

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

*Université ABDERRAHMANE MIRA de Bejaia*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de Biologie Physico-chimique*

# *Mémoire de Master*

*Filière : Biologie*

*Option : Pharmacologie moléculaire*

*Thème*

Etude de quelques activités biologiques  
des polyphénols et alcaloïdes de la  
jusquiame blanche « *Hyoscyamus albus* »

*Présenté par :*

**M<sup>elle</sup> DJAFRI Radia**  
**M<sup>elle</sup> SADJI Salima**

**Membres de jury :**

**Présidente : M<sup>me</sup> BENMESSAOUD Y. (MAA) UAMB**

**Promotrice : M<sup>me</sup> BEDJOU F. (MCA) UAMB**

**Examinatrice : M<sup>elle</sup> ADRAR S. (MAB) UAMB**

**Examineur : M<sup>r</sup> HARFI TS. (MAB) UAMB**

**Année : 2012/2013**

# REMERCIEMENTS

## *Remerciements*

*En premier lieu nous tenons à dire « **El-Hamdouli'Allah** », merci à Dieu de nous avoir donné la santé, le courage, la force et la volonté pour accomplir ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement **Mme BEDJOU F.** de nous avoir encadré, d'avoir accepté notre thème, et pour ses encouragements, et sa gentillesse. Qu'elle veuille bien accepter nos profondes reconnaissances.*

*Nous tenons également à remercier **Mme BENMESSAOUD Y.** d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions également **Melle ADRAR S., et Mr HARFI TS.** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions tous le personnel De laboratoire (ANIMALRIE) **DJAMEL et SAIDA, FELLA et HABIBA.***

*Enfin, nous tenons à remercier tous les enseignants surtout : le Professeur d'électrochimie **Mr Mekheloufi, Mr Habbi** Habilité à la Recherche en chimie organique, **Mr Bouguezza Y, Mr Bribi N, Mr Ghidouche A, Mr Messis A,** qui nous ont aidé durant notre travail ainsi que tous les enseignants qui nous ont enseignés durant le cursus.*

***RADIA et SALIMA***

DEDICACES

## **DEDICACES**

*Avant toute chose je tiens à remercier  
Dieu le tout puissant pour m'avoir donné  
la force et la patience afin de réaliser ce  
modeste travail que je dédie  
particulièrement :*

*A mes très chers parents et grand-mère,  
symboles de courage, de volonté et  
d'amour, et que dieu leur offre une bonne  
santé et longue vie.*

*A mes sœurs : Lamia, Kamelia et Manel*

*A mon cher frère : Boualem*

*A toutes mes meilleures amies : Hanane,  
Basma, Narimène et Meriem.*

*A toute ma famille et mes camarades de la  
section Pharmacologie moléculaire.*

**RADIA**

## *DEDICACES*

*Avant toute chose je tiens à remercier Dieu le tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie particulièrement :*

*A ma chère grand-mère que Dieu la garde parmi ses bien aimés, qui utilisait cette plante contre l'eczéma  
Aux amours de ma vie, mes chers parents qui m'ont toujours encouragés et soutenus dans toute décision que je prends dans ma vie que dieu les garde en bonne santé et leur offre une longue vie.*

*A mes sœurs : Nedjima, LILA, Hakima  
et Rachida*

*A mon frère : Nassim*

*A mes petits adorables neveux : Nour-El-Houda,  
Abderrahim et Yacer.*

*A tous les membres du CSA de SNV et à toutes les basketteuses de Béjaïa, à toutes mes copines surtout :  
Sabrina amel et à tous mes amis.*

*A tous ceux qui nous ont aidés dans la récolte : le Parc National de Gouraya Yahï Djamel, Touloum Hocine,  
Mme yahï louiza et Mme Zerguïne Razika*

*A toute ma famille surtout : Yahï et à la section de Pharmacologie moléculaire. Salima*

# LISTE DES TABLEAUX

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Principales classes de composés phénoliques	<b>3</b>
<b>II</b>	Classification de <i>Hyoscyamus albus L.</i>	<b>13</b>
<b>III</b>	Les noms vernaculaires de <i>Hyoscyamus albus L.</i>	<b>14</b>
<b>IV</b>	Les synonymes de <i>Hyoscyamus albus L.</i>	<b>14</b>
<b>V</b>	Le rendement des polyphénols totaux	<b>27</b>
<b>VI</b>	Le rendement des flavonoïdes	<b>28</b>
<b>VII</b>	Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de <i>Hyoscyamus albus L.</i> à différentes concentrations	<b>36</b>

# LISTE DES FIGURES

## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Structure de base des flavonoïdes	<b>4</b>
<b>02</b>	Structure des alcaloïdes tropaniques	<b>9</b>
<b>03</b>	Fleur de <i>Hyoscyamus albus L</i>	<b>11</b>
<b>04</b>	Extraction des composés phénoliques des feuilles de <i>Hyoscyamus albus L</i> .	<b>20</b>
<b>05</b>	Extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines de <i>Hyoscyamus albus L</i> .	<b>23</b>
<b>06</b>	Teneur en polyphénols totaux en mg EAG/gde l'extrait sec des feuilles de <i>Hyoscyamus albus L</i> .	<b>28</b>
<b>07</b>	Teneur en flavonoïdes en mg EQ/g de l'extrait sec des feuilles de <i>Hyoscyamus albus L</i> .	<b>29</b>
<b>08</b>	Résultat obtenu de chaque extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines de <i>Hyoscyamus albus L</i> .	<b>30</b>
<b>09</b>	Résultat obtenu par le traitement des alcaloïdes totaux avec le réactif DRAGENDORFF.	<b>30</b>
<b>10</b>	Effet scavenging contre le radical DPPH des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de <i>Hyoscyamus albus L</i> . à différentes concentrations.	<b>31</b>
<b>11</b>	Le pourcentage de l'activité scavenging contre le radical DPPH des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de <i>Hyoscyamus albus, L</i> et les	<b>32</b>

	standards à 100 µg/ml.	
<b>12</b>	Effet scavenging contre le radical DPPH des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de <i>Hyoscyamus albus</i> L. à différentes concentrations.	<b>33</b>
<b>13</b>	Pouvoir réducteur en fonction de différentes concentrations des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de <i>Hyoscyamus albus</i> L.	<b>34</b>
<b>14</b>	Pouvoir réducteur en fonction de différentes concentrations des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de <i>Hyoscyamus albus</i> L.	<b>35</b>
<b>15</b>	Diamètre des zones d'inhibition de prolifération de <i>Salmonella</i> par l'extrait des feuilles de <i>Hyoscyamus albus</i> L.	<b>37</b>
<b>16</b>	Diamètre des zones d'inhibition de prolifération de <i>Staphylococcus</i> par l'extrait des feuilles de <i>Hyoscyamus albus</i> L.	<b>37</b>

# LISTE DES ABREVIATIONS

## *Liste des abréviations*

**Abs:** Absorbance

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**DPPH** : 2-2diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**TCA** : acide trichloroacétique

**DMSO** : diméthylsulfoxyde.

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions de fer ferrique

**Fe<sup>2+</sup>** : Ions de fer ferreux

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer

**g** : gramme

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : ferricyanure de potassium

**BHA** : butyl hydroxy anizole

**M** : Molaire

**Mg** : Milligramme

**ml** : Millilitre

**min** : Minute

**mmol** : Milli molaire

**nm** : Nanomètre

**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle

**PM** : poids moléculaire

**IP** : indice de polarité

# SOMMAIRE

# SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

## *Synthèse bibliographique*

### Chapitre I :Les composés phénoliques et alcaloïdes

I-2- Les composés phénoliques et alcaloïdes.....	3
I-2-2- Classification des composés phénoliques.....	3
I-2-2-1-Acides phénoliques simples.....	2
I-2-2-2-Les flavonoïdes.....	2
I-2-2-3-Les tannins.....	5
I-2-3- Propriétés des composés phénoliques.....	5
I-2-3-1-Propriétés physicochimiques.....	5
I-2-3-2-Activités biologiques des polyphénols.....	6
I-2-4- Généralités sur les alcaloïdes.....	7
I-2-4-1-Les alcaloïdes pyrrolizidiniques.....	7
I-2-4-2-Les alcaloïdes tropaniques.....	7
I-2-4-3-Les alcaloïdes quinoléiques.....	7
I-2-5- Activités biologiques des alcaloïdes.....	8
I-2-5-1-Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes tropaniques.....	8
I-3- Toxicité de <i>Hyoscyamus albus L.</i> .....	9

### Chapitre II : Etude botanique de *Hyoscyamus albus L* et Activités thérapeutiques

II-1- Etude botanique de <i>Hyoscyamus albus L.</i> .....	11
---	----

II-1-1-Description de <i>Hyoscyamus albus L</i> .....	11
II-1-1- 1- Caractères morphologiques de la plante.....	13
II-1-2- Classification botanique de <i>Hyoscyamus albus L</i> .....	13
II-1-3- Les noms vernaculaires et synonymes de <i>Hyoscyamus albus L</i> .....	14
II-3-Activités thérapeutiques des composés chimiques de <i>Hyoscyamus albus L</i> .....	15
II-3-1- Composition physico-chimique de <i>Hyoscyamus albus L</i> .....	15
II-3-1-1-Bases aminées.....	15
II-3-1-2-Hétérosides.....	16

## *Partie pratique*

I-1- Matériel et méthodes.....	19
I-1-1- Composés phénoliques .....	19
I-1-1-1- Matériel végétal .....	19
I-1-1-1-1 Extraction des polyphénols .....	19
I-1-2 Dosage des polyphénols .....	21
I-1-3 Dosage des flavonoïdes .....	21
I-1-2 Alcaloïdes tropaniques .....	22
I-1-2-1 Matériel végétal .....	22
I-1-2-1-1 Extraction des alcaloïdes tropaniques.....	22
I-1-2-1-2 Mise en évidence chimique des alcaloïdes .....	24
I-1-3 Activités biologiques .....	24
I-1-3-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire et antioxydant.....	24
I-1-3-1-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire .....	24
I-1-3-1-2 Pouvoir réducteur .....	25

<b>I-1-3-1-3 1</b>	<b>Evaluation de l'activité antimicrobienne .....</b>	<b>25</b>
<b>II-2</b>	<b>Résultats et discussions.....</b>	<b>27</b>
<b>II-2-1</b>	<b>Composés phénoliques .....</b>	<b>27</b>
<b>II-2-1-1</b>	<b>Taux d'extraction .....</b>	<b>27</b>
<b>II-2-1-2</b>	<b>Dosage des polyphénols .....</b>	<b>27</b>
<b>II-2-1-3</b>	<b>Dosage des flavonoïdes .....</b>	<b>28</b>
<b>II-2-2</b>	<b>Alcaloïdes tropaniques.....</b>	<b>29</b>
<b>II-2-2-1</b>	<b>Taux d'extraction .....</b>	<b>29</b>
<b>II-2-2-2</b>	<b>Mise en évidence chimique des alcaloïdes .....</b>	<b>30</b>
<b>II-2-3</b>	<b>Activités biologiques .....</b>	<b>31</b>
<b>II-2-3-1</b>	<b>Evaluation de l'activité antioxydant .....</b>	<b>31</b>
<b>II-2-3-1-1</b>	<b>Evaluation de l'activité anti-radicalaire .....</b>	<b>31</b>
<b>II-2-3-1-2</b>	<b>Pouvoir réducteur .....</b>	<b>34</b>
<b>II-2-3-1-3</b>	<b>Evaluation de l'activité antimicrobienne .....</b>	<b>36</b>
	<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>40</b>

**Annexes**

**Glossaire**

# INTRODUCTION

## *Introduction*

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction des substances actives (**Amarti et al., 2008**).

La thérapeutique par les plantes est sans doute aussi ancienne que l'est la maladie, transmise en tous lieux de génération en génération. Les plantes sont de véritables pharmacies naturelles, que la nature a établie sur cette terre afin de préserver notre santé (**Bekheci et Abdelouahid, 2010**).

Les métabolites secondaires que contiennent ces plantes sont responsables de leurs effets, il s'agit : des huiles essentielles, des alcaloïdes et des composés phénoliques (**Sacchetti, 2005**). Ces composés peuvent posséder une capacité antioxydante, réductrice, et antibactérienne très importante (**Lempiäinen, 1992**).

*Hyoscyamus albus L.* est une plante médicinale connue pour ses nombreux effets bénéfiques, c'est un parasympholytique naturel, très utilisé pour l'anesthésie générale. En Afrique du Nord, les espèces du genre *Hyoscyamus* ont été employées comme remède pour les névralgies dentaires, quelques dermatoses, et l'asthme (**Sabat, 1957**). Cette plante est riche en composés phénoliques et en alcaloïdes tropaniques (**Jouzier, 2005**).

Malheureusement, l'étude de *Hyoscyamus albus L.* a été vite abandonnée par les chercheurs, à cause de sa forte toxicité (**Kone, 2009**). Le présent travail porte sur certaines activités biologiques de *Hyoscyamus albus L.* à savoir l'activité antioxydante des alcaloïdes et des polyphénols et l'activité antimicrobienne des polyphénols.

L'extraction a été réalisée à partir des graines pour les alcaloïdes et à partir des feuilles pour les polyphénols.

Le manuscrit est structuré en deux parties : la première partie constitue une synthèse bibliographique résumant la description botanique de *Hyoscyamus albus L.*, un aperçu général

sur les composés phénoliques et alcaloïdes et enfin les activités biologiques des composés chimiques de la plante.

La deuxième partie est l'étude expérimentale comportant :

- ✓ Le matériel et les méthodes, utilisés pour l'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne.
- ✓ Les résultats qui sont interprétés par comparaison aux quelques études faites soit sur cette plante, soit sur des espèces apparentées.
- ✓ Une conclusion ainsi, que les perspectives de cette étude.

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## I-2- Les composés phénoliques et alcaloïdes

### I-2-1 Généralités sur les composés phénoliques

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

Ce sont généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge). Ils sont divisés en plusieurs catégories qui sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins issus de la polymérisation des flavonoïdes, les lignanes qui, avec les isoflavones, sont nommées phyto-oestrogènes (**Edeas, 2007 ; Rong, 2010**).

#### I-2-1-1-Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques (**Guignard, 2000**).

**I-2-1-1-1-Voie de l'acide shikimique:** Elle transforme des oses en acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, en acides cinnamiques, substances essentielles dans la synthèse des composés aromatiques et leurs dérivés comme les acides benzoïques et les coumarines (**Richter, 1993**).

**I-2-1-1-2- Voie de polyacétates:** Elle conduit à des poly  $\beta$ -coesters (poly-acétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Martin, Andriantsitohaina, 2002**).

### I-2-2- Classification des composés phénoliques

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire. Ils sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques (**Bruneton, 1999 ; Chira et al., 2012**). Les différentes classes de ces composés phénoliques, et les plantes qui les renferment sont représentées dans le **tableau I**.

**Tableau I:** Principales classes de composés phénoliques (**Reynand, 2007**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C1	Acides hydroxy benzoïque	P-hydroxybenzoïques	Epices, fraises
C6-C3	Acides	Acides caféique	Pomme de terre,

	hydroxycinnamique Coumarines	Scopolétines	pomme, citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C2-C6	Stilbénes	Résvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes, Isoflavonoïdes	Quercitine, cyanidine, daidzéine	Fruits, légumes, fleurs soja, pois
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinole	Pin
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins condensés		Raisins, kaki

### I-2-2-1-Acides phénoliques simples

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques non flavonoïdes qui peuvent être encore divisés en deux types principaux, acide benzoïque et dérivés acides cinnamiques basés sur les épines dorsales C1-C6 et C3-C6 (Sarni-Manchado, Cheynier, 2006).

#### a) Les acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) (Sarni-Manchado, Cheynier, 2006).

#### b) Les acides hydroxycinnamiques

Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'ester (avec le glucose, l'acide quinique, l'acide tartrique...) ou glycosides (Macheix et al., 2005).

### I-2-2-2-Les flavonoïdes

Les flavonoïdes se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme glucosidique (Guignard, 2000).

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). (figure01). (Hopkins, 2000).

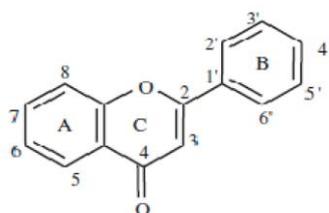


Figure 01 : Structure de base des flavonoïdes (Musquiz et al., 2004)

### **I-2-2-2-1-Aperçu général sur la quercétine et la rutine :**

#### **Généralités sur la quercétine :**

##### **-Définition :**

La quercétine est un composé naturel abondant retrouvé généralement, dans les pommes, les oignons, le thé, et le raisin. C'est le représentant principal de la sous-classe de flavonols de la classe des flavonoïdes. Sa nomenclature complète est : 3,3',4', 5,7-pentahydroxy flavone.

##### **-Propriétés biologiques :**

Plusieurs propriétés pharmacologiques et biologiques qui peuvent être salutaires à la santé des humains ont été attribuées à la quercétine, incluant entre autre des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, et anti-cancérogènes (**Utesch et al., 2008**).

#### **Généralités sur la rutine :**

##### **-Définition :**

Le rutoside ou rutine est le rhamnoglucide en 3 du quercétol (tétra OH-5, 7,3',4' flavonol).

Elle fait partie de la grande famille des bioflavonoïdes.

##### **- Applications thérapeutiques :**

La rutine présente différentes propriétés pharmacologiques dont la réduction de la fragilité et de la perméabilité des capillaires, l'amélioration de l'action de la vitamine C en augmentant son absorption et en retardant son élimination. Elle possède aussi des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire et des propriétés vasoprotectrices et antithrombotiques (**Hurabielle, 1989**).

### **I-2-2-3-Les tannins**

Les tannins sont des métabolites de défense présents chez les végétaux supérieurs et les algues, notamment les algues brunes (**Archivio et al., 2007**). Ils sont classés en deux grands groupes de tannins, différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins condensés et les tannins hydrolysables (**Sarni-Manchado et Cheyner, 2006**).

## **I-2-3- Propriétés des composés phénoliques**

### **I-2-3-1-Propriétés physicochimiques**

La présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques hydroxylés chez tous les composés phénoliques est responsable de certaines propriétés communes utilisées pour les extraire à

partir du matériel végétal. Les polyphénols sont généralement extraits, selon leur solubilité. Ils sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le chloroforme et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (Bruneton, 1999; Macheix et al., 2005).

### I-2-3-2-Activités biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont connus pour leurs nombreuses activités biologiques (Martin, Andriantsitohaina, 2002 ; Xia et al., 2010). Tels que :

*a) Activité anti inflammatoire* : Certains composés phénoliques modifient le fonctionnement des macrophages alvéolaires, comme ils inhibent leurs capacités de produire les intermédiaires d'oxygène réactif et diminuent la libération de l'acide arachidonique qui est le point de départ pour une réponse inflammatoire générale (Bruyne, 1999; Nijveldt et al., 2001).

*b) Activité antimicrobienne* : Il existe différents types de composés anti microbiens. Les polyphénols peuvent influencer sur la croissance et le métabolisme des micro-organismes (Linden et al., 1994).

*c) Activité anticancéreuse* : Beaucoup d'expériences ont démontré que les polyphénols sont capables d'empêcher la croissance des cellules cancéreuses, en agissant sur les trois phases de cancérisation : Initiation, promotion, propagation (Tensseder, 1995 ; Marchand et al., 2002).

*d) Inhibition enzymatique*: De nombreux polyphénols sont capables de se fixer sur certaines enzymes et de modifier les équilibres enzymatiques (Hiipakka et al., 2002).

*e) Activité antioxydante* : Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans nos régimes, alimentaires.(Scalbert et al., 2005). Ils agissent comme donneurs de protons ou d'électrons et piègent les radicaux libres (l'effet scavenger) générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement tels que les radicaux hydroxyles ( $\cdot\text{OH}$ ), super-oxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et radicaux peroxy-lipidiques (Ghedira, 2005).

Cette activité est étroitement liée à leurs propriétés structurales, à savoir le nombre et la position des groupements hydroxyles et le degré de méthylation, de glycosylation et de polymérisation. L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Macheix et al., 2005).

### I-2-4- Généralités sur les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose

(Bruneton, 1999 ; Zenk, Juenger, 2007).

Du point de vue structural, nous présenterons les alcaloïdes pyrrolizidiniques, les alcaloïdes tropaniques pour leur abondance, et pour leur présence dans les graines de *Hyoscyamus albus L.* et les alcaloïdes quinoléiques.

#### I-2-4-1- Les alcaloïdes pyrrolizidiniques

Les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont caractéristiques des Asteraceae, des Boraginaceae, des Leguminaceae et des Orchidaceae : 95% des espèces qui contiennent ces alcaloïdes appartiennent à une de ces quatre familles. Ces alcaloïdes sont des toxines qui manifestent des propriétés hépatotoxique, pneumotoxique, mutagène, cancérigène et embryotoxique. Dans certains cas, leur hémisynthèse a permis d'améliorer quelques propriétés telles que : virostatique, antileucémique, anesthésique, hypotensive, antispasmodique.

Du point de vue structural, les alcaloïdes pyrrolizidiniques dérivent du méthylpyrrolizidine composé de deux cycles à cinq chaînons avec l'azote en tête de pont (Alali et al., 2008).

#### I-2-4-2- Les alcaloïdes tropaniques

L'ornithine et l'arginine sont les précurseurs du noyau tropanique. Ceux-ci, par décarboxylation, conduisent à la putrescine qui grâce à la putrescine méthyl transférase (PMT), aboutit à la formation de la N-méthylputrescine. L'étape suivante est une désamination oxydative transformant la N-méthylputrescine en N-méthylaminobutanal qui, spontanément se cyclise pour donner le sel de N-méthylpyrrolillium. A ce stade, l'acétate apporte les carbones supplémentaires nécessaires à l'élaboration du cycle pipéridinique du tropane. Du point de vue pharmacologique, les alcaloïdes tropaniques sont des agents anticholinergiques (Dräger, 2002).

#### I-2-4-3- Les alcaloïdes quinoléiques

La condensation de la tryptamine avec la secologanine forme la strictosidine, intermédiaire central dans la formation de plusieurs alcaloïdes avec comme enzyme clé la strictosidine synthétase. La strictosidine grâce à la déshydrogénase, conduit à la didéhydrostrictosidine dont la biotransformation en plusieurs étapes aboutit à la formation de la camptothécine, qui

est un alcaloïde quinoléique. Des alcaloïdes quinoléiques se trouvent dans les écorces de *Cinchona* (Guignard, 2000).

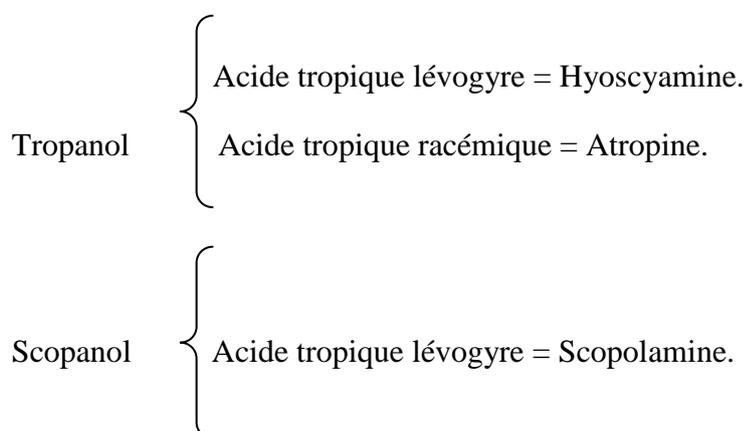
### I-2-5- Activités biologiques des alcaloïdes

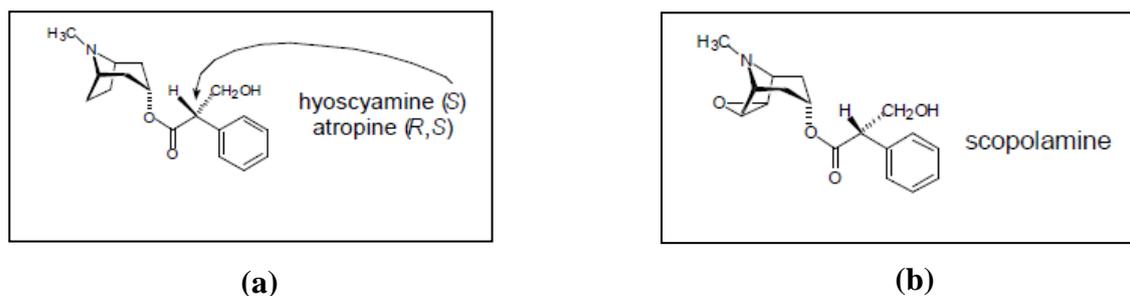
Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (McCalley (2002), Silvestrini et al. (2002), Stöckigt et al. (2002)) :

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine
- Antalgiques : morphine, codéine
- Spasmolytiques : tubocurarine et papaverine,
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine,
- Emétiques : émétine,
- Antitussifs : codéine,
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline,
- Antipaludiques : quinine
- Ce sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

#### I-2-5-1-Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes tropaniques

De semblables relations d'isomérisation optique existent entre la Scopolamine et l'Atropine, alcaloïdes qui résultent respectivement de l'estérification du scopolamine par l'acide tropique lévogyre (scopolamine)(Smith, 2004). On résume ceci comme suit :





**Figure :02** Structure des alcaloïdes tropaniques : atropine et hyoscyamine (a), scopolamine (b) (Hurabielle, 1981).

### I-2-5-1-1- L'Atropine

Aiguilles anhydres, incolores, soyeuses, inodores, de saveur amère désagréable, et inactive sous la lumière polarisée (Gregoire, 2006).

### I-2-5-1-2- Hyoscyamine

Aiguilles incolores, soyeuses, anhydres, inodores, de saveur désagréable (Sabat, 1957; Richard 2012).

### I-2-5-1-3- Scopolamine :

Produit sirupeux, peu soluble dans l'eau, faiblement dans l'éther, l'alcool et le chloroforme.

Avec les acides, ce produit donne des sels bien cristallisés solubles dans l'eau parmi lesquels le bromhydrate est le plus utilisé en thérapeutique. Les alcalis, en solution alcoolique et à froid, exercent sur elle la même action que sur l'hyoscyamine, formant l'isomère racémique, et la scopolamine inactive (Kone, 2009).

## I-3- Toxicité de *Hyoscyamus albus* L.

Atropine, Scopolamine et Hyoscyamine sont en effet les trois alcaloïdes retrouvés dans cette solanée. L'Atropine n'est que le racémique de l'Hyoscyamine (Kone, 2009).

**I-3-1- Atropine :** A dose toxique, apparaît plus nettement l'action existante se traduisant par des vertiges, hallucinations, délires et parfois même de véritables accès de fureur (El Shazly, 2007).

**I-3-1-1- Mode d'action de l'atropine :** elle agit sur l'acétyl-choline des récepteurs périphériques du système parasympathique, et dans l'organisme, son affinité pour de tels récepteurs est pratiquement exclusive (**Sabat, 1999**).

**I-3-2- Scopolamine:** Elle est parasympatholytique, d'action proche de celle de l'Atropine avec quelques différences de détail. Mais elle se distingue nettement de celle-ci par son action centrale sédative. Elle produit également de l'incoordination motrice d'origine centrale et périphérique.

**I-3-2-1- Mode d'action de l'atropine :** Alors que l'Atropine, surtout à faible dose excite le système nerveux central et notamment le cerveau, la scopolamine se comporte comme un sédatif puissant. Chez l'homme, la scopolamine produit l'incoordination motrice et le sommeil. Mais chez certains sujets, on observe au cours du sommeil des troubles nerveux (hallucinations, délire, et aux doses fortes, de l'excitation) (**Rong, 2006**).

### **I-3-3 - Essai de traitement**

Les principes du traitement, sont à la fois basés sur la symptomatologie et sur la physiopathologie de l'intoxication. Le traitement symptomatique devra ensuite lutter contre le collapsus cardio-vasculaire (huile camphrée, coramine) (**Halimi, 2004**).

Le traitement de l'agitation est plus délicat : la morphine serait dangereuse d'après certains auteurs, et il semble préférable d'utiliser le Gardénal par voie IM ou le Largactil. Un autre auteur a recommandé une perfusion IV de sérum glucosé isotonique, qui a souvent amélioré l'état du malade (**Talanoa, 2006**).

Le traitement à visée physiopathologique : rend le problème beaucoup plus ardu, du point de vue pratique, alors qu'il paraît théoriquement facile (**Richter, 1993**). Les alcaloïdes de *Hyoscyamus albus L.* sont parasympatholytiques, donc il était tentant de leur opposer les parasympathicomimétiques (**Hopkins, 2000**).

L'étude pharmacodynamique des alcaloïdes tropaniques, a montré que seule, l'Acétylcholine peut, à haute dose, déplacer l'Atropine au niveau des récepteurs cholinergiques. C'est donc logiquement à l'acétylcholine qu'il faut recourir, puisque cette dernière est le médiateur chimique de la parasympathie (**Ait youssef, 2006**).

## II-1- Etude botanique de *Hyoscyamus albus L*.

La jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus L.*), appartient à la famille des solanacées, et au genre *Hyoscyamus*. Elle est localement connue sous le nom de « Sikrane ». Elle est très employée contre diverses maladies, dans la région Méditerranéenne et en Algérie (Jouzier, 2005).

### II-1-1-Description de *Hyoscyamus albus L*.

#### II-1-1- 1- Caractères morphologiques de la plante :

*Hyoscyamus albus L.* est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, rameuse et très velue, visqueuse, mesurant 30 à 70 cm. Les feuilles mesurent de huit à vingt centimètres de longueur sur six à quinze centimètres de largeur, leur limbe est ovale, orbiculaire, en forme de cœur ou légèrement en coin à la base, sinué, denté, à dents triangulaires inégales.

La floraison se fait de Mai à Juin, les fleurs sont d'un blanc teinté de jaune verdâtre, hermaphrodites, les inférieurs étant pédonculées, les autres subsessiles. Chaque fleur se situe à l'aisselle d'une feuille, du même côté que cette dernière par rapport à l'axe de la tige. (Figure 3). (Sabat, 1957).



(A)

(B)

(C)

**Figure 3** : Fleur de *Hyoscyamus albus L*. (A), la plante entière(B), les feuilles et les fleurs(C)(Krou et al., 2005).

**Description morphologique de *Hyoscyamus albus L* :****-Racine :**

Les racines de *Hyoscyamus albus L*. sont plus ou moins grosses, selon l'âge de la plante, pivotantes, peu noueuses et pourvues de nombreuses radicelles. Elles offrent une couleur brunâtre à l'extérieur, blanche à l'intérieur, l'écorce spongieuse est assez épaisse.

**-Tige :**

Les tiges issues de ces racines ne sont pas trop élevées ; leur hauteur ne dépasse pas un mètre. Elles sont rondes, assez dures, ligneuses, rameuses, couvertes comme les feuilles, de poils très serrés, doux au toucher.

**-Feuille :**

Les feuilles à l'état frais sont molles, visqueuses et gluantes. Elles sont alternes, toutes pétiolées, aussi bien à la partie inférieure que supérieure. La nervure médiane est élargie à la base ; les nervures secondaires, peu nombreuses sont alternes, inégalement espacées. Toutes sont pales et blanchâtres, irrégulièrement ramifiées, quelquefois dès leur base.

**-Fleur :****Les pétiotes et les pédoncules floraux :**

Ils forment entre eux un angle d'environ soixante degrés et sont disposées dans le même plan par rapport à l'axe de la tige.

**Les fleurs terminales :**Elles sont groupées à l'extrémité des tiges et des rameaux en inflorescences scorpioides.

**Le calice :** Il est formé de cinq sépales soudées, il est campanulé et recouvert de poils abondants, en particulier sur la surface externe de la moitié inférieure du tube.

**La corolle :** Elle est infundibuliforme, à limbe oblique, non veiné en réseau. Elle comporte cinq pétales, formant un tube étroit de dix à vingt-quatre millimètres de longueur. Les cinq lobes alternant avec les sépales sont inégaux, arrondis (trois à cinq millimètres).

**Le gynécée :** Elle est formée de deux carpelles, l'ovaire sphéro-conique mesure trois à quatre millimètres de diamètre environ.

**Le fruit capsulaire :** peu renflé à la base, il est entouré par le calice élargie, persistant et en plus rigide que dans la fleur ; sa surface interne brillante contraste avec sa surface externe

velue. Ce fruit capsulaire contient de très nombreuses graines, petites, réniformes, gris cendré, finement réticulées, de saveur amère et acre.

Ces graines résistent à la pression mais laissent cependant sur le papier une trace huileuse (Sabat, 1957).

### II-1-1-2- Localisation des alcaloïdes dans la feuille et dans la graine

Les essais effectués sur la localisation des alcaloïdes dans des feuilles relativement jeunes, à l'aide des réactifs usuels, ont permis de localiser les principes actifs dans les poils, les épidermes, les parenchymes, et principalement à la périphérie des faisceaux libéro-ligneux (Jouzier, 2005).

Dans la graine, les alcaloïdes se sont montrés localisés dans l'assise la plus externe des téguments et surtout dans celui recouvrant l'albumen (Hopkins, 2000).

### II-1-2- Classification botanique de *Hyoscyamus albus L*.

*Hyoscyamus albus L*. appartient à l'embranchement des Spermatophytes, à la classe des Dicotylédones et à la famille des Solanaceae. La classification de *Hyoscyamus albus L*. est présentée dans le tableau n° II.

**Tableau II** : Classification de *Hyoscyamus albus L*. (Jouzier, 2005).

<b>Règne</b>	<b>Végétal</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Spermatophytes</b>
<b>Classe</b>	<b>Dicotylédones</b>
<b>Sous classe</b>	<b>Asteridae</b>
<b>Super Ordre</b>	<b>Solanales</b>
<b>Ordre</b>	<b>Solanales</b>
<b>Famille</b>	<b>Solanaceae</b>
<b>Sous famille</b>	<b>Solanoideae</b>
<b>Genre</b>	<b>Hyoscyamus</b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Hyoscyamus albus L.</i></b>

### II-1-3- Les noms vernaculaires et synonymes de *Hyoscyamus albus L*.

#### II-1-3-1- Les noms vernaculaires :

Selon la langue et la région, plusieurs noms sont attribués à cette plante (Sabat, 1957).

Les noms vernaculaires de *Hyoscyamus albus L.* sont présentés dans le **tableau n° III**.

**Tableau III :** Les noms vernaculaires de *Hyoscyamus albus L.* (Sabat, 1957).

Français	Jusquiame blanche
Arabe	houbaïl (du mot folie), bourenjout, sikran (du mot ivresse), gengit, chaoukaran, benj
Kabyle	Abou-nerjout.
Berbère	Testker, bou-nerjout, ililou, ouailoulou, taililout.
Allemand	Weissen, bilsenkraut
Anglais	White henbane

**II-1-3-2-Les synonymes :**

*Hyoscyamus albus L.* a reçu, une multitude de noms en rapport, tantôt avec son aspect, tantôt avec ses propriétés médicinales. Les synonymes de *Hyoscyamus albus L.* sont présentés dans le **tableau n° IV**.

**Tableau IV :** Les synonymes de *Hyoscyamus albus L.* (Roques et al., 1965).

Synonymes	<i>H.aureus,</i>
	<i>H.canariensis</i>
	<i>H. elussi</i>
	<i>H. luridus</i>
	<i>H. major</i>
	<i>H. various</i>
	<i>H.minor</i>

### II-3- Activités thérapeutiques des composés chimiques de *Hyoscyamus albus L*.

Les propriétés médicinales de la Jusquiame blanche sont connues depuis la plus haute antiquité, on cite les recommandations de différents chercheurs sur son utilisation :

- Les frictions, bains de vapeur sont innombrables contre diverses dermatoses (**Roques et al., 1965**).
- Les graines de jusquiame en fumigations sur des charbons ardents, contre les névralgies dentaires (**Marchand et al., 2002**).
- Les vapeurs de jusquiame ont également été utilisées comme anesthésique général(**Sabat, 1957**).

#### II-3-1- Composition physico-chimique de *Hyoscyamus albus L*.

*Hyoscyamus albus L*. est très riche en matières minérales. On peut noter la présence d'une base volatile : le tétraméthylamineobutane ou tétraméthylputrescine servant à l'identification. Elle renferme la coumarine, et lescopolétole. L'odeur désagréable de la plante est due au tétraméthylputrescine. (**Roques, 1965 ; Moreau, 1964**).

La scopolamine représente plus de la moitié des alcaloïdes totaux. Le pourcentage des alcaloïdes tropaniques est de **0,05-0,15%**, et le pourcentage de scopolamine est variable : **25 à 50%**(**Kone, 2009**).

##### II-3-1-1-Bases aminées

Après épuisements successifs au Soxhlet de la poudre de graines par l'éther de pétrole, l'éther éthylique, l'alcool éthylique absolu, le résidu alcoolique a subi plusieurs chromatographies ascendantes ce qui a permis aux chercheurs de mettre au point la présence de la choline (base aminée quaternaire) (**Roques, 1965**).

**II-3-1-1-1- Aperçu général sur la choline :****- Définition :**

La choline est un nutriment essentiel généralement rangé dans la classe des vitamines B. Chimiquement, c'est un alcool aminé. La choline alimentaire est la principale source de groupements méthyle

Elle est présente en grande partie sous forme de phosphatidylcholine.

Par liaison d'ester entre la choline et l'acide acétique se forme l'acétylcholine.

**- Propriétés physico-chimiques :**

La choline porte une fonction alcool et une fonction ammonium quaternaire. C'est une molécule chargée positivement. La choline est aussi connue sous le nom de (2-hydroxyéthyl) triméthylammonium.

**- Action physiologique :**

La choline et ses métabolites sont nécessaires pour les trois principaux objectifs physiologiques: l'intégrité structurelle et rôles de signalisation pour les membranes cellulaires, la neurotransmission cholinergique (synthèse de l'acétylcholine), et une source importante pour les groupes méthyle via son métabolite, triméthylglycine (bétaine), qui participe à la synthèse de S- adénosylméthionine (S-AMe) des voies de synthèse.

**- Utilisation :**

La choline est utilisée dans le traitement des troubles du foie de la maladie d'Alzheimer, et le trouble bipolaire (**Hurabielle, 1989**).

**II-3-1-2-Hétérosides**

**II-3-1-2-1-Dans la graine :** Les chercheurs ont constaté la présence de :

- Glucoside dont la génine et du scopolétole associé à du glucose(7-oxy-6 methoxy-coumarine)(**Bruneton, 1999**).

- Une saponine mise en évidence par voie chimique et un acide résinologique (**Roques 1965**).

**II-3-1-2-1-1-Aperçu général sur les coumarines et les saponosides :****Généralités sur les coumarines :****-Définition :**

Les coumarines sont des dérivés de la benzo  $\alpha$ -pyrone.: c'est la lactone de l'acide o-hydroxycinnamique. La cyclisation de l'acide o-coumarique aboutit directement aux coumarines.

**-Constitution chimique :**

Ses constitutions possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite) ; c'est pourquoi on les rattache souvent aux polyphénols.

**-Propriétés physico-chimiques :**

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère ; certaines sont sublimables et entraînaient à la vapeur d'eau. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultra-violette.

Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone insaturée, notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin.

**-Action physiologique :**

D'une façon générale, les coumarines ont une action vitaminique P ; on les emploie ainsi que leur dérivés contre les troubles veineux (esculoside, esculétole).

Les furocoumarines, sont surtout des photosensibilisants, et les pyranocoumarines des antispasmodiques (**Bruneton, 1999; Naczka, Chahidi, 2004**).

**Généralités sur les saponosides :****-Définition :**

Ce sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes Présents dans tous les organes (surtout dans les racines), ils sont localisés dans les vacuoles.

**-Propriétés physico-chimiques :**

Les hétérosides, difficilement cristallisables, sont solubles dans l'eau (solution colloïdale), dans l'alcool dilué et insolubles dans les solvants organiques apolaires.

Les sapogénines sont, en général, insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires.

**-Action physiologique :**

L'action dominante est une action irritante sur les cellules. Elle se traduit :

Au niveau du parenchyme pulmonaire par un pouvoir expectorant

Sur les cellules rénales par un effet diurétique

Sur les hématies par une action hémolytique

Les saponosides exercent également une action protectrice sur le système veineux (propriétés vitaminiques P).

**-Utilisation :**

Les plantes à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés dépuratives, diurétiques, expectorantes, et veinotropes (contre les varices et hémorroïdes).

Dans l'industrie, les saponosides comptent de nombreux emplois :

Industrie pharmaceutique : les sapogénines stéroïdiques servent de matière première d'hémisynthèses de dérivés stéroïdiques corticoïdes ou progestatifs.

Industries diverses : les saponosides ont d'importants débouchés comme agents moussants et émulsionnants (Bruneton, 1999; Macheix et al., 2005).

**II-3-1-2-2-Dans la feuille :** Les chercheurs ont montré que les feuilles de *Hyoscyamus albus L.* contiennent de la rutine (3-rhamnoglucoside du 5, 7,3',4' tétrahydroxyflavonol), qui après hydrolyse acide a donné d'une part le glucose et le rhamnose et d'autre part la quercétine (Gregoire, 2006).

# MATERIEL ET METHODES

## **II- Partie pratique :**

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de l'Animalerie de l'Université de Abderrahmane Mira de Bejaia

### **II-1- Matériel et méthodes :**

#### **II-1-1 Composés phénoliques :**

##### **II-1-1-1- Matériel végétal :**

###### **Cueillette de la plante :**

La plante *Hyoscyamus albus L.* est récoltée dans les communes de Barbacha et Boukhelifa en Février et Mars 2013, l'identification de la plante a été faite par Mr BOUADAM Saïd enseignant à la Faculté des Science de la Nature et de la Vie.

###### **Préparation de l'échantillon :**

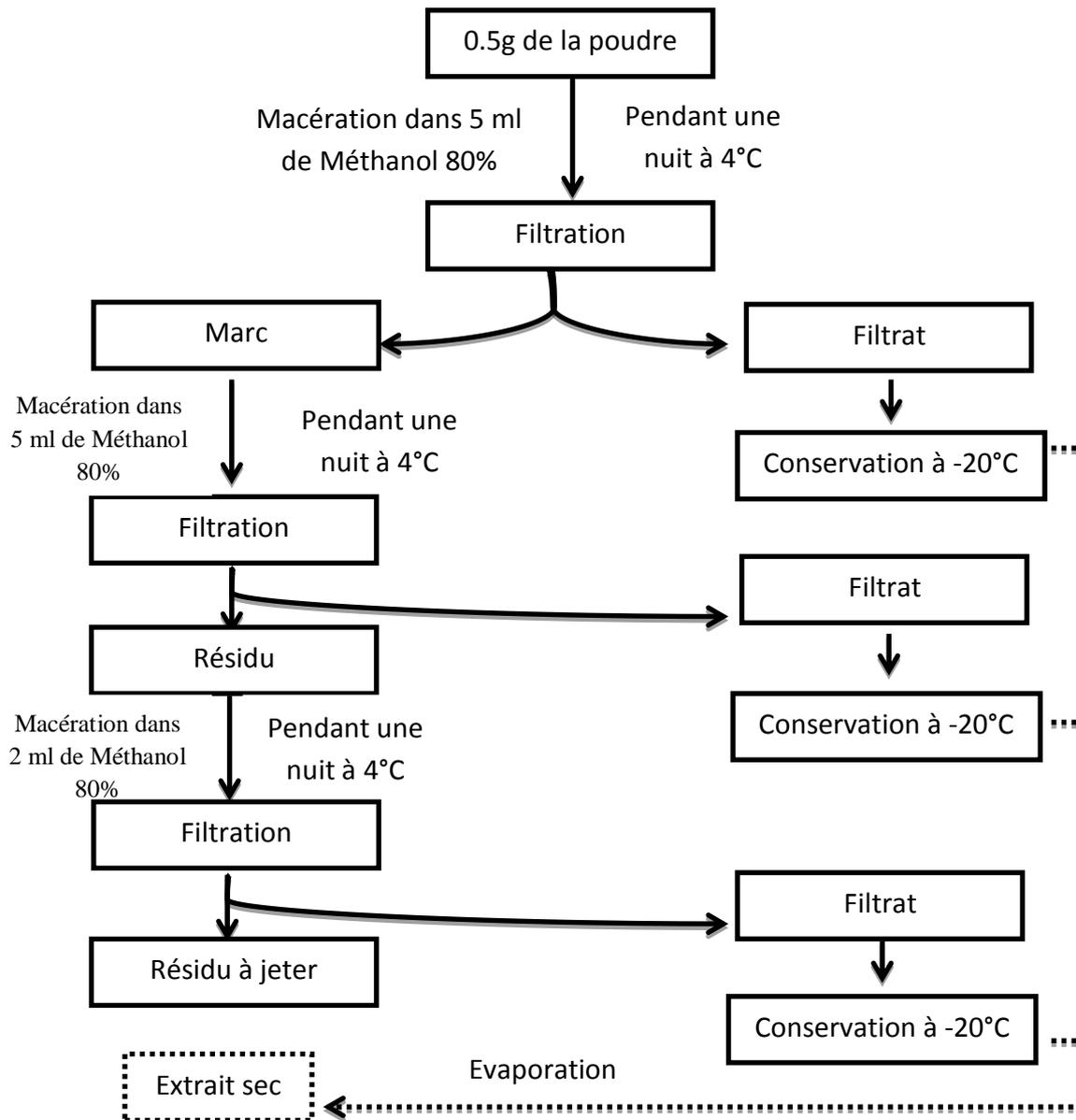
Les feuilles ont été lavées, séchées de 7-10 jours dans l'étuve à 40 °C, en suite broyées à l'aide d'un broyeur électrique et tamisées par un tamiseur de diamètre 250µm.

##### **II-1-1-1-1 Extraction des polyphénols :**

L'objectif de l'extraction est d'obtenir les composés phénoliques présents dans des structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion.

L'extraction solide-liquide ou liquide-liquide sont les techniques les plus communément utilisées pour l'extraction des composés phénoliques des substances naturelles, essentiellement pour leur facilité, efficacité et leur large gamme d'application (**Stalikas, 2007**).

Le protocole d'extraction suivi est celui de **Franke (2004)** basé sur l'extraction sélective solide-liquide. Les différentes étapes d'extractions sont résumées dans la figure n° :**04**.



**Figure 04:** Extraction des composés phénoliques des feuilles de *Hyoscyamus albus* .

L(Franke, 2004)

#### Taux d'extraction :

Le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

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

**P0** : poids de la poudre avant extraction.

**P1** : poids de l'extrait sec après extraction.

**II-1-2 Dosage des polyphénols :****Méthode utilisée :**

Le taux de phénols totaux de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est déterminé par la méthode utilisant le Folin-Ciocalteu décrite par **Owen et Johns (1999)** avec quelques modifications.

**Mode opératoire :**

250 µl de l'extrait est mélangé avec 1.25 ml du réactif de Folin-Ciocalteu.

Après 5 min d'incubation à température ambiante, 1 ml d'une solution de bicarbonate de sodium est ajouté.

La préparation est laissée pendant 1 heure, à l'abri de la lumière, puis l'absorbance est lue à 740 nm est mesurée contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait est remplacé par du méthanol 80%.

Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer la concentration en phénols totaux de l'extrait exprimée en mg équivalent acide gallique /g d'extrait (annexe).

**II-1-3 Dosage des flavonoïdes :**

**Méthode utilisée :** Le dosage des flavonoïdes est réalisée selon la méthode de **Quettier-Deleu et al. (2000)** avec quelques modifications.

**Mode opératoire :**

1ml de solution de chaque extrait est mélangé avec 1ml d'une solution de chlorure d'aluminium.

Après 15 minutes, l'absorbance est lue à 410nm contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que la solution de l'échantillon à doser est remplacée par du méthanol à 80%.

Une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme standard est utilisée afin de déterminer la concentration en flavonoïdes de l'extrait exprimée en mg équivalent quercétine /g d'extrait (annexe).

## II-1-2 Alcaloïdes tropaniques :

### II-1-2-1 Matériel végétal :

**La cueillette des graines:** les graines de *Hyoscyamus albus L.* sont récoltées en Juillet 2011, Juillet et Septembre 2012 dans la région de Tizi n Braham.

### Préparation des graines :

Les graines étaient sèches naturellement, elles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique en poudre fine.

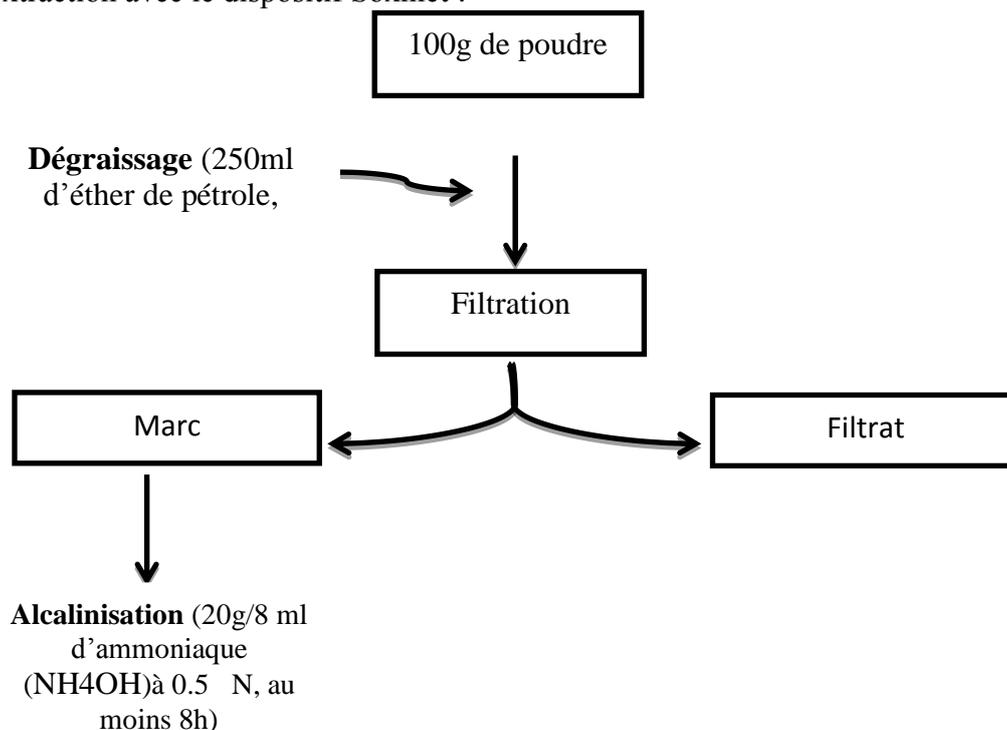
#### II-1-2-1-1 Extraction des alcaloïdes tropaniques :

**Méthode utilisée :** les alcaloïdes totaux des graines de *Hyoscyamus albus L.* sont obtenus par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin, en utilisant la technique préconisée par **Bruneton(1999)** avec des modifications.

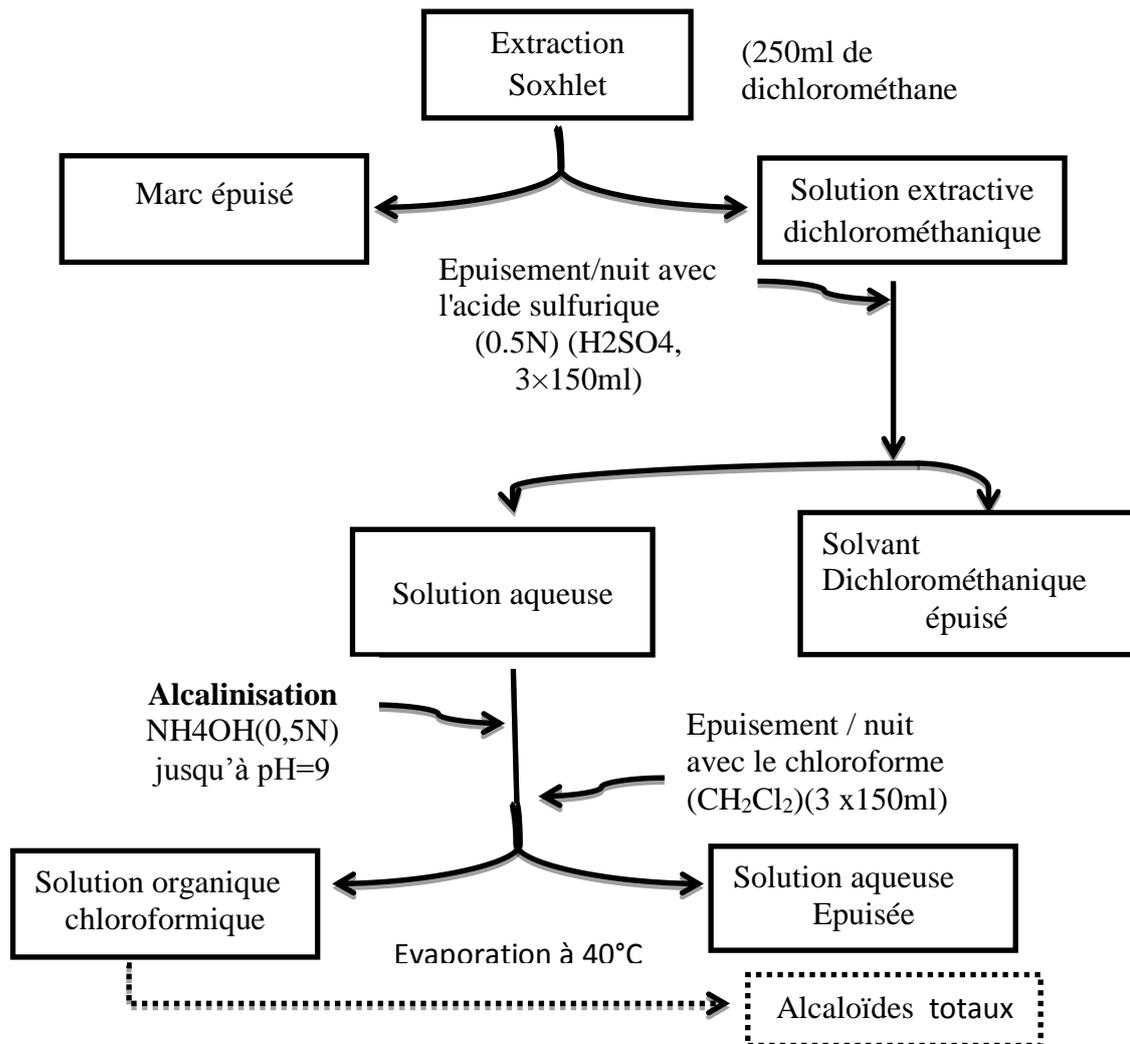
#### Mode opératoire :

Trois extractions sont réalisées par l'utilisation du dispositif Soxhlet. Les étapes d'extraction sont résumées dans la figure suivante :

Avant l'extraction avec le dispositif Soxhlet :



L'extraction avec le dispositif Soxhlet :



**Figure 05:** Extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines de *Hyoscyamus albus L.* selon le protocole de **Bruneton (1999)** modifié.

#### Taux d'extraction :

Le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

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

**P0** : poids de la poudre avant extraction.

**P1** : poids de l'extrait sec après extraction.

**II-1-2-1-2 Mise en évidence chimique des alcaloïdes :**

-Une solution méthanoïque en alcaloïdes totaux de concentration 0,5mg/ml est préparée après agitation avec un vortex.

-On ajoute à cette solution quelques gouttes du réactif DRAGENDORFF (**Bouzidi et al.,2012**).

**II-1-3 Activités biologiques :****II-1-3-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire et antioxydant :****II-1-3-1-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire:**

**Méthode utilisée :** L'évaluation de l'activité anti-radicalaire est réalisée contre le radical DPPH selon la méthode de **Hemalatha et al.,(2010)** aussi bien pour les composés phénoliques que pour les alcaloïdes tropaniques de *Hyoscyamus albus L.*

**Mode opératoire :**

A température ambiante, 3 ml de solution de chaque extrait (Test) à des concentrations variables : 100 / 50 / 25 et 12.5 µg/ml sont ajoutés à 1 ml de DPPH à chacun séparément ainsi qu'un Blanc (3 ml de solvant + 1 ml de DPPH) sont préparés et laissés à l'obscurité pendant 30 min.

Un Blanc d'Extrait est préparé avec 3ml d'extrait + 1 ml de solvant non incubé à l'abri de la lumière.

L'absorbance a été lue ensuite juste après l'incubation à une longueur d'onde de 517nm.

L'acide ascorbique et la BHA ont été utilisés comme standards et à différentes concentrations.

L'activité anti-radicalaire contre le DPPH est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité scavenging du DPPH} = [ (A_B - (A_T - A_E)) / A_B ] \times 100$$

Où :

**A<sub>B</sub>** : Absorbance du Blanc ;

**A<sub>T</sub>** : Absorbance du Test ;

**A<sub>E</sub>** : Absorbance du Blanc d'Extrait .

**II-1-3-1-2 Pouvoir réducteur :**

**Méthode utilisée :** L'évaluation du pouvoir réducteur de nos composés phénoliques et alcaloïdes tropaniques des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est réalisée selon la méthode de **Onyaizi (1986)** modifiée. Cette méthode est basée sur la réduction du fer ferrique  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe de ferricyanure de potassium  $[FeCl_3 / K_3Fe(CN)_6]$  en forme ferreuse ( $Fe^{2+}$ ).

**Mode opératoire :**

1 ml de solution de chaque extrait (composés phénoliques et alcaloïdes tropaniques) à des concentrations variables : 2000 / 1000 / 500 / 250 et 125  $\mu g/ml$  ainsi qu'un Blanc (1 ml de solvant) sont solubilisés dans 2.5 ml de tampon phosphate 0.2 M, pH = 6.6.

Ensuite 2.5 ml de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1% sont ajoutés dans chaque tube qui sera directement incubé à 50°C pendant 20 minutes au Bain-Marie après agitation .

2.5 ml de d'une solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% sont ajoutés ensuite à chaque tube.

2.5 ml de chaque tube sont mis dans un tube vide auquel on ajoute 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 de  $FeCl_3$  à 0.1 %.

L'absorbance est mesurée à 700 nm. .

**II-1-3-1-3 1Evaluation de l'activité antibactérienne:**

**Méthode utilisée :** L'activité antibactérienne des composés phénoliques des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par **Celiktaset al (2007)** et **Sacchetti et al(2005)**. La quantité d'alcaloïdes obtenue était insuffisante pour réaliser ces tests.

**Mode opératoire :**

Quatre souches bactériennes sont testées : (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*)

Des colonies sont transférées dans des tubes contenant 5 ml de bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24 h afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une turbidité, à partir desquelles des milieux de cultures appropriés à chaque souche sont ensemencés et incubés aux mêmes durées et température.

Huit colonies des souches *Salmonella typhi* et *E. coli* chacun et onze colonies des souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* chacun sont transférées dans des tubes contenant 3 ml et 4 ml de bouillon nutritif respectivement et incubés à 37°C pendant 18 h.

Par la suite la surface entière de la gélose (Gélose Mueller Hinton) estensemencée par la suspension bactérienne obtenue pour chaque souche.

Les disques stériles imprégnés de concentrations décroissantes d'extraits sec repris avec l'eau physiologique à raison de 10µl par disque, sont déposés stérilement sur la surface de la gélose. Les boîtes sont incubées 24 h à 37 °C.

La lecture est faite contre un témoin négatif (Gélose Mueller Hinton).

L'activité antibactérienneest déterminée à l'aide d'un pied à coulisse mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

## II-2 Résultats et discussions:

### II-2-1 Composés phénoliques :

#### II-2-1-1 Taux d'extraction :

Le taux d'extraction à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* calculé est de : **15.14 %**

Avec un rendement de **15.14 %** on remarque que les feuilles de *Hyoscyamus albus L.* sont riches en composés phénoliques polaires étant donné leur richesse en groupements hydroxyles.

Le taux d'extraction dans le cas de notre plante est supérieur à celui obtenue à partir des feuilles de *Satureja calamintha ssp. nepeta (L.)*, une plante appartenant à une famille des *Lamiaceae* qui est de **8,58 %**(Benmerad et al., 2012).

#### II-2-1-2 Dosage des polyphénols :

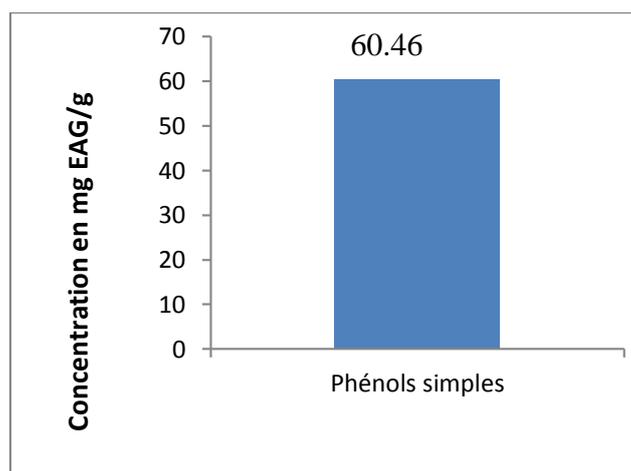
Le rendement d'extraction des polyphénols totaux de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est représenté dans le tableau n°:V.

**Tableau V:** Le rendement d'extraction des polyphénols totaux

Composé	Polyphénols
Rendement (%)	27.73%

Rendement (%) : c'est le  $\Delta$  absorbance exprimé en pourcentage.

La teneur en phénols totaux exprimée en mg EAG/g d'extrait sec de la plante, est représentée dans la **figure n°:06**.



**Figure 06** : Teneur en phénols totaux en mg EAG/g d'extrait sec des feuilles de *Hyoscyamus albus L.*

On remarque que la teneur en phénols totaux est de  $60.46 \pm 6.07$  mg équivalent acide gallique/g d'extrait, une valeur beaucoup plus élevée que celles obtenues par **Alghazeer et al. (2012)** à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* qui est de  $48.54 \pm 7.82$  mg EAG/g.

Cette différence pourrait s'expliquer du fait que l'auteur **Alghazeer et al. (2012)** a réalisé une extraction avec du méthanol pur tandis que notre extraction a été réalisée avec du méthanol 80%, donc en plus de l'extraction des composés phénoliques polaire, il existe une possibilité que l'extrait obtenu contienne les acides phénoliques plus polaires puisque leur extraction est recommandée avec des mélanges alcool-eau (**Vermerris and Nicholson ; 2006**)

### II-2-1-3 Dosage des flavonoïdes :

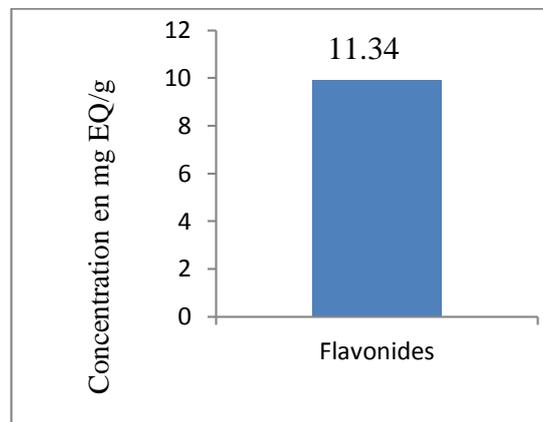
Le rendement d'extraction des flavonoïdes totaux à partir de l'extrait de la plante est représenté dans le tableau n°:VI.

**Tableau VI:** Le rendement d'extraction des Flavonoïdes

Composé	Flavonoïdes
Rendement (%)	48.9%

Rendement (%) : c'est le  $\Delta$  absorbance exprimé en pourcentage.

La teneur en flavonoïdes exprimée en mg EQ/g d'extrait sec de la plante, est représentée dans la figure n°:07.



**Figure 07 :** Teneur en flavonoïdes en mg EQ/g d'extrait sec des feuilles de *Hyoscyamus albus L.*

D'après les résultats obtenus, la teneur en flavonoïdes à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est de  $11.34 \pm 5.67$  exprimée en mg équivalent la quercétine par gramme d'extrait, une quantité inférieure à celle obtenue par **Alghazeer et al. (2012)** à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* qui est de  $27.39 \pm 0.87$  mg ER/g (équivalent la rutine par gramme d'extrait).

Cela nous ne permet pas de vérifier la teneur de la plante en quercétine mais on peut constater que sa teneur en rutine est plus importante qu'en quercétine.

## II-2-2 Alcaloïdes tropaniques :

### II-2-2-1 Taux d'extraction :

L'extraction des alcaloïdes totaux a été réalisée par la méthode d'extraction liquide-liquide avec deux solvant : chloroforme et hexane.

Les résultats de l'extraction des alcaloïdes totaux sont représentés dans la figure n°:08.



**Figure 08 :** Résultat obtenu de chaque extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines de *Hyoscyamus albus L.*

Le taux d'extraction des alcaloïdes totaux obtenu avec l'hexane à partir des graines de *Hyoscyamus albus L.* est de 0.65 %.

Ce résultat (0.65 %) semble plus élevé que la teneur en alcaloïdes dosée par la méthode de pharmacopée française (0.195%) et avoisine des teneurs obtenus par les méthodes REVOL, NOUVEL et FOSSE (0.612%, 0.599%, 0.608%) à partir des graines de *Hyoscyamus albus L.* (Roques, 1965).

Les résultats obtenus durant notre expérience peuvent s'expliquer du fait que les alcaloïdes tropaniques sont beaucoup plus solubles dans les solvants apolaires (l'hexane, I.P=0.1) que dans les solvants moins apolaires (chloroforme, I.P= 4.1).

#### II-2-2-2 Mise en évidence chimique des alcaloïdes :

Le résultat obtenu après réaction de la solution d'alcaloïdes totaux avec le réactif DRAGENDORFF est présenté dans la figure n°:09.



**Figure 09 :** Résultat obtenu après réaction des alcaloïdes totaux avec le réactif DRAGENDORFF.

La figure n°:09 montre clairement l'apparition de précipité rouge orangé après ajout du réactif DRAGENDORFF.

Cette couleur indique clairement la présence d'alcaloïdes dans notre extrait, même couleur révélée par des spots d'alcaloïdes des graines de *Hyoscyamus albus L.* sur Chromatographie ascendante réalisée par **Roques (1965)**.

Nous constatons la présence d'alcaloïdes totaux dans graines de *Hyoscyamus albus L.*

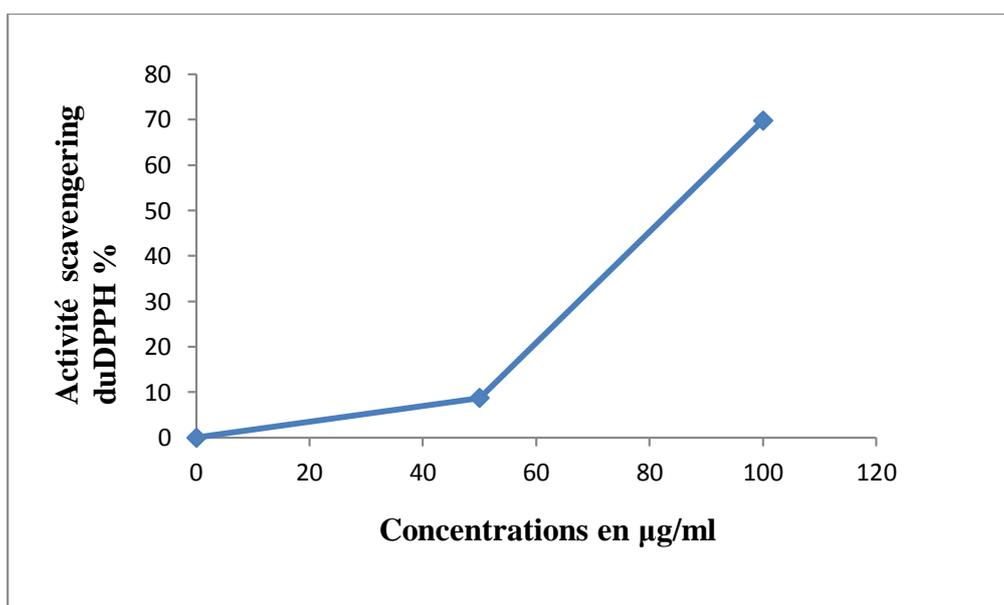
### II-2-3 Activités biologiques :

#### II-2-3-1 Evaluation de l'activité antioxydant :

##### II-2-3-1-1 Evaluation de l'activité anti-radicalaire:

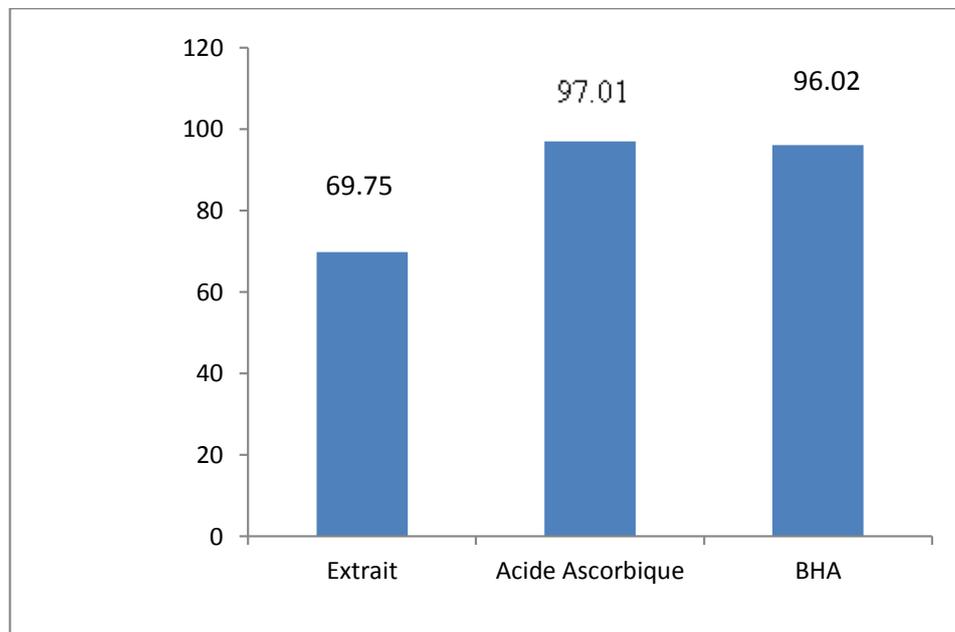
a) Composés phénoliques :

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente en fonction de la concentration de l'extrait (la représentation numérique est dans l'annexe) est représenté dans la figure n°:10.



**Figure 10** : Effet scavenging contre le radical DPPH des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* à différentes concentrations.

D'après la figure n°:10, à chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente. Par exemple, à la concentration de 12.5 ( $\mu\text{g/ml}$ ), le pourcentage d'inhibition est de -25.75% et à une concentration de 100 ( $\mu\text{g/ml}$ ), le pourcentage d'inhibition contre le radicale DPPH atteint 69.75% (présence activité antioxydant).



**Figure 11 :** Le pourcentage de l'activité scavenging contre le radical DPPH des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus*, L et les standards à 100  $\mu\text{g/ml}$ .

En comparant le pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus* L. est de :69.75% à celui des standards Acide ascorbique et BHA pour des valeurs 97.01 et 96.02 % respectivement (à 100  $\mu\text{g/ml}$ ) on remarque qu'il est inférieur.

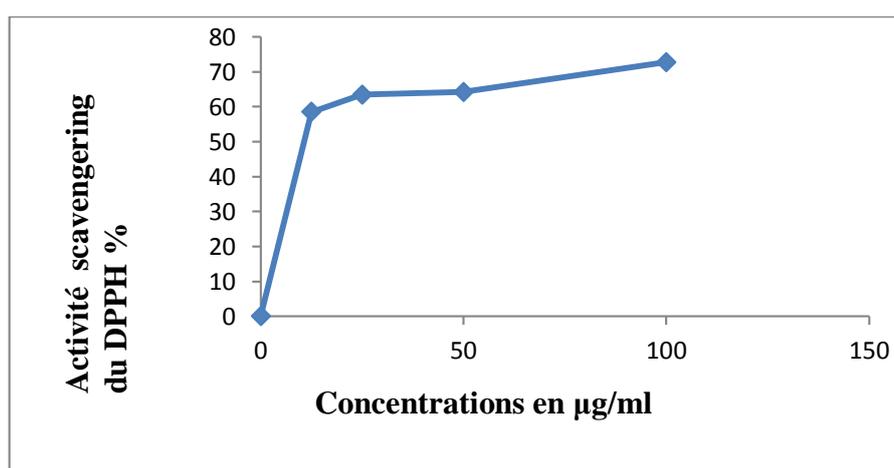
Il semblerait que les résultats obtenus dans l'activité scavenging du radical DPPH sont en corrélation avec les taux en phénols totaux ( $R = 0.99$ ) qu'avec les taux en flavonoïdes ( $R = 0.56$ ) ceci peut s'expliquer par la teneur élevée en polyphénols ( $60.46 \pm 6.07$  mg EAG/g) d'où la présence d'un nombre important de la fonction hydroxyle qui cède son électron à fin de réduire de radical DPPH $\cdot$  (Molyneux P, 2004 ; Sanchez-Moreno et al., 1998).

L' $\text{IC}_{50}$  calculée pour l'extrait de *Hyoscyamus albus* L., est de l'ordre de 85  $\mu\text{g/ml}$  beaucoup plus supérieur à celles des standards utilisés qui est de 0.98  $\mu\text{g/ml}$  et 1.61  $\mu\text{g/ml}$  pour la BHA et l'acide ascorbique respectivement (annexe)et moyennement supérieur à l' $\text{IC}_{50}$ trouvée par Alghazeer et al.(2012) est de 60 $\mu\text{g/ml}$  à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus* L.

De même, l'extrait présente une bonne activité anti-radicalaire contre le DPPH mais à des concentrations beaucoup plus élevés.

a) Alcaloïdes tropaniques :

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente en fonction de la concentration de l'extrait des graines (alcaloïdes totaux) de *Hyoscyamus albus L.* (la représentation numérique est dans l'annexe) est représenté dans la figure n°:12.



**Figure 12:** Effet scavenging contre le radical DPPH des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de *Hyoscyamus albus L.* à différentes concentrations.

D'après la représentation graphique, on remarque que le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement à la concentration. Par exemple, à la concentration de 12.5 (µg/ml), le pourcentage d'inhibition est de 58.5% et atteint un pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH de 72.75% à une concentration de 100 (µg/ml).

Si on compare le pourcentage d'inhibition contre le radical DPPH à une concentration de 100 (µg/ml) contre ceux des standards Acide ascorbique et BHA pour des valeurs 97.01 et 96.02 % respectivement (à 100 µg/ml) on remarque qu'il est inférieur. mais supérieur à l'effet scavenging de l'extrait éthanolique de *Peganum harmala* et celui des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* qui sont de : 17 et 65% respectivement obtenue par **Abbas et al. (2012)**, cela peut s'expliquer par la présence des groupements hydroxyles dans alcaloïdes tropaniques (**Salah et al., 1995**).

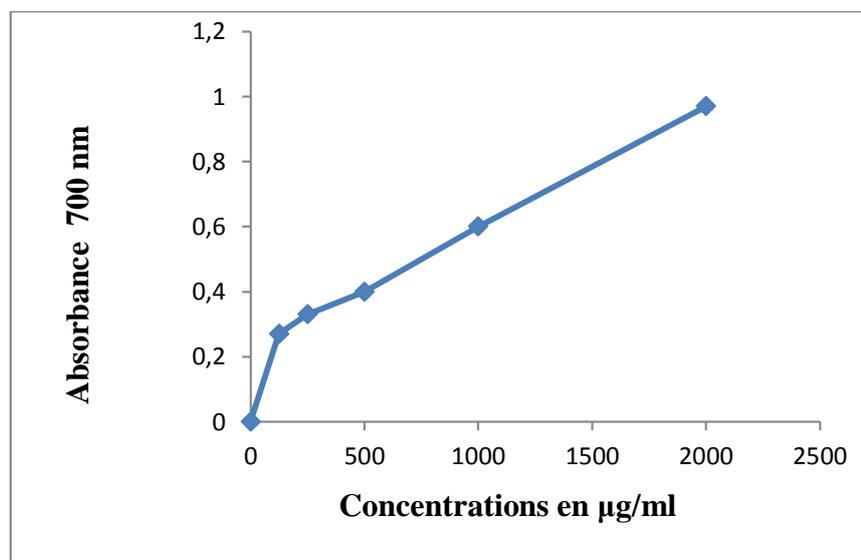
L'IC<sub>50</sub>n'a pas été déterminée du fait que l'extrait présente un effet scavenging élevé supérieur à 50% pour toutes les concentrations réalisées.

On constate que l'extrait des graines de *Hyoscyamus albus L.*, présente une bonne activité anti-radicalaire contre le DPPH même à de petites concentrations.

### II-2-3-1-2 Pouvoir réducteur :

#### a) Composés phénoliques :

Le pouvoir réducteur des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* en fonction de différentes concentrations (la représentation numérique est dans l'annexe) est présenté dans la figure n°:13.



**Figure 13 :** Pouvoir réducteur en fonction de différentes concentrations des composés phénoliques d'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.*

A travers la représentation graphique, on remarque que le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Cette augmentation est très considérable allant jusqu'à une absorbance de 0,97nm à une concentration de 2000(µg /ml).

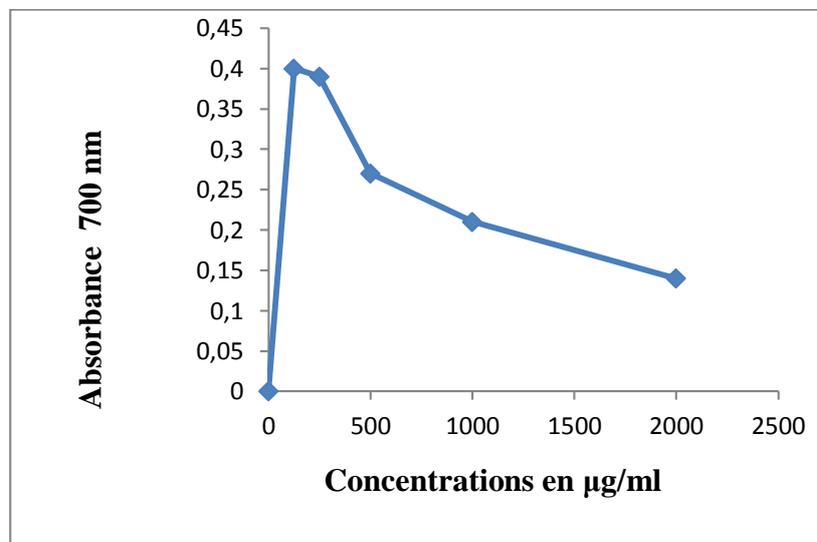
A 500 (µg /ml) l'absorbance de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* est estimé de 0,40 nm, un résultat légèrement supérieur à celui obtenu par **Alghazeer et al. (2012)** qui est de 0,35 nm à partir des feuilles de *Hyoscyamus albus L.*

Les résultats obtenus dans l'activité scavenging du radical DPPH sont en corrélation avec les taux en phénols totaux ( $R = 0.97$ ) qu'avec les taux en flavonoïdes ( $R = 0.48$ ) cela pourrait s'expliquer par la contribution des composés phénoliques non flavonoïdes à l'activité antioxydant beaucoup plus que les flavonoïdes.

Cela nous confirme les propriétés réductrices de l'extrait de la plante, et ceci par la réduction de  $Fe^{3+}$  /complexe de ferricyanure à la forme ferreuse ( $Fe^{2+}$ )(Armanda, 2009).

a) Alcaloïdes tropaniques :

Le pouvoir réducteur des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de *Hyoscyamus albus L.* en fonction de différentes concentrations (la représentation numérique est dans l'annexe) est présenté dans la figure n°:14.



**Figure 14 :** Pouvoir réducteur en fonction de différentes concentrations des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de *Hyoscyamus albus L.*

On remarque que le pouvoir réducteur diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait à partir d'une concentration de 12.5  $\mu\text{g/ml}$ .

Le pouvoir réducteur des graines de *Hyoscyamus albus L.* obtenu est d'une absorbance de 0.23 nm à 800 $\mu\text{g/ml}$ , il est légèrement supérieur à éthanolique de *Peganum harmala* qui est d'absorbance de : 0.12 nm et il est inférieur à celui des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* qui est d'absorbance de : 0.57 nm obtenue par Abbas et al. (2012).

Le pouvoir réducteur des alcaloïdes n'est pas proportionnel à la concentration contrairement à l'activité anti radicalaire contre le DPPH où l'activité est proportionnelle à la concentration.

Cela pourrait s'expliquer par le fait que les alcaloïdes tropaniques sont pro-oxydant à fortes doses vu leur grande toxicité.

### II-2-3-1-3 Evaluation de l'activité antibactérienne :

#### a) Composés phénoliques :

Les résultats de l'évaluation du potentiel antibactérien des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* vis-à-vis des quatre souches bactériennes testées sont présentés dans le tableau n°XIII :

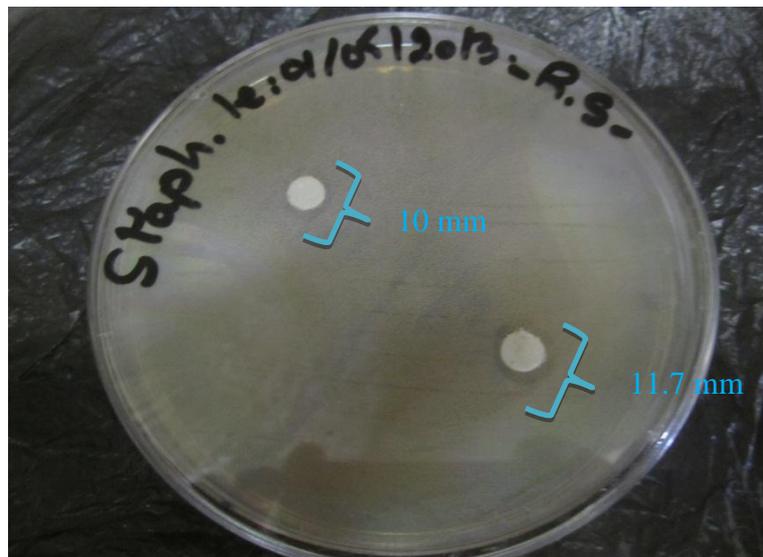
**Tableau VII** : Diamètre de la Zone d'Inhibition de l'extrait de *Hyoscyamus albus L.* à différentes concentrations.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
	Les concentrations de <i>Hyoscyamus albus L.</i> en (mg/ml)					
	100 (mg/ml)	50 (mg/ml)	25 (mg/ml)	12.5 (mg/ml)	6.25 (mg/ml)	3.125 (mg/ml)
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.7	10	9.2	9.2	9.0	9.65
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	10.6	9.7	7.5	7.0	6.8	6.3

Les zones d'inhibition obtenues avec l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* sont montrées dans les figures 15 et 16.



**Figure 15 :** Diamètre des zones d'inhibition obtenues avec l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* en présence de *Salmonella typhi*.



**Figure 16 :** Diamètre des zones d'inhibition obtenues avec l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus L.* en présence de *Staphylococcus aureus*.

A partir du tableau et des figures 17 et 18 on remarque que les souches les plus sensibles vis-à-vis de l'extrait des feuilles de la plante étudiée sont *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*. On signale l'absence de zones d'inhibition pour *E.coli* et *Bacillus subtilis*.

Les zones d'inhibitions sont faibles comparant à celles obtenues par **Alhazeeret al. (2012)** vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *E.coli* et *Bacillus subtilis* (respectivement 32,24, 18, 26 mm).

Ceci pourrait être expliqué par la technique d'évaluation de l'activité antibactérienne utilisée par cet auteur (méthode des puits) différente que celle utilisée dans notre cas.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats. **Natarajan et al.(2005) et Fazeli et al. (2007)** ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux, organiques et hydro-éthanoliques de certaines plantes que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Les polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes comme l'épigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, (**Shan et al., 2007**) et lutéoline (**Askun et al., 2009**) sont des substances à fortes pouvoir antibactérien.

CONCLUSION

## Conclusion

La présente étude a porté sur les feuilles et les graines de *Hyoscyamus albus L.* qui appartient à la famille des solanacées, une des familles les plus importantes. Cette étude a été réalisée pour extraire les composés phénoliques et les alcaloïdes, les doser, évaluer leur activité d'antioxydant (anti DPPH, et pouvoir réducteur) ainsi que l'activité antibactérienne des composés phénoliques.

Le protocole d'extraction utilisé pour les graines, est de type liquide-liquide, et le protocole d'extraction à partir des feuilles a été réalisé en utilisant un solvant organique, le méthanol. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus albus L.* a une teneur importante en composés phénoliques : **60.46 ± 6.07 en mg EAG/g**, et le rendement de l'extraction avec l'hexane des alcaloïdes est de **0,65 %**.

Nous avons constaté que l'activité antioxydant obtenue contre le radical DPPH est **69,75% ; 72,75 %** respectivement pour les polyphénols et les alcaloïdes, à une concentration de **100 µg/ml**.

D'après les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que l'extrait méthanolique et l'extrait des graines ont une bonne activité antioxydant et une capacité de piégeage des radicaux libres.

L'extrait de *Hyoscyamus albus L.*, a montré un effet inhibiteur sur la croissance de deux souches bactériennes (*Staphylococcus* et *Salmonella*).

Au terme de ce travail, et pour compléter la présente étude, il serait intéressant:

- ✓ D'approfondir les recherches sur les propriétés pharmacologiques de *Hyoscyamus albus L.*
- ✓ D'utiliser d'autres méthodes d'analyses plus précises qui permettent non seulement de quantifier mais d'évaluer les activités thérapeutiques des composés phénoliques et alcaloïdes présents dans la plante.
- ✓ De faire des tests *in vitro* et *in vivo* pour évaluer d'autres propriétés telles que les effets anti-tumoraux et anti inflammatoires, vu son utilisation traditionnelle contre l'eczéma à la Wilaya de Béjaia
- ✓ De séparer et d'identifier les composés actifs de *Hyoscyamus albus L.*, poussant en Algérie, plante très peu étudiée jusqu'à présent.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## ***Références bibliographiques***

- **Abbas, S., Boumaza, O. (2012).** *Activité antioxydant des alcaloïdes de Fumaria capreolata et de Peganum harmala.* Mémoire de Biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. P 24-26.
- **Ait youssef M. (2006).** *Les plantes médicinales de kabylie.* Edition Ibis press. Alger. PP 17-19.
- **Alexander, P., MOUNTZI, L et SASAZUKI, T. (2007).** Quercetin mediates preferential degradation of oncogenic Ras and causes autophagy in HA-RAS transformed human colon cells. *Carcinogenesis*. **28(5):** 1021-1031.
- **Alfermann, A., Schmitz, K et Witte, L. (1993).** Tropane alkaloid patterns in plants and hairy roots of *Hyoscyamus albus L.* *Phytochemistry*. **35:**107–110.
- **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.
- **Almeida, A., TAVARES, C. (2011).** Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidoscopus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*.**5(20):** 2310-2316.
- **Amarti, F., Satrani, B., et Aafi, A. (2008).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile de *Tymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. **6 :** 342-347.
- **Armand A. (2009).** *Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle.* Thèse à l'Institut National Polytechnique de Lorraine. 228p.
- **Askun, T., Tumen, G., Satil, F et Ates, M. (2009).** *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chem*.**116:** 289-294.
- **Athamena, S., Chalghem, I et Kassah-Laouar, A. (2010).** Activité antioxydant et antimicrobienne d'extrait de *Cuminum cyminu.* *Lebanese Science Journal*. **11 :** 1-11.
- **Bekhechi C., Abdelouahid D. (2010).** *Les huiles essentielles.* Edition 1.04.5154. Office de publication universitaire. PP 7.
- **Bellili L., Bouakkaz M. (2008).** *Activité anti cancéreuse de la quercétine.* Mémoire de Master en Biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. 30 p.

- **Benmirad, N., Bougandoura, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de *Satureja calamin thassp .Nepeta (L.)*. *Nature & Technologie*. **9** : 12- 23.
- **Benouadah Z. (2009).***Etude de l'effet de la toxicité du Datura stramonium L. sur le rein du rat blanc (Albinos Wistars)*. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine. 70p.
- **Benouadah, Z., Mahdeb, N., Bouzidi, A et Rouabah, A. (2012).**Toxicité Aigüe des Alcaloïdes Totaux des Graines de *Datura Stramonium* Chez les Souris Femelles. *European Journal of Scientific Research*. **73**: 310-321.
- **Bouzidi S., Adjedjou K.(2012).***Activités antioxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique d'Ajugaiva*. Mémoire de Master en Biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. 51p.
- **Bruneton J. (1999).** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Edition. Lavoisier. Paris. PP 227, 240-242, 371.
- **Celiktas, O., HamesKocabas, E., Bedir, E., Vardar-Sukan, F., Ozek, T et Baser, H. (2007).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.***100**: 553- 559.
- **Chalal A., Tighermine L. (2012).***Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de Rhamnus alaternus L*. Mémoire de Master en Biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. 38p.
- **Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P et Vidal, N. (2006).**Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenoliccompounds. *Food Chem.***97**: 654-660.
- **El Shazly, A., Witte, L. (1997).**Tropane Alcaloides of *Hyoscyamus beveanus, H. desertorum, H. muticus and H. albus* from Egypt. *European Journal of Scientific Research*. **52**: 729-739.
- **Fazeli, R., Amin, G., Ahmadian-Attari, M., Ashtiani, H., Jamalifar, H et Samadi, N.(2007).** Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zatariamultiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control*. **18**: 646-649.
- **Franke, A., Custer, L., Arakaki, P. (2004).** Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*. **17**: 1–35.

- **Fiorucci S. (2006).** *Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire.* Thèse de doctorat. Université de Nice-Sophia Antipolis. P 14-28.
- **Gamez, R., Watson, M. (1964).** Failure of anaesthetized aphids to acquire or transmit henbane mosaic virus when their stylets were artificially inserted into leaves of infected or healthy tobacco plants. *Virology*. **22**:292–295.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. **4** :162-169.
- **Goswami, A., Shukla, N et Thakur, R. (1981).** Aliphatic compounds from *Hyoscyamus muticus* . *Phytochemistry*. **20**: 1315–1317.
- **Halimi A.K. (2004).** *Les plantes médicinales en Algérie.* 1ère édition. Editions BERTI. Alger. PP 156-157.
- **Hashimoto, T., Yukimune, Y et Yamada, Y. (1994).** Tropane Alkaloid Production in *Hyoscyamus* Root Cultures. *Journal of Plant Physiology*. **124**: 61–75.
- **Hemalatha, S., Lalitha, T et Arultriya, P. (2010).** Antioxydant activity of the extract of the aerial root of *Tothos aurea* ( *Linden ux andre* ). *Der Pharmachemica*. **6**: 84-89.
- **Higa, H., Erika, M., Rahman, L et Kitamura, Y. (2008).** Root tip-dependent, active riboflavin secretion by *Hyoscyamus albus* L. hairy roots under iron deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*. **46**:452 – 460.
- **Hopkins W.G. (2000).** *Physiologie végétale.* 2eme édition De Boeck, Bruxelles. P 138-139.
- **Hurabielle M. (1981).** *Abrégé de matière médicale de Pharmacognosie (Tome 1).* Editions Masson. Paris. 339 p.
- **Hurabielle, M., (1981).** *Abrégé de matière médicale de Pharmacognosie (Tome 2).* Editions Masson. Paris. 173 p.
- **Hseini, S., Tijane, H., (2007).** Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Plant Science*. **28**: 93-100.
- **Jouzier, E. (2005).** Solanacées médicinales et Philatélie. *Plante science*. **144**: 311-332.
- **Kahonen, N.P., Hotta, A.I., Vuorela, H.J., Raiha, J.P., Pihlaja, K.P.S et Etheinoren, N. (1999).** Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*. **47(10)**: 3954-3962.

- **Kone D. (2009).***Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes – extraction, identification d’alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante.* Thèse de Docteur en Chimie Organique, Université Paul Verlaine de Metz. 178p.
- **Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B. (1967).** Analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal. Fr.* **49(7):** 375-383.
- **Lecoeuche S. (2011).***Les conseils à l’officine en dermatologie : la dermatite atopique, l’acné et le psoriasis.* Thèse de Docteur en Pharmacie. Université de Nancy I. 170p.
- **Legault, G., Beninger, R. (2004).** Scopolamine during the paradoxical sleep window impairs radial arm maze learning in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* **79 :** 715–721.
- **Lempiäinen, T. (1992).** Macrofossil finds of henbane (*Hyoscyamus niger*) in the old settlement layers in southern Finland. *Review of Palaeobotany and Palynology.* **73:** 227–239.
- **Marchand, L. (2002).** Cancer preventive effects of flavonoids. *Biopharmacotherapy.* **56:** 296-301.
- **Medjahed Z. (2011).***Etude par spectroscopie d’absorption U.V/visible de l’interaction de la thymquinone et de la rutine avec l’albumine sérique.* Mémoire de Master en Biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira, de Bejaia. 40p.
- **Mehar, Z., Banerjee, S., Arif, A et Kumar, N. (1998).** Variation in the growth and alkaloid production capability of the hairy roots of *Hyoscyamus albus L*, *H. muticus* and their somatic hybrid. *Plant Science.* **136:**93–99.
- **Miguel, M., Barroso, G. (1986).** Accumulation of stress metabolites in cells suspension cultures of *Hyoscyamus albus L*. *Phytochemistry.* **35:** 371–375.
- **Moreau F. (1964).** *Alcaloïdes et plantes alcaloïfères.* Editions Masson. Paris. 250p.
- **Natarajan, D., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C et Perumal, G. (2005).** Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol.* **102:** 123-126.
- **Popovici, C., Saykova, I et Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l’activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* **4 :** 25-39.
- **Portes E. (2008).***Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux*

*d'Origine Naturelle*. Thèse de Docteur en Chimie Organique. Université de Bordeaux I. 182p.

- **Rahman,L., Ahuja, P., (1998)**. Isolation and characterization of streptomycin resistant *Hyoscyamu smuticus* plants.*Plant Science*. **132**:83–88.
- **Richard A. (2012)**. *Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appliquée à la dermatologie*. Thèse de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard- Lyon I. 182p.
- **Roques A. (1965)**. *Etude de la jusquiame blanche d'Algérie : Hyoscyamus albus L.*Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'Alger. 120 p.
- **Sabat G. (1957)**. *Contribution à l'étude des intoxications criminelles par les jusquiames* .Thèse de Doctorat en Médecine. Université d'Alger. 90 p.
- **Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M et Bruni, R.(2005)**. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.***91**: 621-632.
- **Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P. et Rice-Evans, C.A. (1995)**. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **51**: 339-346.
- **Satalikas, C.D.(2007)**. Extraction, séparation, and detection methods, for phenolic acids and flavonoids. *J Sep Sci*. **30**: 3062-3095.
- **Sauerwein, M.,Koichiro, S.,(1991)**. Alkaloid production in hairy roots of *Hyoscyamus albus L* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*.*Phytochemistry*. **30**: 3277–3280.
- **Sauerwein, M.,Shimomura, K et Wink, M., (1993)**. Incorporation of 1- <sup>13</sup>C-Acetate into tropane alkaloids by hairy root cultures of *Hyoscyamus albus L*.*Phytochemistry*. **32**: 905–909.
- **Scalbert, A., Johnson, T.I et Saltmarsh, M. (2005)**. Polyphénols: antioxidants and beyond. *Journal of American society for Clinical Nutrition*. **81**: 215-217.
- **Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D et Corke, H. (2007)**. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food Microbiology*. **117**: 112-119.
- **Utesch, D.,Feige, K.,Dasenbrock, J.,Broscharda, T et Harwood, M.(2008)**. Evaluation of the potential *in vivo* genotoxicity of quercetin. *Mutgen*.**40**:14-65.

- **Vermerris, W., Nicholson, R. (2006).** Phenolic compound biochemistry.*Springer*. **62**:7-15.
- **Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W et Chen, F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*.**97**: 705-711.
- **Yang, K., Lamprecht, S.A.,Liu, Y.,Shinozaki, H., Fan, K., Leung, D.,Newmark, H et Steele, V.E.(2000).** Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis*. **9**: 1655-1660.
- **Young, C.Y.F.,Xing, N., Chen, Y et Mitchell, S.H.(2001).** Quercetin inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis*. **3**: 409-414.
- **Yuko, M., Khandakar, J. (2012).** Increased *de novo* riboflavin synthesis and hydrolysis of FMN are involved in riboflavin secretion from *Hyoscyamus albus L* hairy roots under iron deficiency.*Plant Physiology and Biochemistry*. **58** : 166–173.

# ANNEXES

### Les préparations du dosage des polyphénols

Réactifs	Concentrations
Echantillon	0.5mg/ml
Bicarbonate de sodium	1.25g/25 ml d'eau distillé
Folin-Ciocalteu	5 ml/45 ml d'eau distillé

### Les préparations du dosage des flavonoïdes

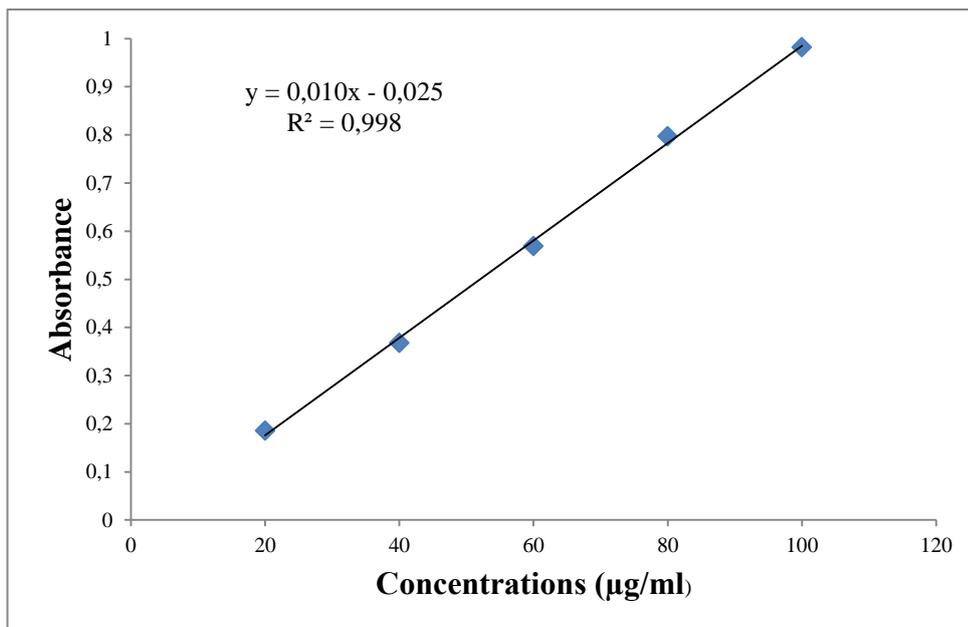
Réactifs	Concentrations
Echantillon	1mg/ml
Chlorure d'aluminium	0.5g/25 ml d'eau distillé

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

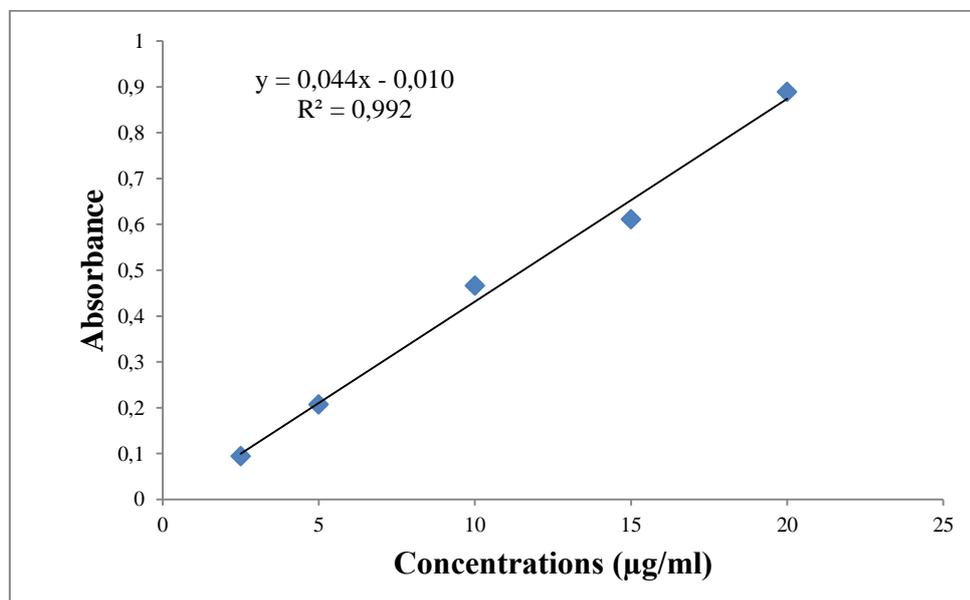
Réactifs	Concentrations	Solubilisation des polyphénols	Solubilisation des alcaloïdes
DPPH (0.1 mMolaire)	1.97 mg/50 ml	Méthanol 100%	DMSO 100%

### Les préparations de l'activité antimicrobienne

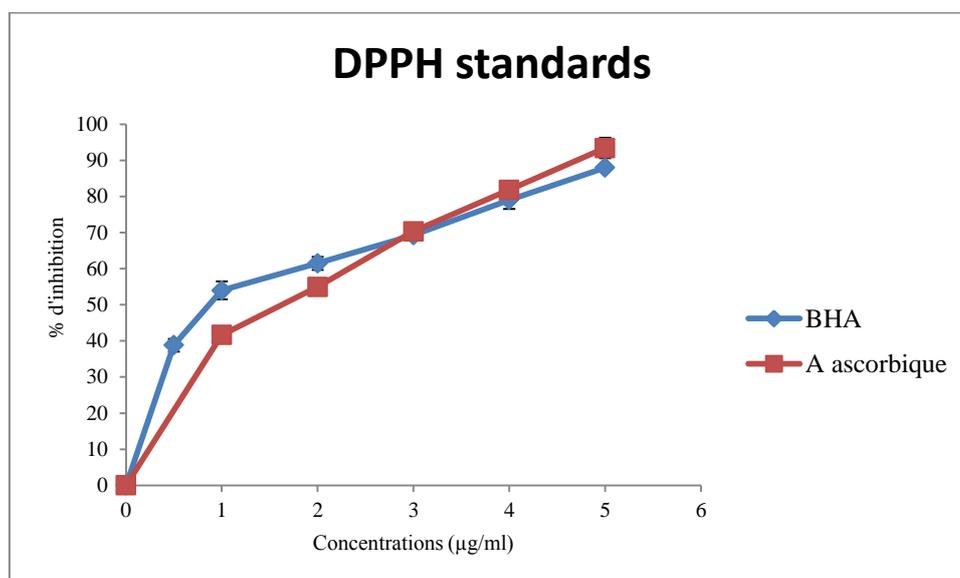
Souche	Milieu de culture
<i>Bacillus subtilis</i>	Gélose nutritive
<i>E. coli</i>	Gélose nutritive
<i>Salmonella typhie</i>	Hectoène
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gélose nutritive



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



La courbe d'étalonnage des flavonoïdes avec la quercétine.



Effet scavenging des standards (BHA et Acide ascorbique) contre le radical DPPH à différentes concentrations.

Effet scavenging contre le radical DPPH des composés phénoliques des feuilles de *Hyoscyamus albus, L.*

Concentration	12.5 (µg/ml)	25 (µg/ml)	50 (µg/ml)	100 (µg/ml)
Pourcentage d'inhibition (%)	-25.75%	-12.5%	8.75%	69.75%

Effet scavenging contre le radical DPPH des alcaloïdes totaux des graines de *Hyoscyamus albus, L.*

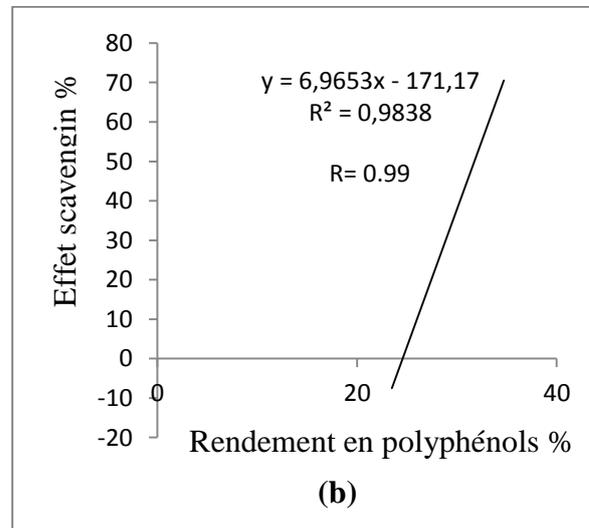
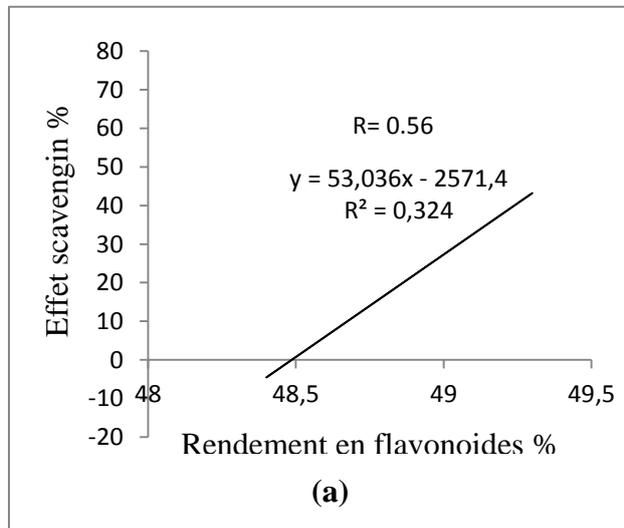
Concentration	12.5 (µg/ml)	25 (µg/ml)	50 (µg/ml)	100 (µg/ml)
Pourcentage d'inhibition (%)	58.5%	63.45%	64.2%	72.75%

Pouvoir réducteur des composés phénoliques de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus albus*, L.

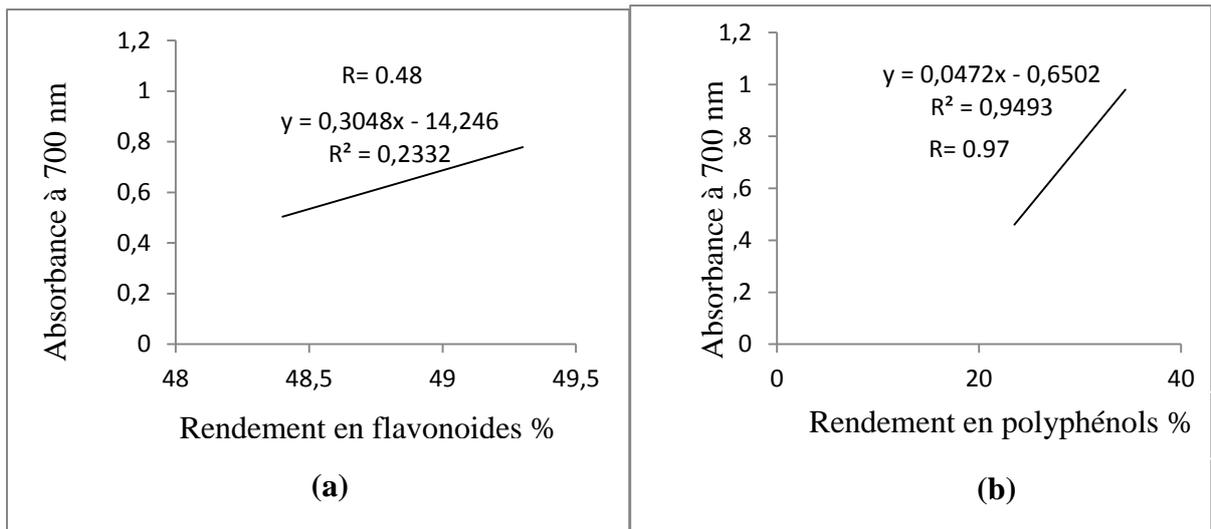
Concentration	125 (µg/ml)	250 (µg/ml)	500 (µg/ml)	1000 (µg/ml)	2000 (µg/ml)
Absorbance à 700 nm (%)	27.16%	33.13%	40.06%	60%	97.83%

Pouvoir réducteur des alcaloïdes tropaniques de l'extrait des graines de *Hyoscyamu salbus*, L.

Concentration	125 (µg/ml)	250 (µg/ml)	500 (µg/ml)	1000 (µg/ml)	2000 (µg/ml)
Absorbance à 700 nm (%)	40.56%	39.06%	27.23%	21.73%	14.33%



Corrélation entre l'effet scavengin et le rendement flavonides (a), et le rendement en polyphénols (b).



Corrélation entre le pouvoir réducteur et le rendement flavonoides (a), et le rendement en polyphénols (b).

# GLOSSAIRE

## *Glossaire*

- **Radicaux libres** : sont des petites particules, existent à l'état non combiné « incomplètes ». Elles sont comme des parasites dans le sens où ils recherchent à se joindre à d'autres particules afin qu'elles se sentent « complètes » à nouveau.
- **Oxydation** est une réaction chimique qui transfère des électrons ou d'hydrogène à partir d'une substance à un agent oxydant.
- **Anti-inflammatoire** : Il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales.
- **Réduction** : réaction inverse de l'oxydation, au cours de laquelle une molécule réductrice cède des électrons à une molécule oxydante.
- **Scavenger** : C'est la capacité de piégeage des radicaux libres.
- **DPPH** : est une abréviation commune pour un composé chimique organique, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl. C'est une poudre cristalline de couleur foncée composée de molécules de radicaux libres stables.
- **La macération** : est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe de ce liquide afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose.
- **Un antimicrobien** : est une famille de substances qui tuent (bactéricide) ou ralentissent (bactériostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire).
- **Un antioxydant** est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.
- **Les alcaloïdes** : sont des molécules organiques hétérocycliques azotées basiques pouvant avoir une activité pharmacologique. Se sont des substances alcalines azotées d'origine végétale.
  
- **Les polyphénols** : constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

- **Un métabolite secondaire** : est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Ce dernier est indispensable à la nutrition, il assure la croissance, le développement d'un organisme. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les sucres ou les acides nucléiques, par exemple.
- **La gélose Mueller-Hinton** : est une gélose riche, utilisée pour la réalisation de l'antibiogramme standard.
- **La gélose Hektoen** : est un milieu de culture servant à isoler les *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*.

**Résumé:** Notre travail a porté sur les substances actives d'une plante utilisée traditionnellement par la population algérienne pour guérir certaines affections telles que l'eczéma. L'extraction est réalisée sur les graines et les feuilles de la plante médicinale *Hyoscyamus albus L.*, dans le but d'extraire les alcaloïdes et les composés phénoliques, et de connaître les effets antioxydants, et antibactériens de ces derniers. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus albus L.* a une teneur importante en composés phénoliques de: **60.46 ± 6.07** en mg EAG/g, et un rendement de l'extraction avec l'hexane des alcaloïdes de: **0,65 %**, l'effet de l'extrait sur deux souches bactériennes (*Staphylococcus*, *Salmonella*) a donné des zones d'inhibition de diamètre **11,7 et 10,6** mm respectivement. La détermination de l'activité anti-radicalaire des deux extraits par la méthode DPPH a permis d'obtenir des pourcentages de **69,75% et 72,75%** pour les polyphénols et les alcaloïdes respectivement, à une concentration de **100 µg/ml**. Le pouvoir réducteur a montré une dépendance vis-à-vis des concentrations en composés phénoliques tandis qu'il se réduit quand la concentration augmente en alcaloïdes.

**Mots clés :** *Hyoscyamus albus L.*, alcaloïdes, polyphénols, *Salmonella*, *Staphylococcus*, activité antioxydant, DPPH, pouvoir réducteur, activité antibactérienne.

**Abstract:** Our work has focused on the active substances of a plant traditionally used by the Algerian population to cure certain diseases such as eczema. The extraction is carried out on the seeds and leaves of the medicinal plant *Hyoscyamus albus L.* in order to extract the alkaloids and phenolic compounds, and to know the antioxidant and antibacterial activities. The results showed that the methanol extract of *Hyoscyamus albus L.* has a high content of phenolic compounds: **60.46 ± 6.07 in EAG mg/g** and a yield of extraction with hexane alkaloids: **0.65%** the effect of the extract on two bacterial strains (*Staphylococcus*, *Salmonella*) gave inhibition zones of **11.7 mm** and **10.6 mm** diameter respectively. The determination of the anti-radical activity of the two extracts by DPPH method has yielded percentage of 69.75% and 72.75% for polyphenols and alkaloids, respectively, at a concentration of **100 µg/ml**. The reducing power showed a dependence on concentrations of phenolic compounds while it is reduced when the concentration increases in alkaloids.

**Keywords:** *Hyoscyamus albus L.*, alkaloids, polyphenols, *Salmonella*, *Staphylococcus*, antioxidant activity, DPPH, reducing power, antibacterial activity.