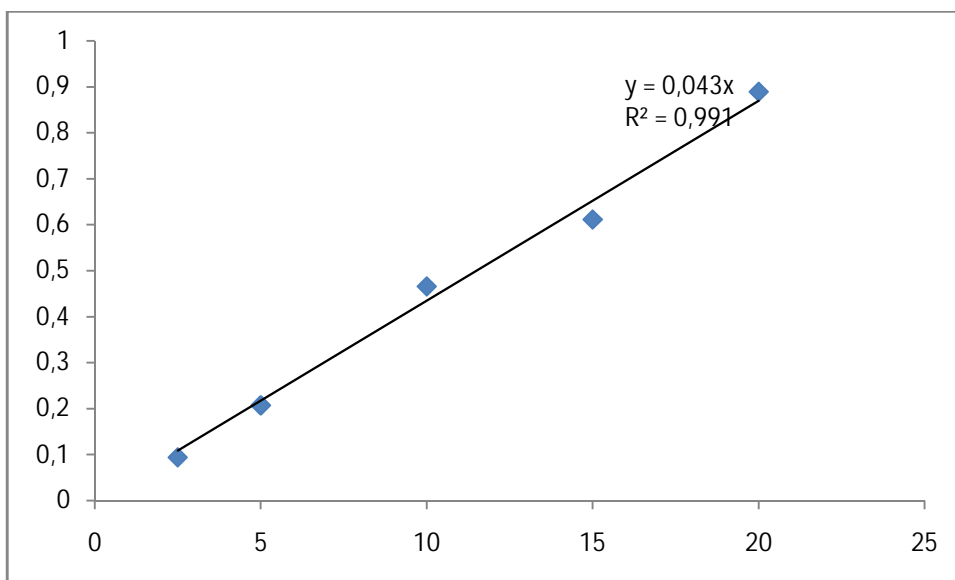
Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
DPPH α (0.1mM)	0.35mg/9ml de méthanol

Les préparations de pouvoir réducteur:

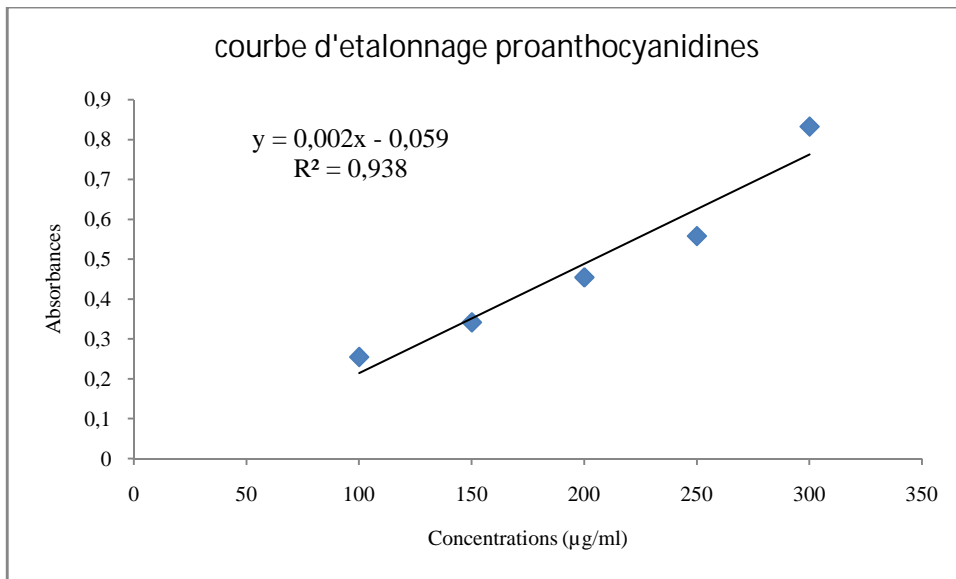
Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
Tampon phosphate composé de HK ₂ PO ₄ et NaH ₂ PO ₄	0.714g/26.25ml de méthanol 0.629g/26.25ml de méthanol
Ferricyanure de potassium	0.262g/26.25ml d'eau distillée
Acide trichloracétique	2.625g/26.25ml d'eau distillée
Chlorure ferrique	10.5mg/10.5ml d'eau distillée



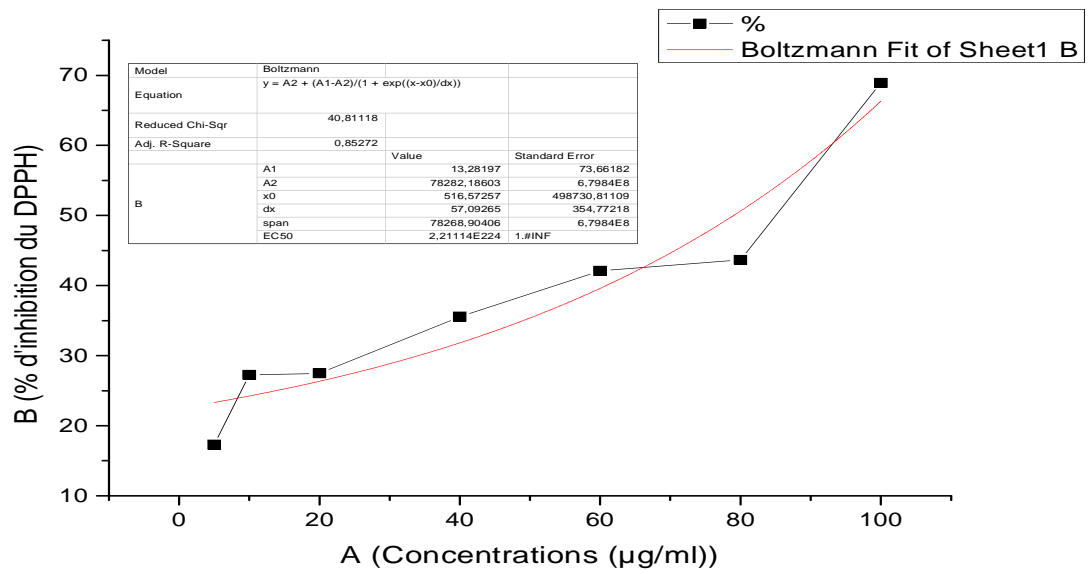
La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux avec l'acide gallique.



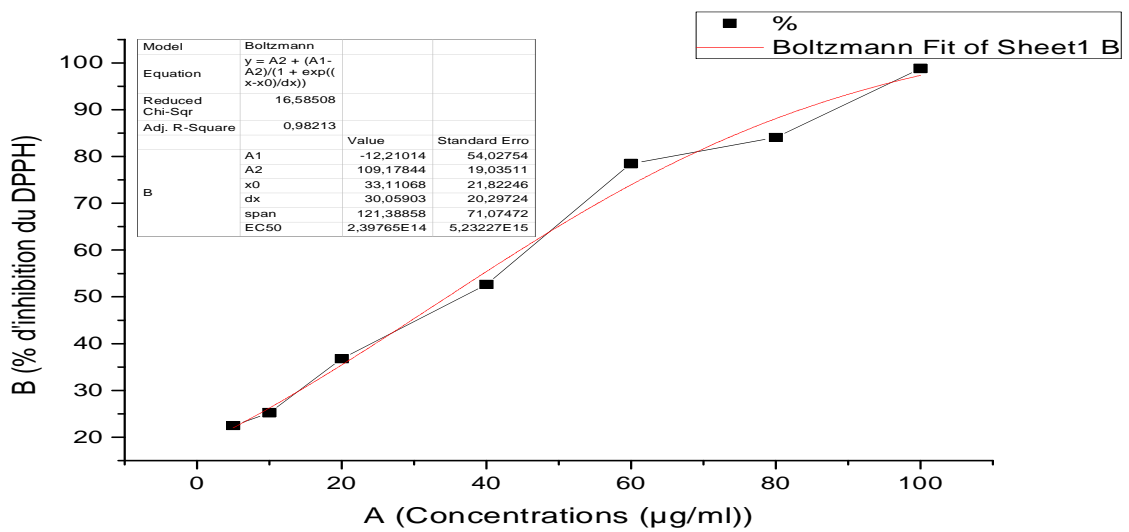
La courbe d'étalonnage des flavonoïdes avec la quercétrine.



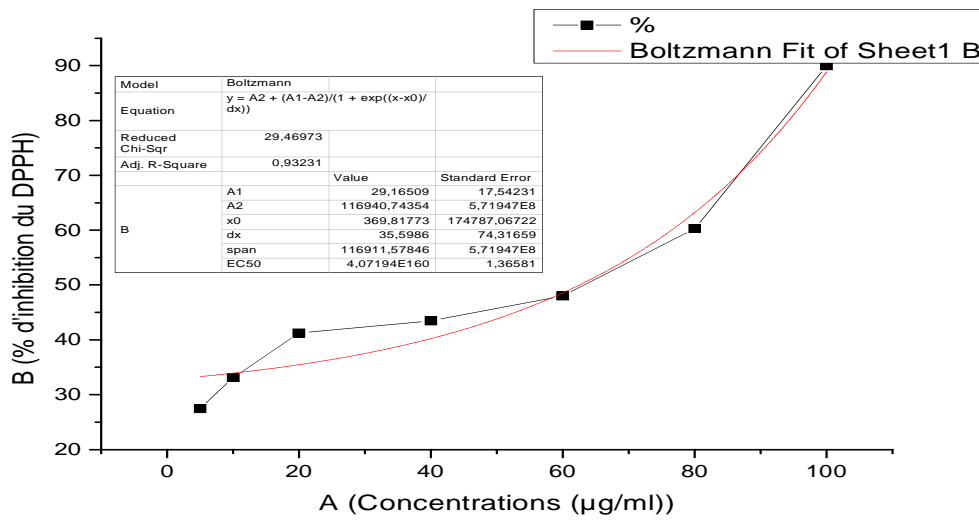
La courbe d'etalonnage des tannins condensés avec la catéchine.



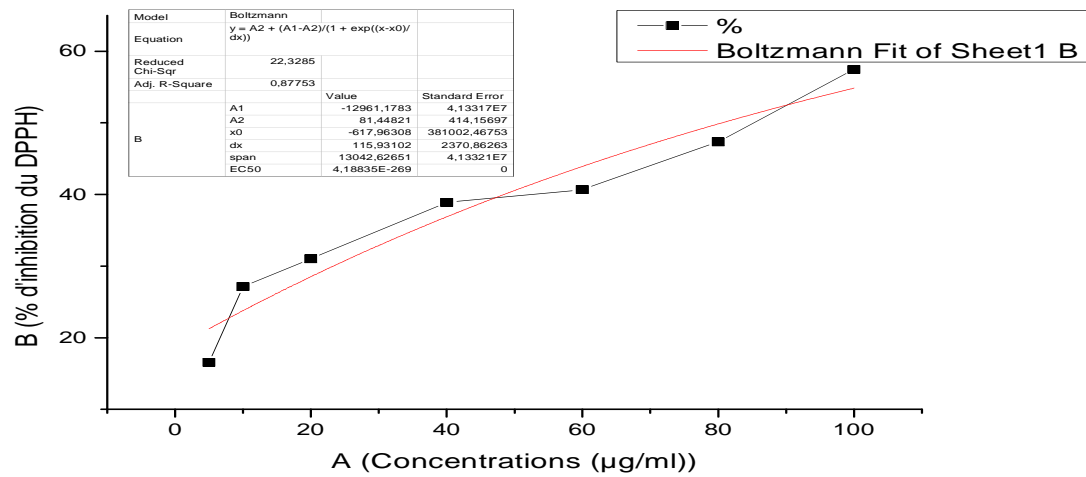
Courbe représentant l'EC50 de l'extrait aqueux



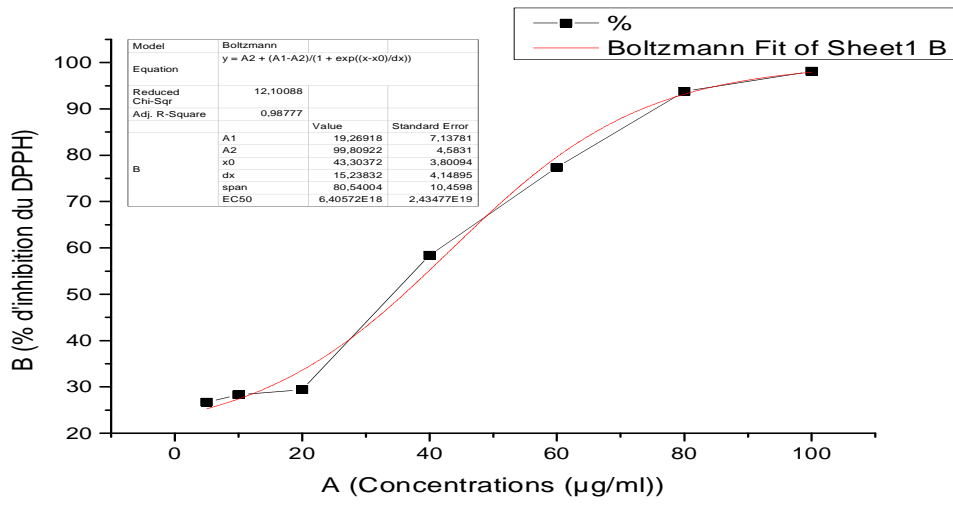
Courbe représentant l'EC50 de l'extrait éthanolique



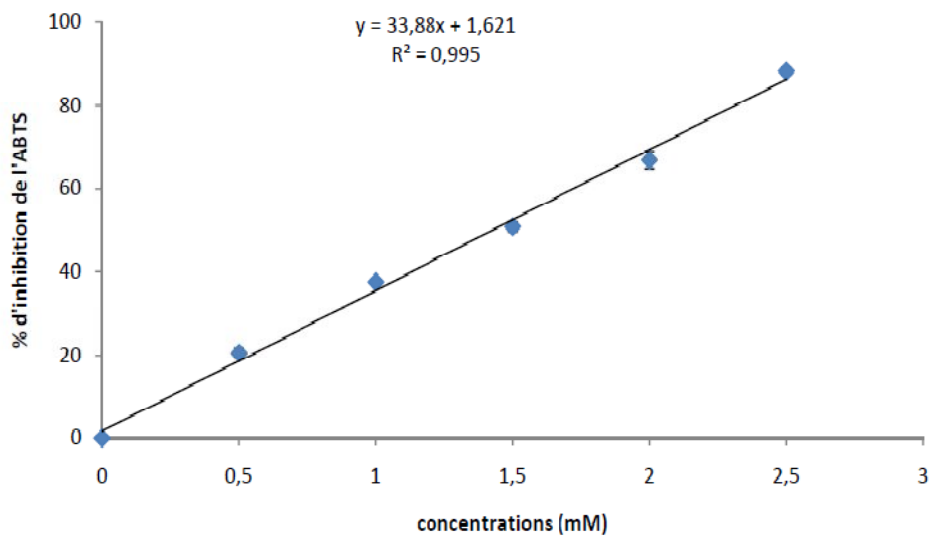
Courbe représentant l'EC50 de l'extrait éthanolique à 70%



Courbe représentant l'EC50 de l'extrait acétonique



Courbe représentant l'EC50 de l'extrait acétonique à 70%



La courbe d'étalonnage de Trolox.

Pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH de cinq extraits de *Hyoscyamus albus*.

Concentration	5µg/ml	10µg/ml	20µg/ml	40µg/ml	60µg/ml	80µg/ml	100µg/ml
%)d'inhibition de l'extrait aqueux	17,30%	27,26%	27,49%	35,58%	42,09%	43,67%	68,91%
De l'extrait éthanolique	22,47%	25,24%	36,77%	52,65%	78,50%	84,04%	98,80%
De l'extrait éthanolique à 70 %	27,49%	33,10%	41,27%	43,44%	48,01%	60,29%	89,96%
De l'extrait acétonique	16,55%	27,11%	31,01%	38,72%	40,67%	47,34%	57,45%
De l'extrait acétonique à70%	26,74%	28,31%	29,43%	58,42%	77,37%	93,78%	98,12%

Le pouvoir réducteur de cinq extraits de *Hyoscyamus albus* :

Concentration	100µg/ml	200µg/ml	300µg/ml	400µg/ml	500µg/ml	600µg/ml
Absorbance à 700nm de l'extrait aqueux	0,082nm	0,151nm	0,162nm	0,217nm	0,291nm	0,378nm
De l'extrait éthanolique	0,071nm	0,198nm	0,343nm	0,367nm	0,513nm	0,58m
De l'extrait éthanolique à 70%	0,051nm	0,140nm	0,178nm	0,246nm	0,248nm	0,288nm
De l'extrait acétonique	0,115nm	0,164nm	0,223nm	0,256nm	0,321nm	0,35nm
De l'extrait acétonique à70%	0,106nm	0,205nm	0,301nm	0,379nm	0,444nm	0,557nm