

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

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté par

HADJ ABDELKADER Fatima Zohra
CHOUACHI Salima

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Toxicologie Industrielle et Environnementale

Thème

**Etude de l'activité antioxydante et anti-hémolytique des extraits
de *Hyoscyamus niger***

Soutenu le 27/06/2020, devant le jury composé de :

Président	Mr. AZZI R.	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme MEDJDOUB H.	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Melle BOUALI W	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

Titre et résumé en arabe

بونجروف نبات عشبي من عائلة Solanacées تعد من بين النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي لعلاج أمراض مختلفة مثل السكري، الربو، السرطان.....
الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة و مضادة انحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصات الأسيتون المائي والهكسان للجزء الهوائي لنبتة بونجروف. تم جمع النبتة بمنطقة عين فزة، تلمسان .
يوضح تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقة تثبيط الجذر الحر ABTS أن مستخلص الأسيتون المائي لديه نشاط أفضل IC50 تعادل 0.0767 ملغ/مل و لكن لا يزال أقل فعالية من ترولوخس IC50 تعادل 0.0182 ملغ/مل
لقد مكنتنا بحث التأثير الانحلالي من ملاحظة أن مستخلص الأسيتون المائي يسبب انحلال الدم بنسبة 5.87% والذي لا يزال أقل فعالية من المستخلص الهكساني مع انحلال الدم 7.11% بتركيز 1 ملغ / مل.
هذه النتائج تبقى أولية و يجب تكرار العمل من أجل تأكيدها.
الكلمات المفتاحية:
Hyoscyamus Niger، نشاط مضاد للأكسدة ، ABTS ، انحلال الدم ،

Titre et résumé en français

Hyoscyamus niger est une plante de la famille des solanacées. C'est une plante médicinale utilisée traditionnellement pour traiter diverses maladies telle que l'Asthme, le diabète et le cancer.

Notre étude a pour objectif d'évaluer le pouvoir antioxydant et antihémolytique des extraits eau-acétone et hexanique de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger*, récoltée dans la région de Ain Fezza, Tlemcen.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical ABTS, montre que l'extrait eau-acétone présente une meilleure activité avec une IC₅₀ de 0,0767 mg/ml, mais qui reste toujours inférieure à celle de Trolox avec une IC₅₀ de 0,0182mg/ml.

La recherche de l'effet hémolytique nous a permis de constater que l'extrait eau-acétone provoque une hémolyse de l'ordre de 5,87% et qui reste moins hémolytique que l'extrait hexanique avec une hémolyse de 7,19% à la concentration de 1 mg/ml.

Ce travail reste préliminaire et mérite d'être reconduit afin de confirmer les résultats obtenus.

Mots clés : *Hyoscyamus niger*, activité antioxydante, ABTS, hémolyse.

Titre et résumé en anglais

Hyoscyamus niger is a plant in the Solanaceae family. It is a medicinal plant traditionally used to treat various diseases such as Asthma, diabetes and cancer.

Our study aims to assess the antioxidant and antihemolytic power of water-acetone and hexane extracts from the aerial part of *Hyoscyamus niger* collected in the region of Ain Fezza, Tlemcen.

The evaluation of the antioxidant activity by the method of ABTS radical scavenging shows that the water-acetone extract has a better activity with an IC₅₀ of 0.0767 mg/ml but lower than that of Trolox with an IC₅₀ of 0.0182 mg/ml.

Research of the hemolytic effect has enabled us to note that the water-acetone extract causes hemolysis on the order of 5.87% and which remains less hemolytic than the hexanic extract with hemolysis of 7.19% at the concentration of 1 mg/ml.

This work remains preliminary and deserves to be repeated in order to confirm the obtained results.

Key words: *Hyoscyamus niger*, antioxidant activity, ABTS, hemolysis.

Remerciement

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage, la volonté, la santé afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

En premier lieu, nous tenons à remercier, Dr MEDJDOUB H., maître de conférences B à la faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers, département de biologie, pour avoir dirigé ce travail, pour son encouragement, pour sa patience et ses conseils judicieux.

Nous remercions Dr AZZI R .maître de conférences A, à la faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers, département de biologie pour avoir accepté de présider ce travail.

Nous tenons à remercier également Dr BOUALI W. maître de conférences B, à la faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers, département de biologie pour avoir accepté d'examiner ce travail.

A tous les membres de laboratoire Biochimie pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesse particulièrement Mr Ferouani M., Mr Habi S., Melle Zazoua Leila et Mme Bouali Samira, ingénieurs aux laboratoires de la faculté SNV-STU.

Enfin, nos remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A mes très chers parents, sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, votre encouragement, vos prières et vos efforts que vous avez déployés, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu, tout puissant, vous donne une longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.

A mes adorables sœurs Sabrina, Afraa, Ghofrane et son marie Benseddik H. et son petite enfant Anas. A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration et l'aide qu'ils n'ont cessé de m'apporter. Que Dieu vous protège et tout le bonheur que vous méritez pour Votre avenir.

A mes amies, ma famille Hadj Abdelkader et Chikh

Mes proches et mon entourage, qui n'ont pas arrêté de me pousser et de me soutenir. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

Fatima

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, le tout puissant, je dédie ce modeste travail à :

Mes très chères parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes Sincères sentiments, pour leur affection, leur encouragement continu, leur patience, leur grands sacrifices, leur efforts fournis jour et nuit pour mon bien être et mon éducation. Je vous présente ma gratitude et mon profond amour, que Dieu le miséricordieux vous donne la bonne santé et la longue vie.

Ma chère sœur Wafa, pour leur soutien moral et leur sacrifices le long de ma formation et son beau enfant Mohammed El Amine.

Mon chère frère Abdelfatah et sa chère femme Imane avec son beau enfant Adam.

Mes chers frères : Ayoub et yakoub.

Mes amies, Ma familles Chouachi et Yamani.

Salima

Liste des abréviations :

Abs : absorbance .

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide.

2,2-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

ADN : L'acide désoxyribonucléique .

CAT : Catalase .

DHA : d'éhydro-L-ascorbique .

ERO : Espèce réactif de l'oxygène .

EOA : Espèces oxygénées activées.

Fe²⁺ : Fer ferreux .

Fe³⁺ : Fer ferrique .

GPx : Glutathion peroxidase.

GSH : Glutathion réduit .

GSSG : Glutathion disulfide .

GR : globule rouge .

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène .

HB : hémoglobine .

IC₅₀ : Concentration permettant d'inhiber

50% du radical.

O₂ : Oxygène moléculaire.

O₂¹ : Oxygène singulier .

O₂⁻ : Oxygène superoxyde .

OH : Le radical hydroxyle .

NO : Monoxyde d'azote.

ONOO : Péroxynitrite .

PBS : Phosphat Buffered Saline .

ROO : Radical peroxyde .

ROS : Espèce réactives de l'oxygène.

SOD : Superoxyde dismutase.

Listes des figures

Figure 01 : Structure de base des flavonoïde..	05
Figure 02 : Hyoscyamus niger L	07
Figure 03 : Formation des radicaux libres et conséquences	11
Figure 04 : Les échange de la membrane érythrocytaire...	15
Figure 05 : Hyoscyamus niger	16
Figure 06 :Situation géographique de Ain Fezza	17
Figure 07 : Extraction par soxhlet	17
Figure 08 : Protocole expérimental	18
Figure 09 : Préparation de PBS	20
Figure 10 : : Pourcentage de réduction de radicaux d' ABTS en fonction des différentes concentrations d'eau –acétone ..	23
Figure 11 : Pourcentage de réduction de radical d'ABTS en fonction de différentes concentrations de Trolox.....	24
Figure 12 : Effet hémolytique de l'extrait hexanique de la partie aérienne de Hyoscyamus niger , exprimé en pourcentage en fonction de concentration	25
Figure 13 : Effet hémolytique de l'extrait eau –acétone de la partie aérienne de Hyoscyamus niger , exprimé en pourcentage en fonction de concentration.....	25

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques exemples des plantes médicinales et leurs activités	02
Tableau 02 : Classification d' <i>hyoscyamus niger</i> L	08
Tableau 03 : Quelques exemples des plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique	16
Tableau 04 : Les valeurs des IC_{50} calculées pour l'extrait eau-acétone et Trolox	24

Table de matière

Introduction.	01
----------------------------	-----------

Premier partie :partie bibliographique

Chapitre I

Phytothérapies

1. Définition	02
2. Quelques exemple des plante médicinales	02
3. Métabolites des plantes	03
3.1. Métabolites primaires	03
3.2. Métabolites secondaires	03
3.2.1. Les composés phénoliques	04
➤ Acide phénolique	04
• hydrox benzoïque	04
• hydro cinnamiques	04
➤ Flavonoïdes	04
➤ Les quinones	05
➤ Les tanins	05
• Tanins hydrolysables	05
• Tanins condensés	06
➤ Coumarines	06

Chapitre II

Hyoscyamus niger

1. Description Morphologique	07
2. Classification botanique	07
3. Noms vernaculaires d'hyoscyamus Niger .L	08
4. Répartition géographique	08
5. Composition chimique	09
6. Utilisation traditionnelle	09
7. Toxicité des plantes	09

Chapitre III

Stress oxydant et effet hémolytique

I. Stress oxydant	10
1. Définition	10
2. Radicaux libres	10
3. Conséquence de stress oxydant	11
4. Les cibles biologique de ERO	11
4.1. Les lipides	11
4.2. Les protéines	11
4.3. L'ADN	12
5. Les maladies liées au stress oxydatif	12
6. Les antioxydants	12
6.1. Les antioxydants enzymatiques	13
a. Le superoxyde dismutase	13
b. Catalase	13
c. Glutathion peroxydase / Glutathion réductase	13

6.2. Les antioxydants non enzymatique	13
a . Vitamine E	13
b .Vitamine C	14
c . Provitamine A (caroténoïdes)	14
d. Autre vitamine	14
e. Oligoéléments	14
6. 3.Glutathion	14
II/ Pouvoir anti hémolytique :	14
1.Généralité sur les globules rouges	14
2. La membrane érythrocytaire	14
3. Cytoplasme des globules rouges	15
4. L'hémolyse	15
3.types et mécanismes d'hémolyse pathologique	15

2^{eme} partie : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1.Objectif	16
2.Matériel végétal	16
3.Préparation des extraits	17
3.1.Préparation de l'extrait hexanique	17
3.2.Préparation de l'extrait eau-acétone	18
4. Activité antioxydante :réduction de l'ABTS	19
4.1.Principe	19
4.2.Mode opératoire	19
4.3.Calcul des concentration efficaces IC ₅₀	19
5.Evaluation d'effet hémolytique	20
5.1.Préparation de l'eau physiologie	20
5.2.Préparation de PBS (phosphate buffered saline)	20
5.3.Préparation de la suspension érythrocytaire	21
5.4.Préparation des extraits	21
6.Effet hémolytique	21
7.Effet anti -hémolytique (non réalisé)	22
7.1.Principe	22
7.2.Mode opératoire	22
7.3.Expression des résultats	22

Résultats et interprétation

1.Extraction	23
2.Activité anti-radicalaire par ABTS ⁺	23
3.Evaluation de l'effet hémolytique	25
Discussion	27
Conclusion	29
Références bibliographique	30

Introduction générale

Depuis longtemps, l'homme a utilisé les ressources qui existent dans son environnement pour répondre à tous ses besoins. D'une part, pour sa nourriture, et aussi à des buts médicaux pour traiter et soigner différents types de maladies. L'utilisation thérapeutique des plantes médicinales est très présente notamment dans les pays en développement (Djouahra, 2012).

En Afrique de l'ouest, comme dans le reste du continent, plus de 80% de la population ont recours à la médecine traditionnelle pour ses soins de santé primaire. Le manque de médicaments essentiels, l'insuffisance des soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturelles des populations expliquent ce recours (Sanogo, 2006).

La recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Gurib-Fakim, 2006 in Huilier, 2007). Généralement, les polyphénols qui sont particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines, pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. L'objectif de ces études peut s'articuler autour de la recherche des molécules susceptibles de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif et de remplacer les antioxydants synthétiques (Albayrak *et al.*, 2010).

L'Algérie est considéré parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendue entre la Méditerranée et l'Afrique subsaharienne (Arab *et al.*, 2013).

La famille des Solanacées est représentée dans le monde par le genre " *Hyoscyamus*" qui est très utilisé en médecine traditionnelle. *Hyoscyamus niger* est distribué dans différentes régions du monde, à savoir en Algérie (Marchaux *et al.*, 2008).

Dans notre travail, nous allons évaluer l'activité antioxydant et le pouvoir antihémolytique d'extraits de la partie aérienne *Hyoscyamus niger* L. d'Ain fezza (Tlemcen).

Notre travail est divisé en trois parties

- La première est représentée par une synthèse bibliographique divisée en trois chapitres (phytothérapies, plante étudiée, stress oxydant et effet hémolytique). La deuxième partie illustre la partie expérimentale. La troisième est consacrée aux résultats et discussion. Notre travail s'achève par une conclusion.

1. Définition

Le terme « phytothérapie », provient du grec. Il se décompose en deux termes distincts « phyto » qui signifie « plante » et « thérapie » qui signifie « soigner » (Vacheron, 2010).

La phytothérapie désigne la médecine à base d'extraits de plante et d'actifs naturels. On ne doit pas confondre avec la phytopharmacie qui désigne toutes les substances utilisées pour traiter les plantes (Mathieu et Fonteneau, 2008). On peut distinguer trois types de pratiques (Clément, 2005) :

- ✓ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- ✓ Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- ✓ Une pratique de prophylaxie. C'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'Ail, du Thym, du Gingembre ou simplement du thé vert. Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs constitue une phytothérapie prophylactique.

La phytothérapie à base de plantes est une thérapie naturelle permettant de prévenir ou de traiter des maladies par certaines plantes en utilisant des ingrédients ayant un effet médical remarquable (Sae Woongkin, 2012).

2. Quelques exemples de plantes médicinales

Tableau N°01 : Quelques exemples des plantes médicinales et leurs activités.

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Les activités	Principes actifs
<i>Olea europaea</i> .	Zitoune.	Antioxydant Antidiabétique	Un amer (Oléo opine), et Oleuroproside dans les feuilles, L'huile d'olive est composée d'environ 75% d'acide oléique, les composés phénoliques, flavonoïde (Bnouham <i>et al.</i> , 2002).
<i>Fraxinus angustifolia</i> .	Dardar ou Acefour.	Antioxydant Anti-inflammatoire Anti- microbien Anti- allergique	Les composés phénoliques, coumarines, des Phénylétanoïdes, des flavonoïdes et des lignines (Moussaoui, Yahiaoui, 2011)

<i>Salvia officinalis.</i>	Mramiya.	Antioxydant Anti-inflammatoire Antiseptique Analgésique	Acides phénoliques, des Flavonoïdes, di terpènes et Triterpènes, 5% tanins, 5,6% de résine et d'autres composés (Boukarata, 2017)
<i>Artemisia absinthium.</i>	Chiba.	Antidiabétique Antioxydant Anti-inflammatoire	Huile essentielle (thyone, Azulènes, terpènes), lactones, sesquiterpénique (arabisme, Anabsinthine). Flavonoïdes , composés phénoliques, lignines (Bnouham <i>et al.</i> ,2002).

3. Métabolites des plantes

3.1.Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Aribi et Hasasni, 2018).

3.2.Métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire est défini comme une molécule indirectement nécessaire à la survie des plantes (Sutour, 2011) contrairement au métabolisme primaire qui entre dans des fonctions importantes de la cellule et fournissent la voie principale de métabolisme central (Hadj Salem, 2009).

Ce sont des molécules biologiquement actives qui résistent aux insectes, aux herbivores et aux rayons UV car elles jouent également un rôle important dans l'interaction entre les plantes et l'environnement (Judd *et al.*, 2002).

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois grandes catégories : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes. Chaque catégorie contient plusieurs composés qui ont multiples activités en biologie humaine (Krief, 2003).

3.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques combinent un grand nombre des molécules chimiques qui contiennent au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupement hydroxyles (Akonauh *et al.*, 2004).

Ces composés ont un certain nombre d'avantages sur la santé liée à leurs activités antioxydant puissantes ainsi qu'aux propriétés hépato protectrice, hypoglycémiques et activités antivirales (Farah et domangelo, 2006).

➤ Acides phénoliques

L'acide phénolique a au moins un groupe fonctionnel carboxyle et un groupe hydroxyle phénolique (Bruneton, 2008). Il existe deux classes d'acides phénoliques :

- **Acide hydroxybenzoïque**

Ces composés se trouvent sous forme d'ester ou glycoside (Sarmi-Manchado et Cheynier, 2006)

- **Acide hydrocinnamique**

Ces composés se trouvent sous forme aménagée avec des composés organiques après méthylation et hydroxylation de cycle benzénique (Sarni-Manchodo et cheynier, 2006).

➤ Flavonoïdes

C'est le composé phénolique le plus représentatif. Ces molécules ont différentes structures chimiques et caractéristiques spécifiques. On les trouve couramment dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons telles que le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

Ce sont les principales classes de composés phénoliques. Les flavonoïdes peuvent être structurés en C15 (C6- C3-C6) (Macheix *et al.*, 2005). Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs catégories en fonction du degré d'oxydation du noyau central pyranne (cycle C) (figure 01) (Mertens et Mithofer, 2006).

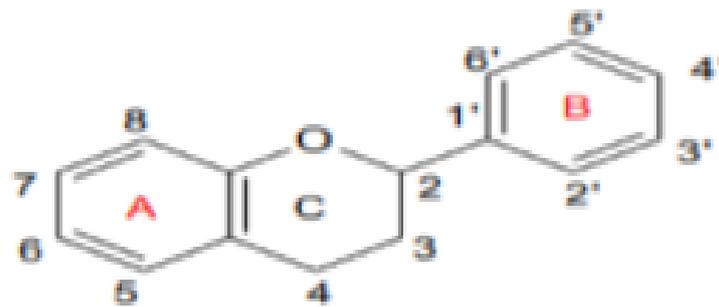


Figure 01: Structure de base des flavonoïdes (Abedini, 2013)

➤ **Les quinones :**

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones. Ces composés sont colorés et responsables d'une complexation irréversible avec des nucléophiles d'acides aminés dans les protéines. Par conséquent, les quinones peuvent inactiver les protéines et modifier leurs fonctions (Arif *et al.*, 2009).

➤ **les tanins :**

Les tanins sont des composés solubles dans l'eau, capables de se lier et de précipiter les protéines (Macheix, 2005).

On les trouve dans presque toutes les parties de la plante, graines, fruits, feuilles, écorce de bois et racines, dont la fonction principale est de prévenir les agents pathogènes, les insectes, les parasites et les herbivores (Dixon *et al.*, 2005). Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques dont l'activité antioxydante, antifongique, anti tumorale et antivirale (Lamy *et al.*, 2014).

Ils sont classés comme suit :

• **Tanins hydrolysables :**

Ce sont des oligomères ou des polyesters de sucre et des quantités variables d'acides phénoliques. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitanins (Bruneton, 2009).

- **Tanins condensés**

Ils n'ont pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est similaire aux flavonoïdes.

Ce sont des polymères fabriqués à partir d'unités de flavane -3-ol dérivées de catéchine liées par des liaisons carbones-carbone (**Bruneton, 2009**)

- **Coumarines**

Ce sont des hétérocycles oxygénés et ont de la benzol-2-pyranne dans leur structure de base (Smyth *et al.*, 2009). Ils ont été initialement découverts dans la fève tonka (*Dipleryx odorat*, Famille des fabacée) (Venugopala *et al.*, 2013).

1. Description morphologique

La jusquiame noire « *Hyoscyamus niger* » est une plante annuelle ou bisannuelle pubescente et aromatique (Figure 02) ,qui mesure 75 cm de hauteur à des feuilles ovales dentées d'environ 20 cm de long a porte des cymes scorpénidés de petites fleurs de couleur jaunes avec des centres et nervures violettes qui nourrissent plus tard en capsules (Fatur, 2019).



Figure 02 : *Hyoscyamus niger* L (Larousse ,2001).

2. Classification botanique

La classification de la plante *Hyoscyamus niger* est présentée dans le tableau 02

Tableau N°02 : Classification d'*Hyoscyamus niger* L (Al-snafi, 2008).

Règne	Plante
Division	Trachéophyte
Super division	Embryophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Famille	Solanacées
Genre	<i>Hyoscyamus</i>
Espèce	<i>Hyoscyamus niger</i> .L

La famille des solanacées comprend environ 84 genres et plus de 3000 espèces dans le monde (Ali Esmail al-Snafi, 2018). Les plantes de cette famille sont cultivées pour leur importance médicinale (Etminan *et al.*, 2012) .

3. Noms vernaculaires d'*Hyoscyamus niger* L. :

Les noms vernaculaires d'*Hyoscyamus niger* L sont la jusquiame noire en français Bounajruf Sakran et Black Henbane en anglais (Al-snafi, 2008).

4. Répartition géographique :

Hyoscyamus niger est une plante médicinale qui est distribuée dans plusieurs régions du monde. En Afrique, on la trouve surtout sur le désert de l'Algérie, Maroc et Tunisie. En Europe, elle se trouve en France, Italie, Portugal, Espagne, Irlande et la Suède. Ainsi, on la trouve aux Etas-Unis (Al –Snafi, 2008).

Elle se trouve aussi En Asie notamment en Chine, Inde, Sud-ouest d'Asie, Afghanistan (Fature, 2019).

5. Composition chimique :

Hyoscyamus niger a été utilisée comme source naturelle de nombreux constituants notamment d'alcaloïdes à noyau tropane en particulier l'hyoscyamine, la scopolamine et apo-hyoxine. (Kartl *et al.*, 2003).

Dans les graines, deux furostanol et quatre saponines de spirostanol et une dizaine de composants non alcaloïdes ont été isolés (Larousse 2001).

6. Utilisation traditionnelle :

La jusquiame est utilisée à des fins médicales depuis des milliers d'années. Elle a été largement utilisée pour le traitement de différentes maladies telle que la toux, les règles trop abondantes, les ophtalmies, la goutte et diverses douleurs, la rage, les spasmes, ulcères, asthme, bronchite, inflammation, diabète. Il possède également des anti cholinergiques spasmolytiques (Hong *et al.*, 2012).

Au moyen âge, il s'appelait denterai en latin, ou le terme désigne son utilisation contre les rages des dents. Elle est réputée pour son action légèrement psychotrope, et ainsi associée aux pratiques de sorcellerie (Larousse 2001).

7. Toxicité de la plante :

Depuis les siècles derniers, la jusquiame noire (BH) a été utilisée comme médicament et a été décrite dans toutes les médecines traditionnelles. Elle est appliquée comme médicament à base de plantes, mais peut provoquer une intoxication accidentelle ou intentionnelle. Les manifestations cliniques de l'intoxication aiguë par la BH sont très étendues, notamment la mydriase, la tachycardie, l'arythmie, l'agitation, les convulsions et le coma, la bouche sèche, le soif, les troubles de l'élocution (la difficulté de parler), la peau rouge et chaude, la pyrexie, les nausées, les vomissements, les maux de tête, troubles de vision et photophobie, la rétention urinaire, distension de la vessie, somnolence, hyper-réflexe et confusion (Marchaux *et al.*, 2008).

I. Stress oxydant

1. Définition

Des espèces pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont synthétisées quotidiennement dans l'organisme. Par conséquent, les antioxydants sont responsables du contrôle de ces substances.

Un stress oxydatif apparaît lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres avec une apparition excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants à l'origine d'un déséquilibre de la balance oxydant/antioxydant (Christophe et Christophe, 2011 ; Papazian et Roch, 2008).

L'équilibre est rétabli soit par oxydation (Perte de l'électron libre) soit par réduction (gain d'un autre électron). Le caractère radicalaire de la molécule peut se transmettre d'autres molécules, on parle du phénomène d'oxydation en chaîne (Bensakhria, 2015).

2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs orbitales externes. Ils retrouvent leur stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques (Tremellen, 2008).

Parmi les molécules radicalaires les plus actives, ils existent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui dérivent de la molécule d'oxygène par l'ajout d'un électron (Gutteridge, 1993 ; Jacques et André, 2004) à savoir, l'anion superoxydant ($O_2^{\cdot-}$) qui est la forme primaire des ERO. Il peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle (OH^{\cdot}).

Aussi, il y a quelques dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est élevée ; on a par exemple le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non appariés. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) étant deux espèces bien connues (Figure 5) (Tremellen, 2008).

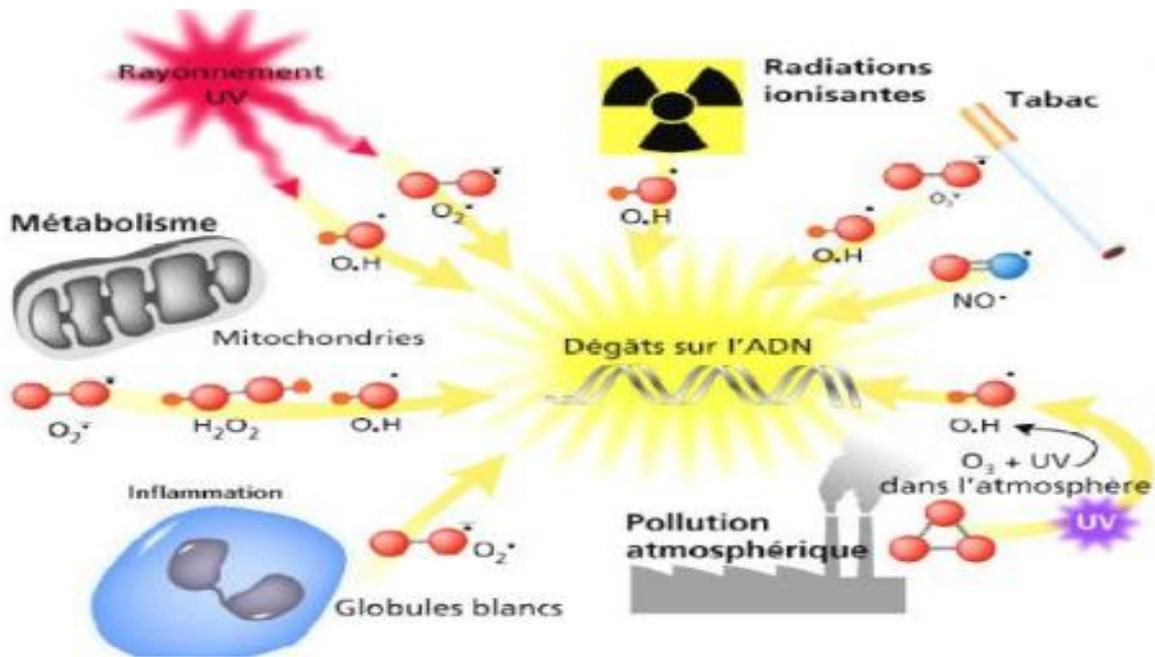


Figure 05 : formation des radicaux libres et leurs conséquences (Pincimail *et al.*, 2008).

3. Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions primaires de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des glucides, des lipides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère mutagène et cytotoxique des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

4. Les cibles biologiques d'ERO

4.1. Les lipides

L'attaque des radicaux libres au sein des lipides membranes induit des processus de peroxydation en cascades conduisant à la désorganisation complète de la membrane altérant ainsi ses fonctions d'échange et sa fluidité (Davies, 2000).

4.2. Les protéines

Les chaînes latérales de tous les acides aminés sont des cibles potentielles pour les ERO (Stadtman, 2004 ; Baudin, 2006). Cependant les produits d'oxydations ne sont pas toujours clairement identifiés. Dans les conditions physiologique, les cibles majeurs sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) et les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) (Haleng *et al.*, 2007 ; Grimsrud *et al.*, 2008).

Pour les acides aminés soufrés l'oxydation par les radicaux libres conduit à une mauvaise formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les ERO sont également capables de couper les liaisons peptidiques et ainsi de former des fragments de protéines (Shanlin *et al.*, 1997).

4.3.L'ADN

L'ADN qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, c'est également un cible majeur des ERO. Les radicaux O_2^- et OH^- sont les premiers responsables des dommages à l'ADN. Ceux-ci peuvent interagir avec les désoxyriboses, mais aussi avec les bases azotées (Hartmann, 2000).

Les altérations du matériel génétique s'accumulent dans l'ADN, représentant ainsi la première étape impliquée dans la mutagénèse, les cancérogènes et le vieillissement (Mitchell *et al.*, 2002 ; Favier, 2006 ; Valko *et al.*, 2007).

5. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Sohal *et al.*, 2002).

Il est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies multifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (Favier, 2003).

6. Les antioxydants

Les antioxydants sont toutes molécules, hydrosolubles ou liposolubles, capables de prévenir ou retarder l'oxydation d'autres molécules.

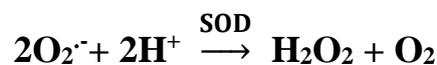
Ces produits proviennent directement du corps humain ou apportés par l'alimentation. Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Orban, 2011).

6.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO principalement la super oxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (Garait, 2006).

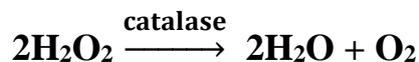
a. Seperoxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloenzyme ubiquitaire localisée dans le cytoplasme, la mitochondrie et les milieux extra cellulaires. Elle élimine l'anion superoxyde par dismutation selon la réaction suivante :



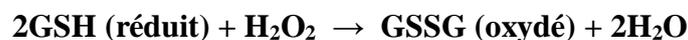
b. Catalase (CAT)

C'est une enzyme héminique localisée à l'intérieur des globules rouges. Elle élimine le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 par dismutation selon la réaction :



c. Glutathion peroxydase/Glutathion réductase (GPx/GP)

C'est protéine à sélénium avec plusieurs isoformes. Elle élimine 70% des peroxydes organique et 94% de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par réduction selon les réactions suivantes :



6.2. Les antioxydants non enzymatiques

a. Vitamine E : Sous forme d' α -tocophérol (très active et très absorbé), C'est un antioxydant majeur dans les structures lipidiques, il a également une autre action, la neutralisation de 1O_2^-

b. **Vitamine C** : Acide ascorbique, il réagit directement sur les radicaux libres et élimine H_2O_2 et joue le rôle d'agent réducteur et chélateur sous forme d'acide déhydro-L-ascorbique (DHA).

c. **Provitamine A (caroténoïdes)**

C'est un type de caroténoïdes et précurseur de la vitamine A. Il interrompt le processus de la peroxydation lipidique.

d. **Autre vitamines** : Vitamine P(flavonoïdes) ,coenzyme Q10.

e. **Oligoéléments** : Zn ,Se comme cofacteurs de la GPx, SOD1, SOD3 respectivement (Bensakhria ,2015).

6.3.Glutathion :Le glutathion (GSH) est un antioxydant qui agit comme piègeur de radicaux libres et comme agent détoxifiant dans les cellules. Sous stress oxydatif, le GSH est converti en GSSG par les peroxydases dépendantes du GSH lors de la réaction avec le ERO. Le GSH maintient des niveaux de cystéine suffisants de détoxifier les xénobiotiques (Bansal et Simon, 2019).

II.Pouvoir anti-hémolytique

1. Généralité sur les globules rouges

Les globules rouges (RBC), hématies ou érythrocytes sont les cellules les plus abondantes de la circulation sanguine. Leur durée de vie est de 120 jours. Leur production quotidienne est de 200.10^9 par jour, au cours des quels ils effectuent un déplacement de près de 500 km dans la microcirculation. Leur fonction est de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus et d'évacuer le dioxyde de carbone en sens inverse (Guilaum, 2007).

2. La membrane érythrocytaire

La membrane érythrocytaire est constituée d'une double couche lipidique dans laquelle un grand nombre de protéines liées au cytosquelette sous-membranaire sont insérées (Figure 07). Certains des ces glycoprotéines et certains glycolipides expriment à la surface du globule des déterminants des groupes sanguins, le cytosquelette comprend plusieurs protéines dont la spectrale, l'ankyrine et l'actine (Manaargadoo-catin *et al.*, 2016).

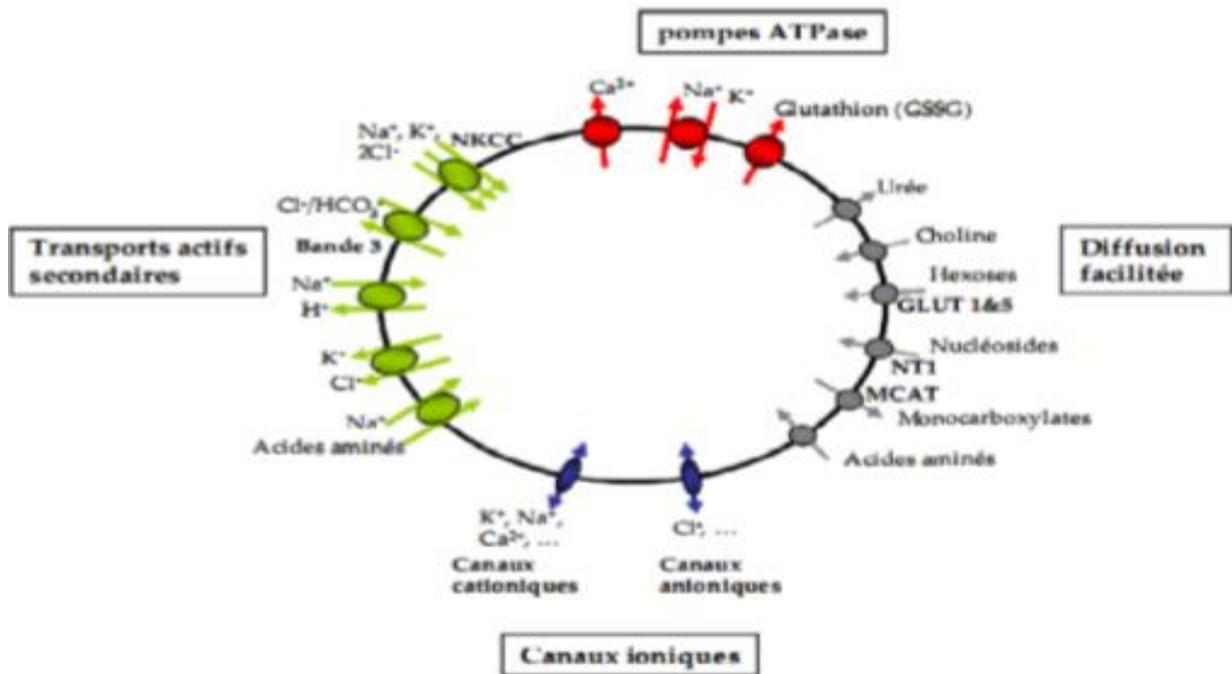


Figure 07 : les échanges de la membrane érythrocytaire (Jauréguiberry, 2015)

3. Cytoplasme des globules rouges

Il est constitué de l'eau, des ions dont le K^+ est l'ion prépondérant, des enzymes, du glucose et d'hémoglobine (Lévy *et al.*, 2008). Cette dernière est une protéine constituée de quatre sous unités de globine dans chacune se lie une molécule hémique où se fixe l' O_2 par le biais de Fe^{2+} (Horn *et al.*, 2005).

4. L'hémolyse

Par définition, l'hémolyse désigne le processus vivant la destruction de la membrane érythrocytaire provoquant la libération d'hémoglobine (HB) (Kalaiselvi et Vidhya, 2015). L'hème libéré est capable d'activer les voies d'inflammation convergentes telles que la signalisation des récepteurs de péage et la formation des pièges à neutrophiles extracellulaires. Les autres molécules puissantes qui peuvent être libérées par la décomposition des GR comprennent la protéine de choc (HSP), l'interleukine-33 et le triphosphate d'adénosine 5' (Mondonaca et Silveira, 2016).

5. Types et mécanismes d'hémolyse pathologique :

La destruction des érythrocytes est un phénomène normal qui a lieu dans la rate lorsque les globules rouges sont en fin de vie. Les anomalies hémolytiques peuvent avoir

différentes causes. Ce la pourrait être une pathologie qui provoque la destruction des globules rouges dans les vaisseaux sanguins (une anomalie constitutionnelle de structure de l'hémoglobine « hémoglobinopathies » et de membrane du GR...etc) (Rebar.,1991).

Tableau 03 : Quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-hémolytique

Matrice végétale	Tests utilisés	Effets	Références
Fleur de <i>Albutinus indicum</i>	Hémolyse induite par NaCl.	Activité Anti-hémolytique :70,24% à 1mg/ml d'extrait.	(Shobana et Vidhya, 2016).
Fleur de <i>Cassia auriculata</i>	Hémolyse induite par le Na Cl.	Activité Anti-hémolytique :64% à 500µg/ml d'extrait.	(Rani et al , 2014)
Feuilles,tige,fleur de <i>Gymnemas ylvestre</i>	Hémolyse induite par le H ₂ O ₂ .	Activité Anti-hémolytique : IC50=29,83 g/ml.	(James et Alewo,2014).
Extraits de <i>Oryza sativa</i>	Hémolyse induite par le Na Cl.	Effet Anti-hémolitique :63,77% A 500µg/ml.	(Rahman, Eswaraiah et al., 2015).
Extrait de <i>Annona muricata</i>	Hémolyse par TritonX100.	Activité Anti-hémolytique :85,7% à 500 µg/ml d'extrait.	(Muthu et Duraira, 2015)
Fruit de <i>Persea americana</i>	Hémolyse induite par le H ₂ O ₂ .	Effet Anti-hémolytique : IC50=0,0422mg/ml.	(Nabavi et al., 2013).
Feuilles de <i>Piber betel</i>	Hémolyse induite par le H ₂ O ₂ .	Activité Anti-hémolytique :40,6% Pour une concentration de 5mg/ml.	(Chakraborty et Shah, 2011)

1. Objectif

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires de biochimie, Faculté des Science de la Nature et de la vie et Science de la terre et de l'Univers, Université Abou Belkaïd de « Tlemcen ».

Elle porte sur une étude biologique de la cytotoxicité, in vitro, dont l'objectif final est l'évaluation d'éventuel effet hémolytique et/ou antihémolytique. Ainsi, une évaluation de l'activité antioxydant à différentes concentration des extraits de la partie aérienne du *Hyoscyamus Niger* (feuilles et tiges) par la méthode de ABTS fait partie des objectifs du présent travail.

2. Matériel végétal

La plante *Hyoscyamus niger* a été récoltée le mois de Juin 2019, dans la région de **Ain Fezza**, Willaya de Tlemcen. La partie aérienne (feuille et tiges) a été séchée à l'abri de la lumière et à une température ambiante, puis elle était finement broyée et stockée dans un endroit sec.



Photo 03 : *Hyoscyamus niger*

Ain Fezza est une commune de la willaya de Tlemcen, située dans le Nord-est de la willaya, à environ 8Km (Figure 08).

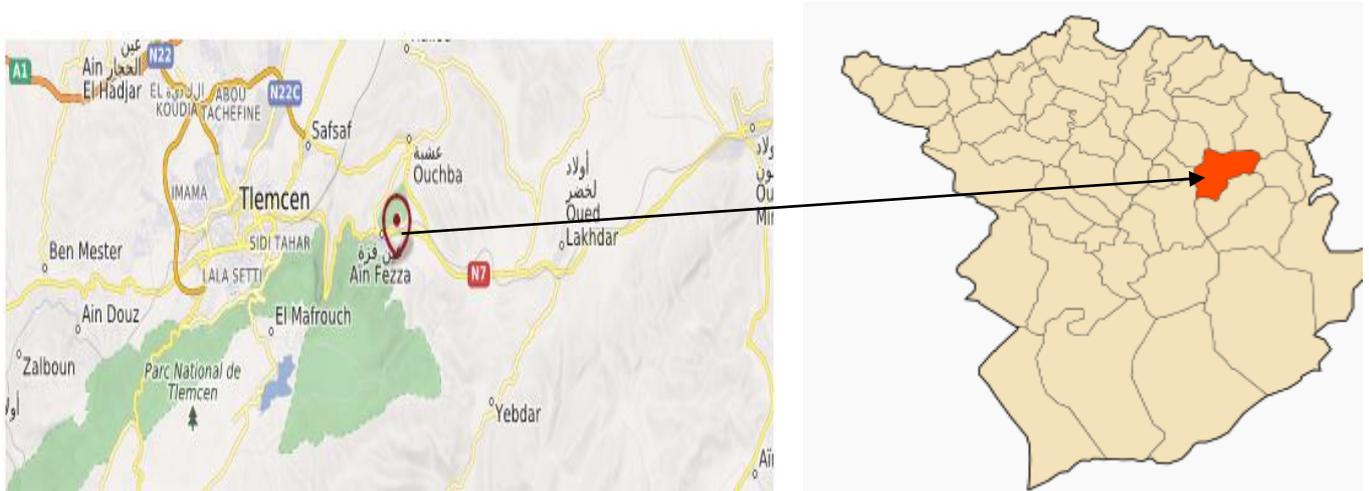


Figure 08 : Situation géographique de Ain fezza (Tlemcen).

3. Préparation des extraits

3.1. Préparation de l'extrait hexanique

- Dans une cartouche de soxhlet, on met 40g de la plante (Poudre).
- 250 ml de l'hexane est versé dans le ballon.
- L'extraction par soxhlet se fait pendant 6h.
- L'extrait hexanique obtenu est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif.
- le résidu sec obtenu est récupéré et conservé à 4°C.

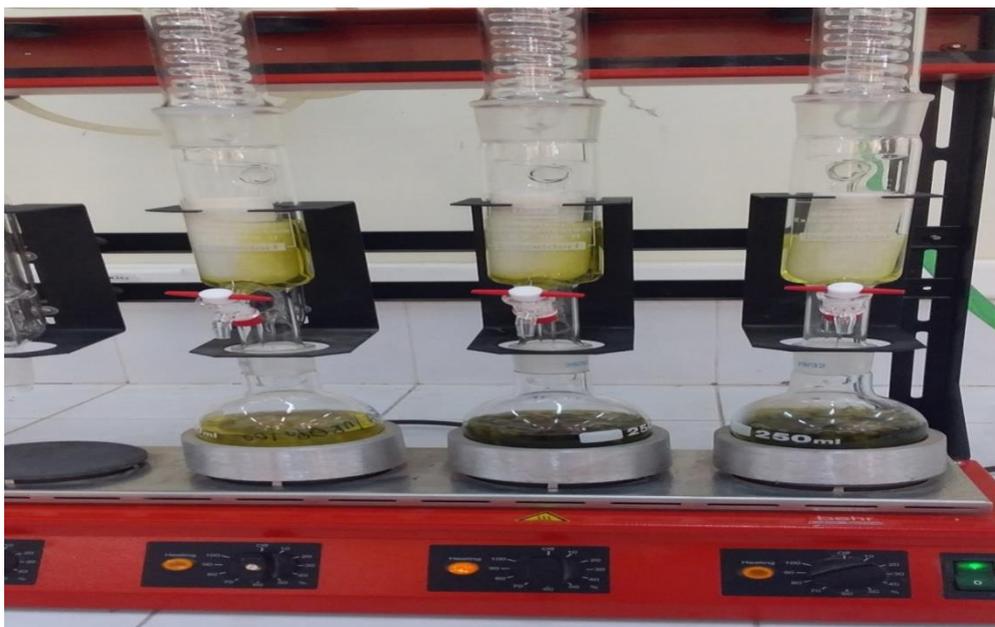


Photo 04 : Extraction par soxhlet

3.2.Préparation de l'extrait eau-acétone

La préparation de cet extrait consiste à macérer 10g de la poudre dégraissée par l'hexane dans un volume de 80 ml d'acétone et 20 ml d'eau distillée, et la laisser 48 h à température ambiante. Après 48 h, le mélange a été filtré et le filtrat a été évaporé par l'évaporateur rotatif à 60°C pour éliminer l'acétone. Après évaporation, l'extrait obtenu est versé dans des boîtes de pétrie et placé à l'étuve à 48°-50°C. Cela permet d'éliminer l'eau et de sécher l'extrait eau-acétone. Le résidu récupéré est conservé à 4°C.

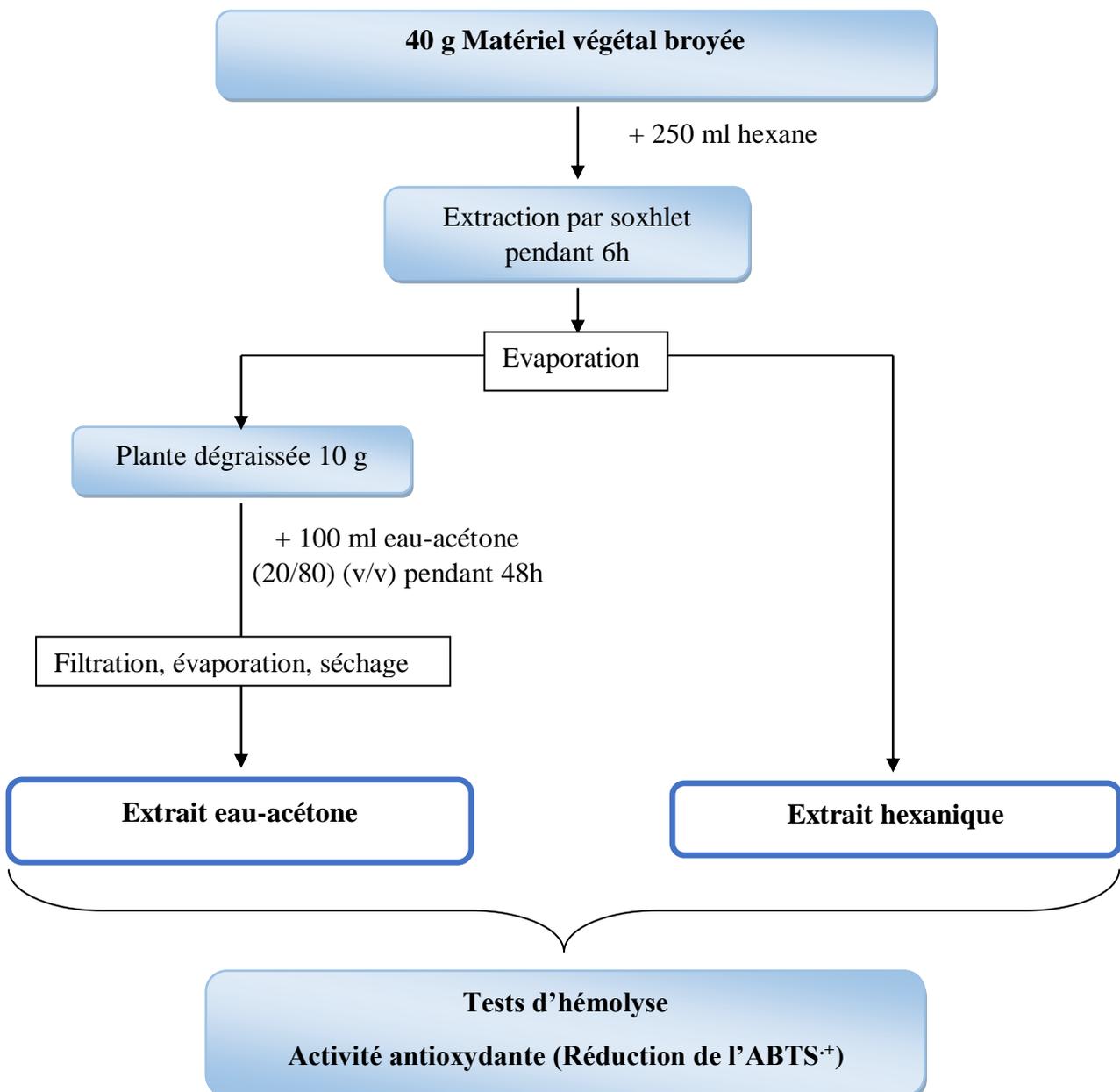


Figure 09 : Protocole expérimental

4. Activité antioxydante : réduction de l'ABTS

4.1.Principe :

L'activité anti-radicalaire en utilisant l'ABTS (L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS, l'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange (Bueno-Costa et *al.*, 2015).

4.2.Mode opératoire :

Le cation radical $ABTS^{+\cdot}$ a été produit en faisant réagir 7 mM d'ABTS $^{\cdot}$ avec une solution de 2,45 mM de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) à des volumes égaux. On laisse ce mélange réagir dans l'obscurité à température ambiante pendant 16 heures avant son utilisation.

Ensuite, la solution d' $ABTS^{+\cdot}$ est diluée avec de l'eau distillée pour donner une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. Un volume de 80 μ l des solutions d'extraits (à différentes concentrations) est additionné à 1ml de la solution d' $ABTS^{+\cdot}$ et l'absorbance est mesurée à 734 nm après 30min d'incubation à 30°C.

La vitamine E est utilisée comme composé de référence.

Le pourcentage de réduction d'ABTS est exprimé par l'équation :

$$\%ABTS \text{ réduit} = \left[\frac{Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}}{Abs_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

$A_{\text{contrôle}}$: absorbance de contrôle (sans antioxydant)

$A_{\text{échantillon}}$: absorbance du test effectué

4.3.Calcul des concentrations efficaces IC_{50} :

IC_{50} est la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. IC_{50} est calculée graphiquement en traçant la variation des pourcentages de réduction en fonction des concentrations des extraits.

5. Evaluation d'effet hémolytique

Le test de l'effet hémolytique des extraits, hexanique et eau –acétone de *Hyoscyamus niger* a été réalisé in vitro sur une suspension érythrocytaire du sang humain, conservée dans un tampon phosphate saline (PBS) à pH=7,4

5.1.Préparation de l'eau physiologie

Cela consiste à dissoudre 9g de NaCl dans un 1L d'H₂O.

5.2.Préparation de PBS (Phosphate buffered saline)

Nous avons préparé la solution tampon saline (PBS) à pH =7,4 ± 0,02 en mélangeant les composés suivants avec les concentration qui correspondent (Mohan, 2006).

- ✚ NaCl (137 mM)
- ✚ KCl (2,7mM)
- ✚ Na₂HPO₄ (10 mM)
- ✚ KH₂PO₄ (1,76 mM)



Photo 05 : Préparation de PBS

5.3.Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang est prélevé dans un tube héparine à partir d'un donneur sain. Ensuite, il est centrifugé à 3000 rpm durant 10 min. Le plasma (surnageant) est éliminé.

Le culot (la suspension érythrocytaire, GRh) est lavé trois (3) fois par le PBS pour être resolubilisé à nouveau par 1 ml de PBS.

5.4.Préparation des extraits

Les différentes concentrations des extraits, préparées dans le PBS sont : 50µg/ml, 1000µg/ml ,1500 µg /ml, 2000µg/ml.

6. Effet hémolytique

Le test d'effet hémolytique de la plante étudiée est réalisé selon la méthode de Bulmus et ses collaborateurs (2003).

-Mette dans tubes à hémolyse 0,4ml de la suspension GRh (10 %) avec 1,6 ml de l'extrait à différentes concentrations.

-Incuber les tubes à 37°C pendant 30 min.

-Centrifuger les tubes à 3000 rpm pendant 10 min.

-La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 540nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un blanc contenant de PBS.

En parallèle, un tube contrôle négatif en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique est préparé. Dans les mêmes conditions, un tube contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse est préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (At / Ac) \times 100$$

Ac = Absorbance du contrôle

At = Absorbance du test

7. Effet anti-hémolytique (non réalisé)

7.1.Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à inhiber l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique *et al.*, 1989 ; Oyedapo *et al.*, 2010).

7.2.Mode opératoire

Le milieu réactionnel contenant 0,5 mL de l'extrait (Diclofénac sodique ou l'acide gallique) à différentes concentrations (10-300 µg/mL), mélangé avec 1,5mL du tampon_phosphate (0,9% NaCl, pH=7,4) et 2ml d'une solution hypo-saline (0,36 % NaCl), a été incubé à 37°C pendant 20 min. Ensuite 0,5 mL de la suspension de GRh (10%) ont été ajoutés à chaque concentration et une deuxième incubation a été réalisée à 56°C pendant 1h. Au final, les tubes ont été refroidis sous l'eau courante et suivie par une centrifugation à 2500 rpm pendant 5min et les absorbances du surnageant ont été mesurées à 560 nm. En parallèle un contrôle a été réalisé en remplaçant l'extrait avec 0,5mL du tampon phosphate.

7.3.Expression des résultats

Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (Ac - At / Ac) \times 100$$

Où : Ac = Absorbance du contrôle

At = Absorbance du test

Résultats et interprétation

1. Extraction

L'extraction a permis de récupérer deux extraits, hexanique et eau-acétone avec des rendements de l'ordre de 2,4% et 5,3% respectivement.

L'extrait hexanique a un aspect huileux avec une coloration marron-verdâtre alors que l'extrait eau-acétone est plus dense (pâteux) avec une coloration verte.

2. Activité anti radicalaire par ABTS⁺ :

L'activité anti radicalaire par le cation radical ABTS⁺ est une méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique ABTS⁺ et le réduire en sa forme neutre ABTS[•] (Isla *et al.*, 2011).

Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe pour l'extrait de l'eau-acétone. Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur sont représentés sur la figure 10, qui montre les variations des pourcentages de réduction en fonction de la concentration d'eau-acétone.

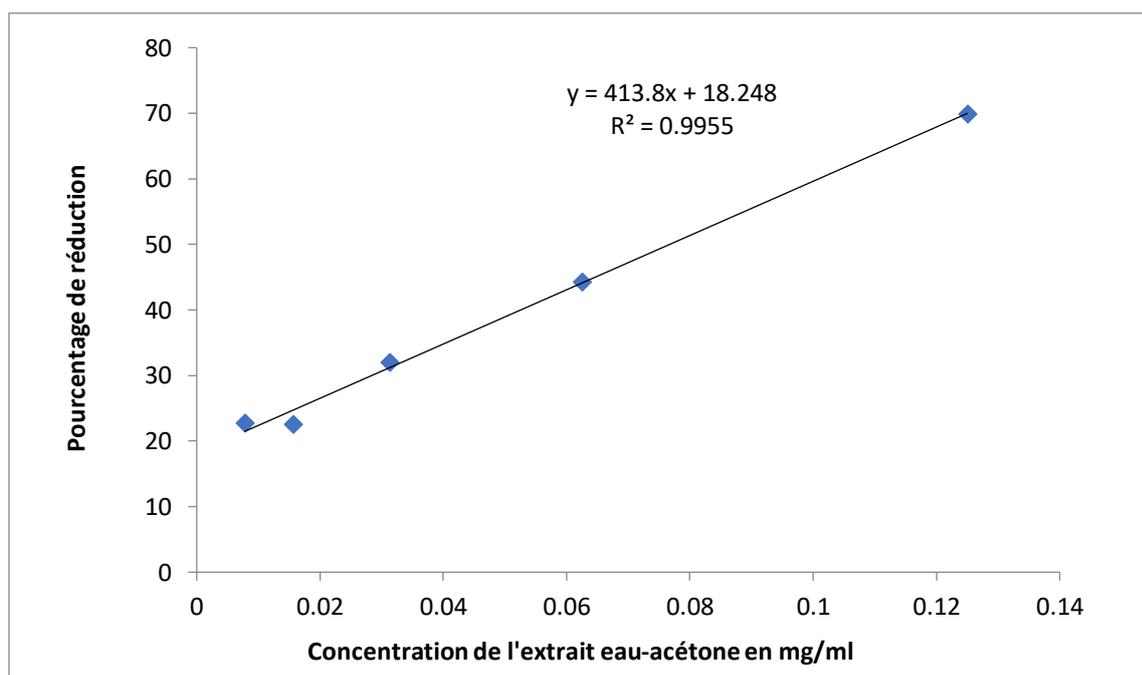


Figure 10 : Pourcentage de réduction du radical ABTS⁺ en fonction des différentes concentrations de l'extrait eau-acétone.

A la concentration de 0,125 mg/ml, l'extrait eau-acétone provoque une inhibition très élevée qui est de l'ordre de 70%.

Résultats et interprétation

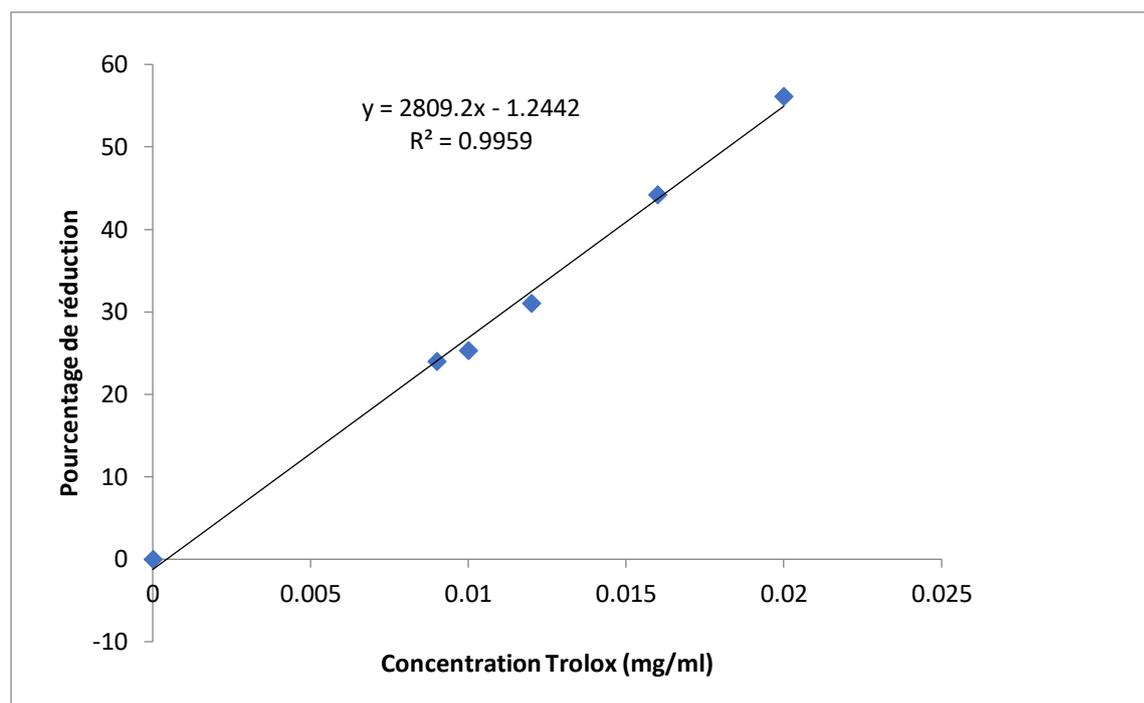


Figure 11 : Pourcentage de réduction du radical ABTS⁺ en fonction des différentes concentrations de Trolox.

Le trolox est un excellent antioxydant. A la concentration de 0,02 mg/ml, il peut réduire plus de 56% d'ABTS⁺.

Tableau 04 : Les valeurs des IC₅₀ calculées pour l'extrait eau –acétone et Trolox .

	Extrait eau –acétone	Trolox
IC ₅₀ en mg/ml	0,0767	0,0182

Les valeurs d'IC₅₀ montrent que l'extrait eau-acétone présente une faible activité antioxydante par rapport aux Trolox mais qui reste très intéressante.

Résultats et interprétation

3. Evaluation de l'effet hémolytique

Les tests d'effet hémolytique ont été réalisés sur les extraits hexaniques et eau-acétone à partir de la partie aérienne de *Hyosyamus niger*.

Les extraits ont été testés à différentes concentrations (0,125 ; 1 mg/ml), pendant 30 min d'incubation avec des érythrocytes humains dans le PBS (Phosphate buffered saline), à une température de 37 °C.

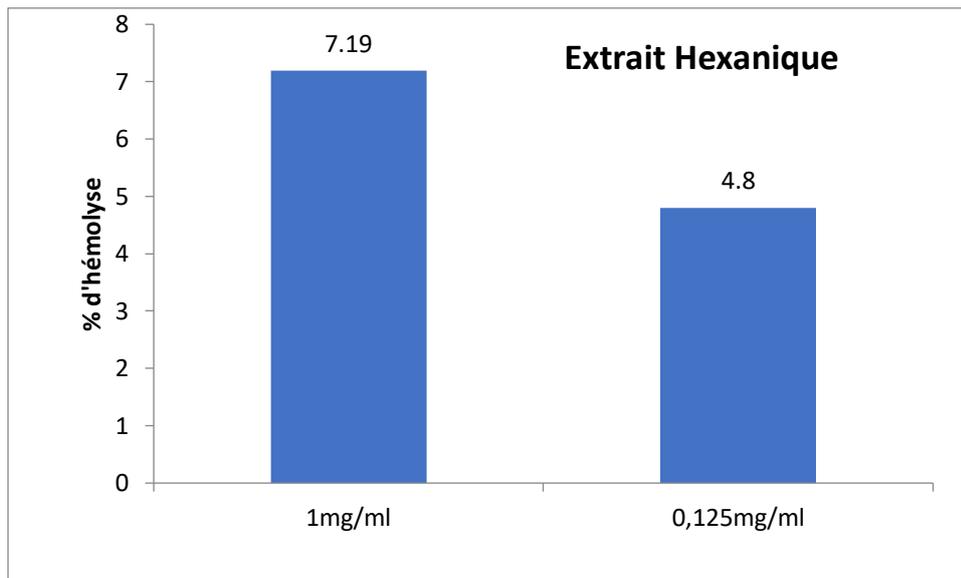


Figure 12 : Effet hémolytique (pourcentage d'hémolyse) de l'extrait hexanique de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger*

Résultats et interprétation

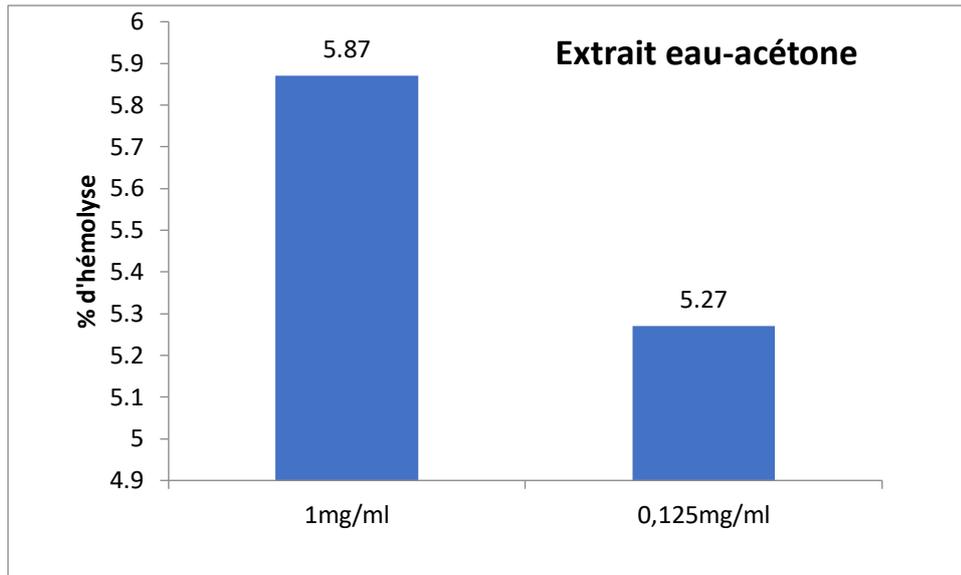


Figure 13 : Effet hémolytique (pourcentage d'hémolyse) de l'extrait eau-acétone de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger*

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que le pourcentage d'hémolyse augmente avec les concentrations des extraits, hexanique et eau-acétone.

A partir des figures 12 et 13, il est remarquable qu'à la concentration de 1mg/ml l'extrait hexanique induit une hémolyse de l'ordre de 7,19% alors que pour l'extrait eau-acétone, il est de l'ordre de 5,87%. Il semble que l'extrait eau-acétone est moins hémolytique que l'extrait hexanique. Ce résultat reste primaire et mérite d'être reconduit par d'autres travaux et validé par une étude statistique afin de confirmer ou d'infirmer cette constatation.

Discussion

Les plantes constituent un patrimoine précieux pour les être humains en raison de leurs utilités à des fins multiples dont l'usage thérapeutique (Tabuti et al., 2003 ; Dibong *et al.*, 2011 ; Bouayyd, 2015). En Algérie, ce patrimoine végétal est très important dans la pharmacopée traditionnelle (Allali *et al.*, 2012).

Certaines plantes sont intéressantes pour être utilisées en thérapie alternative ou bien modèle pour la synthèse de nouvelles substances (Houghton, 2000).

L'objectif de notre travail est porté sur la recherche de l'activité antioxydante et anti hémolytique de la partie aérienne de la plante *Hyoscyamus niger* de la région de Tlemcen.

L'activité antioxydante de l'extrait eau-acétone de notre plante a été évaluée par le test de réduction du cation radical ABTS^{•+} (Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) dont nous avons déterminé IC₅₀.

Les résultats obtenus ont montré une bonne activité antioxydante de l'extrait préparé par macération avec une IC₅₀ de l'ordre de 0,0767 mg/ml. Mais cette activité est largement faible par rapport à celle du Trolox qui a présenté une IC₅₀ de l'ordre de 0,0182 mg/ml.

Plusieurs travaux ont été réalisés sur l'activité antioxydante de différentes préparations des différentes plantes.

Olamide *et al.*, (2017) ont étudié l'activité antioxydante sur *Grewia carpinifolia* par la méthode d'ABTS et les résultats montrent un pourcentage d'inhibition de l'extrait des feuilles et des tiges qui est de l'ordre de 58,15 % et 70,25 % respectivement et de 80,02% pour l'acide ascorbique à une concentration 0,5 mg/ml. L'IC₅₀ de l'acide ascorbique était de 0,31 mg/ml tandis que celles des extraits de feuille et de tige étaient respectivement 0,32 et 1,98 mg/ml.

Concernant la même activité biologique, Dieng *et al.*, (2017) ont montré que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumacher présente une IC₅₀ de l'ordre de 39,3 ±1,00 µg /ml et 109±6,25 µg/ml respectivement ; ainsi que Labiad *et al.*, (2017) qui ont enregistré une IC₅₀ d'ordre 127,38± 3,83 µg/ml de l'extrait hexanique de *Thymus satureioides*.

Les résultats obtenus par Sarr *et al.*, (2015) montrent que la fraction hexanique des feuilles de *Vitex doniana* présente un pourcentage d'inhibition de 52,76±0,05%.

Discussion

De ces travaux, réalisés sur d'autres plantes, nous constatons que l'extrait eau-acétone de *Hyoscyamus niger* est doué d'une activité antioxydante très intéressante avec une valeur d'IC₅₀ faible. Cela doit être reconduit afin de confirmer cette efficacité.

Les résultats de l'effet hémolytique des extraits eau-acétone et hexanique de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* ont montré que l'extrait eau-acétone est moins hémolytique que l'extrait hexanique de l'ordre de 5,87% et 7,19% respectivement à une concentration de 1 mg/ml.

Dans ce contexte, nous citons les travaux de Chaouache *et al.*, (2020) qui ont enregistré un taux d'hémolyse de l'ordre de 3,26 %, 60 min après incubation en présence de 50 mg/ml de l'extrait *Ziziphus jujuba* suivi par l'extrait des feuilles de *Rhammus alaternus* avec un pourcentage de 1,9 %.

Aussi, Moussaoui et Harkati (2013) ont étudié l'effet hémolytique de 0,2 mg /ml d'extrait brut aqueux de *Marrubium vulgare*, récolté de la région de Mansourah wilaya de Tlemcen, où ils ont enregistré un taux d'hémolyse de l'ordre de 5,4% ,45 min après incubation des hématies avec l'extrait en question.

Dans les travaux de Gangwar *et al.* (2014) sur l'extrait de *Mallotus philippensis*, le taux d'hémolyse est de 14% à la concentration de 100 µg/ml.

Les extraits hydro-méthanoliques de *Portulaca oleracea* (L.) obtenus par infusion et décoction présentent des taux d'hémolyse qui ne dépassent pas 8,7% et 6% respectivement à une concentration de 2 mg/ml après 60 min d'incubation à 37°C par rapport à l'hémolyse totale (Gorshkova *et al.*, 1999).

En traitant ces données bibliographiques, nous remarquons que l'effet hémolytique des extraits de plante est très variable. Notre plante, précisément les deux extraits semblent avoir un effet hémolytique modéré. Nous restons limiter par le peu de tests réalisés et nous estimons l'approfondir dans l'avenir.

Conclusion

L'objectif de ce travail est basé sur l'évaluation de l'activité antioxydant et la recherche d'effet antihémolytique des différents extraits la partie aérienne d'une plante médicinales de la famille des Solanacées à savoir la jusquiame noire (*Hyoscyamus niger*).

Pour l'activité antioxydante a été évaluée par la technique d'ABTS ; les résultats montrent que l'extrait eau-acétone présente une faible activité antioxydante avec une IC_{50} de 0,0767 mg/ml par rapport le Trolox (vitamine E) qui montre une IC_{50} de 0,0182 mg/ml mais qui reste très intéressante.

Concernant l'activité hémolytique, réalisé *in vitro*, le test a montré que l'extrait eau-acétone présente un effet hémolytique de 5,87 % à une concentration de 1 mg/ml après 30 min de contact avec les érythrocytes humaines. Cet effet reste faible par rapport à l'extrait hexanique qui a un effet hémolytique de 7,19% dans les mêmes conditions.

Cette étude reste toutefois préliminaire et incomplète et mérite d'être approfondie par d'autres recherches qui s'intéressent à :

- ✚ l'étude d'autres activités biologiques comme ; l'activité antidiabétique, antibactérienne, anti-inflammatoire,....
- ✚ L'évaluation l'activité antioxydante par d'autre méthodes par exemple : DPPH((2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power),ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity),...
- ✚ Réalisation des tests *in vivo* pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante des plantes utilisées.

Références bibliographiques

-A-

- Abedinia.,(2013).Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'hyptis atorubens poit.(Lamiaceae),sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 palntes ;diplôme de doctorat ; université de Lille ; France.
- Al-Snafi, A. E. (2018). Therapeutic importance of Hyoscyamus species grown in Iraq (Hyoscyamus albus, Hyoscyamus niger and Hyoscyamus reticulates)-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 8(6), 18-32.
- Akowauh G.A.,Zhari I.,Norgyati I.,Sadikun A. et khamsah S.M.(2004). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphénols of orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity.*Food chemistry* 87 :559-566.
- Alguilar-Martinez .,(2007)-H₂-Erythnocytes-MB₇ :Hématologie h₂-Faculté de médecine Montpellier-Nimes.
- Albayrat S., Aksoy A., Sagdic O., Hamzaoglu E., (2010).Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of helichrysm (Asterceae) species collected from turkey .*food chemistry*,119(1) :114-122.
- Ankita Bansal., M Celeste Simon.,(2019).Métabolisme de glutathion dans la progression du cancer et la risistance au traitement ,217(7) :2291-2228.
- Ayoub Bensakhria .,(2015). Stress oxydatif. Toxicologie générale.
- Aribi Amira ,Hasasmi lamia , 2018.Contribution àl'étude des extraits aqueux et méthanoliques d'une plante médicinale (sonchus oleraceus).Master II :Université 8 mai 1945 Guelma .
- Arif A.Betka A , Guettaf A(2009) A minimization of torque ripple of sensorless DTC for controlled induction motor used in electric vehicles. *Int Rev Electr Eng (IREE)*)Praise Worthy Prize 4(5) : 837-843.

-B-

- Bruneton J.,(2008). Pharmacognosie : phytochimies ,plantes médicinales.4^{ème} Ed Paris , lavoisier T ech &.DOC.

Références bibliographiques

- Bruneton J., 1999 :Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales .3ème Ed paris, Lavoisier Tech & Doc.
- Bruneton J., 2009 : phytochimie, plantes médicinales .4ème Ed paris, Lavoisier Tech & Doc.
- Boukharata Kheira 2018 ,Dosage des composés phénoliques et recherche d'activité antioxydante d'extraits préparés de salvia officinalis.Mester II biochimie Appliqué . université de Tlemcen.
- Baudin G . Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires . mt cardio. (2006) ; 2 (1) 43-52.

-C-

- Clément,R,P.,(2005).Aux racines de la phytothérapie :entre tradition et modernité (1^{ère} parties), Phytothérapie ,3.
- Crozier A., Chifford M .N.,Ashihara H.(2006) . Plant secondary Metabolic : Occurrence, structure ans Role in the humain Diet . Edt Black well publishing Ltd.
- Christophe ,P., christophe S., (2011).Physiologie , pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain .Edition springer Science et Business Media .84.

-D-

- Daglia M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, **23**, 1-8.
- Djouahra D.,(2012). Alcaloïdes et poly phénols d'haplophyllum tuberculatum (forssk).Effet antimicrobien , Mémoire de magister en biochimie appliqué ,Université Bouira .
- Delattre JB, louis Beaudeau J ,Bonfont –Rousselat D.,(2009).Radicaux libre et stress oxydant .Aspect biologique ET pathologiques Edition TEC & DOC.

-E-

- Etminan A.Omidi M,Hervan EM.Naghavi MR .Zadeh SR et Pirseyedi M.,(2012).The study of genetic diversity in some Iranian accessions of Hyoscyamus sp .using amplified fragement lenth polymorphism (AFLP) and retrotransposon /AFLP markers .African Journal of Biotechnology . 11(43) :10070-10078.

Références bibliographiques

-F-

- Farah A., Donangelo C.M.,(2006) .Phenolic compounds in coffee .Brazilian Journal of plant physiology ,18 (1) :23-36.
- Fatur, K. (2019). Sagas of the Solanaceae: Speculative ethnobotanical perspectives on the Norse berserkers. *Journal of ethnopharmacology*, 244, 112151.
- Favier ,A.,(2003).Le stress oxydative intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .L'actualité chimique ,108-115.
- Fleurentin J.,(2008)-Plantes médicinales et thérapeutique .éditions Ouest-France ,France B.U.Santé Nantes :104-105p.

-G-

- Gutteridge J.M .,(1993).Free radicales in disease processes :a complication of cause and consequence .Free radicale research communication .19 :141-158.
- Guillaume,L. (2007) .Elasticité de squelette de globules rouge humain-une étude en pince optique .thèse de doctorat, université de paris 4, p17.
- GANGWAR M., GAUTAM M.K., SHARMA A.K., TRIPATHI Y.B., GOEL R.K. et NATH G. (2014). Antioxidant capacity and radical scavenging effect of polyphenol rich *Mallotus philippenensis* fruit extract on human erythrocytes: An in vitro study. *The Scientific World Journal*, 1–12.
- Garait, B (2006) .le stress oxydant induit par la voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GLISODin (Doctoral dissertation , Université Joseph –Fourier –Grenoble I).
- Grimsrud ,P .A . , Xie ,H ., Griffin, T.J., & Bernlohr ,D.A..Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes . *Journal of biological Chemistry* .(2008) ;283(32) ,21837 -21841.

-H-

- Hadj Salem J.,(2009) :Extraction ,identification ,caractérisation des activités biologique des flavonoïdes de *Nitria retusa* et synthèse de dérivés acyles des ces molécules par voie enzymatique. Institut national polytechnique de lorraine.

Références bibliographiques

- Hartman ,A.,& Nies ,A.M(2000). Oxidative DNA damage in exercice pathophysiology ,1001(5),and 112.
- Haleng ,J.,Pinecemail , J.,Defraigne ,J.O .,Charlier ,C ., & Chapelle ,J.P. Le stress oxydant . Revue Medicale de liege .(2007) ;62 (10) : 628-38.272.
- Herzi., N.,(2013).Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation ,INPT).
- Horn F., lindenmier G .,Grillhösl C.,Moc I ., Berghold S ., Schmeider N., Münster B .,(2005).Biochimie humain .Edition Flammarion :476-484.
- Huyosecom,E et Sanogo ,K,2006.1907-1997-2007.Un siècle de travaux historique et archéologiques en Pays dogon ,une décennie de recherche du programme « peuplement humain et évolution puléoclimatique en Afrique de l'Ouest » Etudes Maliennes 65,5-14.

-I-

-J-

- Jacques B., André R.,(2004).Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris .
- James, O., et I, M, Alewo. (2014). "In vitro antihemolytic activity of gymnema sylvestre extracts against hydrogen peroxide (H₂O₂) induced haemolysis in human erythrocytes." Am. J. Phytomed. Clin. Ther **2**: 861-869.
- Jauréguiberry, S. (2015). Rétention et " pitting " splénique des globules rouges au cours du paludisme aigu traité par dérivé de l'artémisinine, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- Judd WS.,Campbell CS ., Kellogg EA.et Stevens P.(2002). Botanique systématique :une perspective phylogénétique :1^{ère} ED. De Boeck :84-336.

-K-

- Kartl M.,Kurucu S et Altun L.,(2003).,Quantitative analysis of 1-hyoscyamine in hyoscyamus reticulates L.by GC-MS . Turk journal of chemistry 27 :565-569.

Références bibliographiques

- Karim Arab , Ouahiba bouchenak ,Karima Yahiaoui.,(2013).Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé ,*Afrique science* 09(3) 159-166.
- Kalaiselvi, V.et Vidhya, R.(2015).In vitro membrane stabilizing activity of different extracts of bahinia tomentosa(L) leaves .*World journal of pharmaceutical research* ,4(4):1700-1715.
- Krief S .,(2003).Métabolites secondaires des plantes et comportement animal :surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzés (pan troglodytes schweinfurthien Ouganda) .*Activités biologiques et études chimiques de plantes consommées* .Thèse de doctorat ,méséum national d'histoire naturelle.
- H., Schweigert F.J., Silva F.C., Ferreira A., Costa A.R, Antunes C.,Almeida A.M, Coelho A.V.and Sales-Baptista E.,(2004).The effect of tannins on mediterranean ruminant ingestive behavior .The role of the oral cavity .*Molécules* ,16 ;2766-2784.

-L-

- Lévy J.P., clauvel J.p., le frère F., Bezearid A.,Guillin M.C.,(2008).Hématologie et transfusion 2^{ème} Ed .Elsevier Masson :24-29.
- Larousse, 2001. Encyclopedia of medicinal plant (2nd eddition) Copyright 1996,2001 Dorling Kindersley limited ,Londres Text copyright 1996,2001 Andrew Chevallier.

-M-

- Marchoux G, Gognalons P et Gébré sélassie K.,(2008).Virus des solanacée du Génome viral à la protection des cultures . EDITIONS QUAE .846.
- Mannargadoo-Catin,M.,Ali-Cherif,A/,Pougnas,J.L.and Perrin, C. (2016).Hemolysis by surfactants.Areview.*Advances in colloid and interface science*, 228:1-16.
- Mendonca.,R .,Silveira ,A.A.,Couran ,N.,(2016). Red cell DAMPs and inflammation ,65(9) :565-78.
- Moutsie .,(2008).L'ortie ,une amie qui vous vent du bien ,l'encyclopedie d'utovie ,Edition d'utovie .
- Moulaoui K,Remila S,Oukrif F ,Mazari N et Atmani D .,(2012).Activité analgésique des feuilles et d'écorce de frascinus angustifolia laboratoire de biochimie appliquée .Faculté des sciences de la nature et de la vie.Université Abderrahmane Mira de Bejaia,0600.Complexe Antibiotical , SaidaI, Médéa, Algérie .In 1^{er} Congrès international de la société algérienne de nutrition . Nutre Santé . ,1 :101.Oran .

Références bibliographiques

- Martens S. et Mithöfer A.,(2006).Corrigendum to flavons and flavone synthases phytochemistry :67(5) :521.
- Macheix,J.J., Fleriet ,A., Christian ,A.,(2005).Les composés phénolique des végétaux :un exemple de métabolites secondaire d'importance économique .PPTU R lausane .pp.39.
- Makkar H.P.S..Siddhuraju P. et Becker K.,(2007).Plant secondary metabolites ,méthods in molecular biology 393 ;Ed :HUMANA PRESS ;p :67-111.
- Muthu, S., et B, Duraira (2015). "Inhibitory effect of hydroethanolic extracts of *Annona muricata* on human platelet aggregation and hemolysis in vitro." *Int J Pharm Pharm Res* **2**: 207-213.
- M.H.Labiad, H.Harhar ,A.Ghanimi,M.Tabyaoui .,2017 « Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Moroccan *Thymus Satureioides* Extracts ».*Jmes* 2017, volume 8,Issue 6,page 2132-2139.
- Moussaoui Hamid, Yahiaoui M' hand .,2012 Evaluation in vivo ,de l'activité anti – inflammatoire des extraits de feuilles de *frascins.angustifolia* et des sommités fleuries de *Galiummollugo* ,Master II Biochimie appliquée .Université Abdenalmane Mira De Bejaia.
- Mitchell ,D.L.,Meador ,J., Paniker ,L ,. Gasparutto ,D.,Jeffrey ,W.H ,.Cdet , J. Development and application of a novel immunoassay for measuring oxidative DNA damage in the environment .*Photochem Photobiol* (2002) ; 75 ,257-263 .

-N-

- Nabavi, S, F., S, M, Nabavi., W, Setzer., S, A, Nabavi., S, A, Nabavi., M, A, Ebrahimzadeh. (2013). "Antioxidant and antihemolytic activity of lipid-soluble bioactive substances in avocado fruits." *Fruits* **68**(3): 185-193.

-O-

- O.M. Ighodaro ^{ab} O.A. Akinloye .,(2008).First line defence antioxdants des extraits des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* .Mémoire de master biologie .Université abou berk belkaid Tlemcen.

Références bibliographiques

- Orban ,J.C.,(2010).Oxygène ,stress oxydant .Désordres métaboliques et réanimation ,427-437.
- Orban,J.(2011).Oxygène, stress oxydant .Désordres métaboliques et réanimation .p 428-435.
- Olamide E.Adebiyi, Funsho.O.Olayemi,Tan Ning –Hua,Zeng Guang –Zhi « In vitro antioxidant activity,total phenolic and flavonid contents of ethanol extract of stem and leaf of *Grewia carpinifolia* » ,Beni-Suef University Journal of basic and Applied Sciences 6(2017) 10-14.

-P-

- Papazian L.,Roch A.,(2008).Le syndrome de détresse respiratoire aigue .Edition springer :153.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux KQet Defraigne JO.,(2008).Mécanismes physiologique de la défense antioxydant. Nutrition chimique et métabolisme ;16 :233-239.

-R-

- Rebar A.H.,(1991).Conduite diagnostique en médecine canine des carnivores domestique .Editée par FORD RB Edition du point vétérinaire ,France,75-100.
- Rahman, H., M, C, Eswaraiah., A, M, Dutta. (2015). "In-vitro anti-inflammatory and antiarthritic activity of *Oryza sativa* var. joha rice (an aromatic indigenous rice of assam)." American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences **15**(1): 115-121.
- Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema. (2014). "Anti-inflammatory activity of flower extract of *Cassia auriculata*-an in vitro study." Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci. **4**: 57-60

-S-

- Sae wonng kim.,(2012).Phytotherapy :emerging therapeutic option in urologic Disease ;sep 1(3) :181-191.
- Sarni –Manchado ,P., Cheynier ,V.,(2006).Les poly phénols en agroalimentaire .Technique et documentation .lavosier.Paris.PP.398.
- Schir Amel .,(2018).Evaluation de l'activité antioxydant des extraits des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* .Mémoire de Master biologie .Université abou berk Belkaid Tlemcen.

Références bibliographiques

- Sohal,R.S. , Mochett,R.j.,&Orr ,W.C.,(2002). Mecanisme of aging :an appraisal of the oxydative stress hypothesis 1,2.Free radical biology and medicine ,33(5),575-586.
- Shobana, S et R, Vidhya (2016). "Evaluation of In Vitro Hemolytic Activity Of Different Parts of Abutilon indicum (Linn.)." World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences **5**(5): 1182-1196.
- Sutour S.,(2011).Etude de la composition chimique d'hiles essentielles et d'extraits de méthodes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat en chimie organique et analytique Université de Corse Pascal poli .France.
- Serigne Ibra Mbacke DIENG ?Alioume Dior FALL ,Kady DLATTA-BADJI,Abdou SARR,Madieye SENE,Moussa SENE ,AmadouMBAYE,William DIATTA et Emmanuel BASSENE « Evaluation de l'activité antioxydante des extrait hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de Piliostigma thonningii Schumach ».Int J.Biol.Chem .Sci .11(2) : 768-776 April 2017.
ISSN 1997-342 X(online) , ISSN 1991-8631 (Print).
- Sergne Omar SARR , Alioume Dior FALL ,Rokhaya GUEYE ,Amadou DIOP,Khady DIATTA , Ndeye DIOP ,Bara NDLAYE et Yérim Mbagnick DIOP « Etude de l'activité antioxydant des extraits des feuille de vitrx doniana (Verbenacea).Int .J.Biol.Chemi.Sci .9(3) :1263-1269,June 2015 .
ISSN 1997 -342X (Online) ,ISSN 1991-8631 (Print)

-T-

- Tremellen K.,(2008).Oxidative stress and male infertility –a chemical prespective . Hum Repord update ;14 :243-258.
- Tron I., Piquet O.,(2002). Toxon :manual de toxicologie ,Agence de l'environnement et de la maitrise de l'énergie :32-34 :26-27.
- Tarik Mohammed Chaouache ,Farah Haddouchi,Ouhiba Boudjemai and Imen Ghellai (2020). « Antioxidant and hemolytic activity of Ziziphus jijuba Mill and Rhammus alaternus L(Rhamnaceae) extracts from Algeria .Bulletin de la Société Royale des Science de la Liège ,Vol .89,2020,articles ,p.1-14.
- Souchard , E. RRole of oxidant species in aging . Curr .Med .Chemiq .(2004) ; 11 ,1105-1112.
- Smyth T, Ramachandran VN et Smyth WF ; 2009. A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins .Int J Antimircob ;33(5) :421-426.

Références bibliographiques

-V-

- Vacheron S.,(2010).La phyto-aromathérapie à l'officine,Paris.