

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

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM

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



Département de Biologie

Laboratoire



Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

MEMOIRE

Présenté par

Ammar Belhadj Hadjer

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

Etude de l'activité antioxydant des extraits eau-acétonique et hexanique de *Hyoscyamus niger*

Soutenu le 10/09/2020, 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

المخلص

مضادات الأوكسدة الطبيعية متوفرة في المملكة النباتية. وقد تكون هذه الجزيئات مفيدة لصحة الإنسان.

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للأوكسدة لمستخلص الهكسان و مستخلص الماء – الأسيتون للنبتة الطبية "بونرجوف" ذات الاسم العلمي (*Hyoscyamus niger*) و التي تنتمي لعائلة سولاناسي، بواسطة اختبار: إرجاع الحديد (FRAP) و تبييض β -كاروتين.

أظهر الاختبار FRAP أن كلا المستخلصين اللذان تمت دراستهما يمتلكان قدرة إرجاع و لكنها تختلف من مستخلص إلى آخر. يتميز مستخلص الماء – الأسيتون بأعلى كفاءة ($EC_{50} = 1.47$ ملغ/مل) ، أما مستخلص الهكسان فيمتلك اقل قدرة مع $EC_{50} = 2.87$ ملغ/مل.

بالنسبة لاختبار تبييض β -كاروتين، اظهر مستخلص الهكسان أعلى نشاط بالمقارنة مع مستخلص الماء-الأسيتون، حيث أن قيم IC_{50} هي 1.98 ملغ/مل و 2.79 ملغ/مل لمستخلص الهكسان و الماء-الأسيتون على التوالي.

استنادا على هذه النتائج، فان البنج الأسود (*Hyoscyamus niger*) نبات طبي يمتلك نشاط مضاد للأوكسدة و الذي يستحق أن يثبت بتجارب أخرى.

الكلمات المفتاحية: *Hyoscyamus niger*، نشاط مضاد للأوكسدة، إرجاع الحديد (FRAP) ، تبييض β -كاروتين.

Résumé

Les antioxydants naturels sont très présents dans le règne végétal. Ces molécules peuvent s'avérer utiles pour la santé humaine.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits hexanique et eau-acétone de la partie aérienne de la plante médicinale *Hyoscyamus niger* de la famille solanacée par deux méthodes : réduction de fer FRAP et le test de blanchissement de β -carotène.

Le test FRAP a montré que les deux extraits étudiés possèdent un pouvoir réducteur avec un potentiel variable d'un extrait à l'autre. L'extrait eau-acétone possède le pouvoir le plus élevé avec une EC_{50} de 1,47 mg/ml. Cependant, l'extrait hexanique présente un pouvoir faible avec une EC_{50} de 2,87 mg/ml.

Pour le test de blanchissement de β -carotène, l'extrait hexanique a donné une inhibition plus importante par rapport à l'extrait eau-acétone, avec des valeurs d' IC_{50} de 1,98 mg/ml et 2,79 mg/ml pour l'extrait hexanique et l'extrait eau-acétone respectivement.

D'après ces résultats, il ressort, donc que *Hyoscyamus niger* est une plante qui possède une activité antioxydante importante et qui mérite d'être confirmée par d'autres techniques.

Mots clés: *Hyoscyamus niger*, Activité antioxydante, FRAP, blanchissement de β -carotène.

Abstract

Natural antioxidants are very present in plants. These molecules can be useful for human health.

In this work, we are interested in the evaluation of the antioxidant properties of hexanic and water-acetone extracts of the aerial part of the medicinal plant *Hyoscyamus niger* of the Solanaceae family by two methods: iron reduction (FRAP) and β -carotene bleaching tests.

The FRAP test showed that the two extracts studied have a reducing power with a variable potential. The water-acetone extract has the highest potency with an EC_{50} of 1.47 mg/ml. However, hexanic extracts has low potency with EC_{50} of 2.87 mg/ml.

For bleaching of β -carotene test, the hexanic extract gave a greater inhibition compared to the water-acetone extract, with IC_{50} values of 1.98 mg/ml and 2.79 mg/ml for hexanic extract and water-acetone extract respectively.

Based on these results, it can be concluded that *Hyoscyamus niger* is a plant with antioxidant activity and which deserves to be confirmed by other techniques.

Key words: *Hyoscyamus niger*, activity antioxidant, FRAP, bleaching of β -carotene

Remerciement

*Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et le miséricordieux, de m'avoir permis de mener à bien ce travail, je tiens à remercier vivement à **M^{me} MADJDOUB H.** «Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique et pour ses conseils et ses encouragements. Avec toutes ma gratitude et de mon respect les plus sincères.*

*Toutes ma gratitude s'adresse aussi à **Mr Azzi R.** « Maître de Conférences A » au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ma fait l'honneur de présider le jury de la soutenance.*

*J'adresse mes remerciements aussi à **Melle Bouali W.** « Maître de Conférences B » au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de cette mémoire.*

Mes vifs remerciements à mes parents et ma famille pour leur soutien et leurs encouragements et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

À l'aide d'Allah, le tout puissant qui ma aider et donner la force, le courage, la volonté et surtout la patience pour réaliser ce travail que je dédie :

À ma chère mère Lila,

À mon cher père Mokhtar,

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai jamais de les remercier comme il se doit. Mes parents qui ont sacrifié, qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me conseillé, de me soutenir et de me encourager durant ces années d'études.

À mon adorable sœur Khawla

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles, par son esprit positif et sa personnalité joyeuse. Puisse Dieu te donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

À ma famille, mes proches et ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

À mes amies Kawthar, Nafissa et Nahla

Qui ont partagée avec moi tous les bons et les mauvais souvenir au long du mon Parcours universitaire, et à que je souhaite plus de succès.

À tous ceux que j'aime

Merci !

Liste des figures

Figure 01 : Structure de base des alcaloïdes	14
Figure 02 : Exemples d'acides phénoliques	15
Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 04 : structure de base des tanins	17
Figure 05 : <i>Hyoscyamus niger</i>	20
Figure 06 : feuille, fleur, pyxides, et graines de <i>Hyoscyamus niger</i>	21
Figure 07 : Structure chimique des alcaloïdes tropaniques de <i>Hyoscyamus niger</i>	23
Figure 08 : la partie aérienne de <i>Hyoscyamus niger</i>	24
Figure 09 : Extraction par l'appareil de soxhlet	25
Figure 10 : les étapes de préparation de l'extrait eau-acétone	26
Figure 11 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur FRAP	27
Figure 12 : protocole d'évaluation de l'activité antioxydant par Test de blanchissement β -carotène.....	29
Figure 13 : pouvoir réducteur du fer par les deux extraits de <i>Hyoscyamus niger</i> et l'acide ascorbique	31
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait eau-acétone	32
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait hexanique	33
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de BHT	33

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principales espèces réactives de l'oxygène	4
Tableau 02 : Les principales espèces réactives de l'azote	5
Tableau 03 : Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus niger</i>	30
Tableau 04 : valeur des EC ₅₀ des extraits de <i>Hyoscyamus niger</i> et l'acide ascorbique.....	32
Tableau 05 : valeur des IC ₅₀ des extraits étudiés et le BHT.....	34

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AGPI : acides gras polyinsaturés

BHT : Butyl-Hydroxy-Toluène

DO : densité optique

DP : degré de polymérisation

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

EC₅₀ : concentration d'extrait correspond à l'absorbance 0.5

FRAP: ferric reducing antioxidant power

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50% d'une activité

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

Rdt: Rendement

RL : Radicaux libres

Sommaire

Introduction général	1
-----------------------------------	---

1^{ère} partie : La synthèse bibliographique

Chapitre 01 : L'activité antioxydant

1. Le stress oxydant	2
2. Les radicaux libres	2
2.1. Les principaux radicaux libres	3
2.1.1. Les radicaux primaires	3
2.1.2. Les radicaux secondaires	3
2.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	3
2.3. Les rôles des radicaux libres	5
2.3.1. Rôle physiologique	5
2.3.2. Rôle pathologique	6
2.4. Cibles biologiques des radicaux libres	6
3. Moyens de défense contre les radicaux libres	7
3.1. Les antioxydants endogènes	8
3.2. Les antioxydants exogènes	8
3.3. Mécanisme d'action des antioxydants	11

Chapitre 02 : composés primaires et secondaires des végétaux

1. Introduction	12
2. Les métabolites primaires	12
2.1. Les acides aminés	12
2.2. Les glucides	13
2.3. Les lipides	13
3. Les métabolites secondaires	13
3.1. Les alcaloïdes	14
3.2. Les composés phénoliques	14
3.3. Les composés terpéniques	17

Chapitre 03 : présentation de la plante étudiée

1. Généralité sur la famille des solanacées	19
---	----

1.1.Description botanique	19
1.2.Morphologie des plantes de la famille solanacées	19
2. Généralité sur le genre <i>Hyoscyamus</i>	19
3. L'espèce <i>Hyoscyamus niger</i>	20
3.1.Noms vernaculaires	20
3.2.Description botanique	20
3.3.Classification phylogénétique	21
3.4.Répartition géographique	22
3.5.Utilisation traditionnelle	22
3.6.Composition chimique	22
3.7.Toxicité	23

2^{ème} partie : partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif	24
2. Matériel végétal.....	24
3. Préparation des extraits	25
3.1. Préparation de l'extrait hexanique	25
3.2. Préparation de l'extrait eau acétone	25
4. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits de <i>Hyoscyamus niger</i>	26
4.1. Détermination du pouvoir réducteur ferrique	26
a- Principe	26
b- Mode opératoire	27
4.2. Test de blanchissement β -carotène	28
a- Principe	28
b- Mode opératoire	28

Résultats et interprétations

1. Rendement des extraits de <i>Hyoscyamus niger</i>	30
2. Evaluation de l'activité antioxydante	31

Discussion 35

Conclusion

 38

Références bibliographiques

 39

Introduction Générale

Pendant des siècles, les plantes médicinales furent le principal recours de l'homme pour la fabrication de remèdes pharmaceutiques (**Hebi et Eddouks, 2015**). Les plantes médicinales sont définies comme des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, et est appelée aussi « drogue végétale » (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

De même il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutiques comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et en particulier antioxydants qui défendent contre le stress oxydant (**Ouelbani et al., 2016**).

Ce dernier est définie par un excès d'espèces chimiques très réactives appelées espèce réactives de l'oxygène (ERO), par rapport aux systèmes de défense antioxydante. Toutefois, lorsqu'un état de stress oxydant s'établit dans la cellule, les ERO en excès sont susceptibles d'attaquer les cibles cellulaires, ce qui a pour conséquence des dommages oxydatifs au niveau des lipides, des protéines, des acides nucléiques (**Bonnefont-Rousselot, 2014**), pouvant entraîner un grand nombre de pathologies graves dont la plupart apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (**Aref et Haded, 2014**).

Ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques en combattant le stress oxydant (**Meddour et al., 2013**).

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité antioxydante de deux extraits de la partie aérienne de la plante *Hyoscyamus niger*, qui est une plante herbacée appartenant à la famille des Solanacées et utilisée à des fins médicales depuis des milliers d'années.

Notre travail de recherche comporte deux parties, la première concerne la préparation de deux extraits hexanique et eau-acétone à partir de la partie aérienne de cette plante. La deuxième consiste l'évaluation, *in vitro*, du pouvoir antioxydant des extraits préparés en se basant sur le pouvoir réducteur du fer (FRAP) et l'inhibition de blanchiment du β -carotène.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 01 :
L'activité antioxydant

1. Le stress oxydant

L'environnement, le mode de vie ou les conditions physiologiques (**Durand, 2018**), peuvent conduire à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Si ces dernières ne sont pas neutralisées, elles pourront perturber les signaux cellulaires et endommager les tissus, provoquant ainsi des déséquilibres au niveau cellulaire (en particulier la balance oxydant/antioxydant), on parle alors de stress oxydant (**Suarez, 2018**). Ce dernier est défini quand il y a un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydant et antioxydant endogène ayant pour conséquence des dommages intracellulaires (**Thomas, 2016**).

Le stress oxydant constitue un terrain favorable au développement de diverses pathologies (**Defraigne et pincemail, 2008**) et représente le facteur déclenchant d'une variété de maladies graves, notamment celles liées au vieillissement comme le cancer, les pathologies oculaires, les maladies neurodégénératives (ataxie, athérosclérose, la maladie d'Alzheimer). Dans de nombreuses autres maladies, ce phénomène est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications (**Favier, 2006**).

2. Les radicaux libres

L'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés communément appelés les radicaux libres (RL) (**Chiha, 2016**).

Un radical libre est une espèce chimique pro-oxydante très réactive qui possède un ou plusieurs électron (s) non apparié (s) sur sa couche orbitale périphérique. Ce radical se retrouvant sous une forme instable va chercher à se stabiliser en captant un électron à partir d'une autre espèce chimique voisine telle qu'un lipide, une protéine ou un élément de l'ADN à l'origine de graves lésions cellulaires (**Matou, 2019**). Il a un fort degré de réactivité au sein des tissus, pouvant ainsi déclencher des réactions en chaînes souvent très rapides de l'ordre de 10^{-4} secondes (**Eddhima, 2019**).

La production des RL peut être d'origine exogène (irradiation gamma, UV, médicaments, xénobiotiques, toxines, polluants, ...), et endogène issue du métabolisme. La production des RL endogène résulte principalement de l'enzyme membranaire NADPH oxydase (NOX) et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (**Matou, 2019**).

1.1. Les principaux radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de faire distinguer 2 types de radicaux libres :

1.1.1. Les radicaux primaires

Un ensemble de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie qui dérivent de l'oxygène ou de l'azote par des réductions avec un électron (**Yoshikawa, 2000**) tels que l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le radical hydroxyle OH^{\cdot} , le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène, ne sont pas des radicaux libres, mais elles sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le nitroperoxyde $ONOO^{\cdot}$ et l'oxygène singulet 1O_2 (**Favier, 2003**).

1.1.2. Les radicaux secondaires

Ils sont issus de la réaction des radicaux primaires sur les biomolécules de la cellule comme les radicaux peroxydes RO_2^{\cdot} , les hydroperoxydes RO_2H , les radicaux alkoxydes RO^{\cdot} . L'ensemble de ces radicaux libres (primaires et secondaires) et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Favier, 2003**).

1.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO constituent une famille d'entités chimiques, regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante, et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron célibataire – non apparié). (**Eddhima, 2019**). L'ensemble de ces espèces sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 01: Les principales espèces réactives de l'oxygène

Les dérivés primaires de l'oxygène	
Les dérivés non radicalaires	
Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂	Est un oxydant puissant appelé aussi « le dioxyde dihydrogène » ou « l'eau oxygénée ». Il n'est pas une espèce radicalaire, et n'est pas chargé, ce qui le rend très lipophile et peut donc diffuser facilement à travers les membranes. Il agit plus loin de son lieu de production (Barouki, 2006).
L'oxygène singulet ¹O₂	Il est constitué d'un seul atome d'oxygène. Il est très instable (Wilson et Salamantian, 2003) et un puissant oxydant qui réagit avec de nombreux constituants cellulaires tels le cholestérol des membranes, phospholipides, les acides aminés, certaines bases nucléiques (guanine). Il est de très courte durée de vie (0.01-0.04µs) et forte réactivité, il réagit sur son lieu de formation dans la cellule (Thibaut, 2016).
Acide hypochlorique HOCl	Essentiellement produit par les myéloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure (Belkheiri, 2010) :
	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{Cl}^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{HOCl}$
Les dérivés radicalaires	
Superoxyde O₂^{•-}	C'est le résultat de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire. Ce radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant (Gardés – Albert et Jore, 2005).
	$\text{O}_2 + \text{e}^- \longrightarrow \text{O}_2^{\bullet-}$
Hydroxyle OH[•]	C'est le radical le plus dommageable du stress oxydant, en raison de leur extrême réactivité. La durée de vie de ce radical et la distance qu'il peut parcourir sont très faibles. Il est surtout régénéré à partir de l'eau oxygénée en présence de cations métalliques tels que Fe ²⁺ Selon la réaction de fenton (Gardés – Albert, 2003):
	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{OH}^{\bullet} + \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^-$
Hydroperoxyde HO₂[•]	Il est issu de la protonation du radical Superoxyde O ₂ ^{•-} en milieu acide (Hool, 2006). Sa réactivité biologique est très limitée car HO ₂ [•] n'est présent qu'en très faible quantité à pH physiologique (Oueslati, 2017).

Tableau 02: Les principales espèces réactives de l'azote

<i>Espèces réactives azotées</i>	
Les dérivés radicalaires	
Le monoxyde d'azote NO[•] ou l'oxyde nitrique	<p>Est un radical libre ubiquitaire, d'une demi-vie très courte (Laurent, 2011). Le NO porte un électron célibataire lui permettant de réagir avec de nombreux composés radicalaires comme l'O₂⁻ et de générer des Peroxynitrites (Bouchair, 2015).</p> <p>Il est également une molécule labile très diffusible, et un agent vasodilatateur. Il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases (NOs) sur la L-arginine selon la réaction suivante (Haleng et al., 2007 ; Belkheiri, 2010) :</p> $\text{L-arginine} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{NOs}} \text{L-Citruline} + \text{NO}$
Les dérivés non radicalaires	
Le dioxyde d'azote NO₂[•]	<p>Les oxydes d'azote apparaissent dans toutes les combustions de combustibles fossiles se déroulant à haute température, essentiellement par combinaison de l'azote (N₂) et de l'oxygène (O₂) de l'air. Les principaux émetteurs d'oxydes d'azote sont les moteurs thermiques (véhicules, centrales...). Le dioxyde d'azote a un impact sur la fonction respiratoire humaine (Meybeck et al., 2016).</p>
Peroxynitrite ONOO⁻	<p>Il résulte de la réaction d'O₂⁻ avec le monoxyde d'azote radicalaire NO[•]. Est un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Haleng et al., 2007 ; Migdal et Serres, 2011).</p>

1.3. Le rôle des RL

Le rôle des RL est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration (**Haleng, 2007**).

1.3.1. Rôle physiologique des ERO

La concentration des RL est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par divers composés et enzymes antioxydants (**Migdal et Serres, 2011**). Cet état d'équilibre est la condition clé pour maintenir la fonction cellulaire et tissulaire normale (**Afonso et al., 2007**).

Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire

des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (**Bal et al., 2011**). Elle joue aussi un rôle au cours du processus de fécondation dont les spermatozoïdes secrètent de grandes quantités d'EOR pour percer la paroi membranaires de l'ovule (**Haleng et al., 2007**).

1.3.2. Rôle pathologique des ERO

Les ERO sont de nature instable, ce qui les rend très réactifs vis-à-vis des substrats biologiques, et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies. La toxicité des radicaux libres est responsables de dégâts cellulaires importants via le déclenchement de cassures et de mutations au sein de l'ADN, l'inactivation de diverses enzymes, la modification des structures protéiques, l'oxydation des sucres et l'induction de peroxydation lipidique (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

1.4. Cibles biologiques des radicaux libres

La production excessive d'ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation des protéines, des lipides, des acides nucléiques, des glucides...) (**Oueslati, 2017**).

Les cibles majeures des radicaux libres sont montrées ci-dessous :

➤ Les lipides

Les lipides les plus réactifs avec les ERO sont les acides gras insaturés, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI) (**Oueslati, 2017**), tels que l'acide linoléique et l'acide arachidonique, présents notamment dans les membranes plasmiques. Leur oxydation par les ERO, appelée peroxydation lipidique (**Migdal et Serres, 2011**).

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires induit une cascade de peroxydation, entraînant une désorganisation complète de la membrane, modifiant ainsi ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Davies, 2000**).

➤ Les protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO peuvent avoir lieu sur la chaîne polypeptidiques et les chaînes latérales nucléophiles ou redox sensibles des acides aminés (**Therond, 2006**).

Tous les acides aminés sont des cibles potentielles pour les ERO; en particulier les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), basiques (arginine, histidine, lysine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) (**Migdal et Serres, 2011**).

Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus et par conséquent, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart de ces dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique) (**Haleng et al., 2007**).

➤ L'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO, Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les bases puriques et pyrimidiques, désoxyribose ou phosphodiester de l'ADN. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations du message génétique de la cellule : cassures chromosomiques, mutations, délétions, amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (**Hartmann et Niess, 2000 ; Eddhima, 2019**).

2. Moyens de défense contre les radicaux libres

Afin de limiter les effets délétères des radicaux libres, l'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production de ces éléments chimiques réactifs. Les molécules contrôlant cette production sont dites « antioxydants » (**Gauché et Hausswirth, 2018**).

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO. Ces antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable (**Daddouh, 2016**).

Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ERO, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (**Derai, 2016**).

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation et sont donc exogènes (**Oueslati, 2017**).

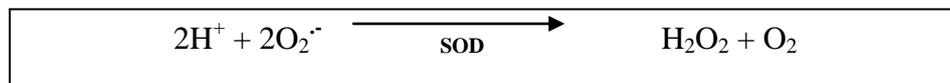
2.1. Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants élaborés par notre organisme à l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Labiod, 2016**).

Ce système est considéré comme la première ligne de défense ; il est constitué de la Superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion Peroxydase et la glutathion réductase (**Lone et al., 2013**). Ces enzymes ont besoin d'être mis en présence de minéraux issus des aliments pour être activés : fer pour la catalase, zinc et cuivre pour la Superoxyde dismutase, sélénium pour la glutathion peroxydase ce qui favorise directement les antioxydants apportés par l'alimentation (**Claudine, 2014**).

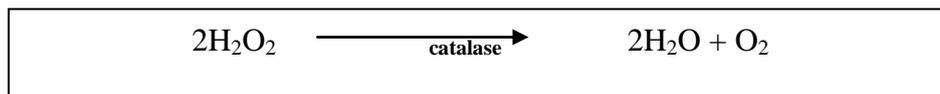
➤ **Le superoxyde dismutase (SOD)**

Est une métalloprotéine, qui représente une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurant l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (**Haleng et al., 2007**).



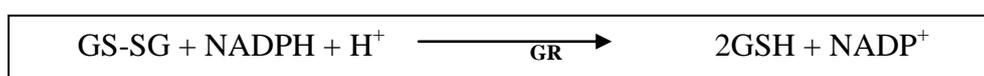
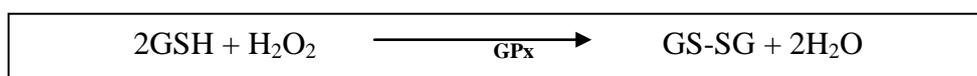
➤ **La catalase**

Est une enzyme intracellulaire localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 . Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie (**Oueslati, 2017**).



➤ **Le système glutathion peroxydase / glutathion réductase (GPx/GR)**

Est une enzyme formée de 4 sous unités contenant chacune un atome de sélénium. Elle est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (**Belkheiri, 2010**). La glutathion peroxydase permet d'éliminer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les hydroperoxydes (LOOH) par oxydation du glutathion en glutathion oxydé (GSSG). Le GSSG est réduit à nouveau en GSH par la glutathion réductase en utilisant le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotique phosphate) (**Berbak et al., 2018**).



Il existe aussi le système **antioxydant endogène non enzymatique** présents dans l'organisme humain comprennent le glutathion (un tri peptide à pouvoir réducteur), la bilirubine (un produit terminal de la dégradation de l'hème capable de piéger le peroxyde ROO^\bullet et l'oxygène singulet), l'acide urique (un produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'Homme, est un piègeur puissant de radicaux $^\bullet\text{OH}$, RO_2^\bullet , d'oxygène singulet et de NO_2^\bullet), le coenzyme Q10 (un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E) (Delattre *et al.*, 2005 ; Haleng *et al.*, 2007).

2.2. Les antioxydants exogènes

L'organisme possède une seconde ligne de défense appelée « les piègeurs de radicaux libres », qui sont des molécules exogènes apportées par l'alimentation capables de céder des protons ou des électrons (Djenidi, 2019) et agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (Daddouh, 2016 ; Djenidi, 2019). Ils sont capables d'éliminer les composés oxydatifs, ou de stopper les réactions d'oxydations en chaîne, mais avec une spécificité moindre (Birben *et al.*, 2012).

Les principaux antioxydants exogènes sont les suivants :

➤ La vitamine E (ou α – tocophérol)

La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ERO, soit en régulant à l'activité des enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase du foie... (Eddhima, 2019). Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO_2^\bullet qui propagent les chaînes de peroxydation (Hassan *et al.*, 2011).

La vitamine E n'est pas biosynthétisée. Elle est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. (Belkheiri, 2010).

➤ La vitamine C (ou l'acide ascorbique)

La vitamine C (ou acide ascorbique), est un antioxydant soluble dans l'eau, qu'on retrouve dans de nombreux végétaux. (Derai, 2016) C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra et extracellulaires (compartiments hydrophiles) (Oueslati, 2017).

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ERO (majoritairement l'O₂⁻ et le ONOO⁻). Elle est aussi capable de recycler l'α-tocophérol (la vitamine E) de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique (**Eddhima, 2019**).

➤ **Les polyphénols**

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux (**Achat, 2013**). Ce sont de puissants antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres et chélatent les métaux de transition comme Fe²⁺ (**Tsao, 2010**).

Les études épidémiologiques suggèrent que le pouvoir antioxydant de ces composés permet de lutter contre le vieillissement cellulaire et également contre l'athérosclérose (**Sriwichai, 2016**).

➤ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des composés liposolubles construits à partir d'unités isoprènes. Il s'agit de composés largement retrouvés dans le règne végétal, pour lesquels ils jouent un rôle de pigment (**Djenidi, 2019**). Les caroténoïdes sont apportés par la consommation de produits végétaux.

Chez les végétaux, les caroténoïdes sont retrouvés dans les tissus verts photosynthétiques, ils sont contenus dans les chloroplastes ou chromoplastes des cellules végétales sous forme de cristoalloïdes ou globules-tubulaires (**Schweiggert et al., 2012**).

L'activité antioxydante des caroténoïdes repose essentiellement sur le piégeage de l'anion superoxyde ou de radicaux peroxydes (**Djenidi, 2019**).

➤ **Les oligo-éléments**

Ils sont représentés par le zinc, le cuivre, le sélénium. Ils ne sont pas des antioxydants en tant que tel, car ils ne peuvent piéger les radicaux libres, mais ils jouent un rôle primordial comme Cofacteur de divers enzymes à activité antioxydant (**Haleng, 2007 ; Defraigne et Pincemail, 2008**).

2.3. Mécanisme d'action des antioxydants

La présence d'antioxydants peut d'abord conduire à une diminution de la formation d'ERO et de l'azote, et peuvent aussi capturer les espèces réactives ou leurs précurseurs. Certains antioxydants possèdent la capacité de se lier aux ions métalliques nécessaires à la catalyse de la formation des oxydants réactifs, et d'autres peuvent réparer les dommages causés par oxydation aux biomolécules ou influencer des enzymes qui catalysent les mécanismes de réparation (**Donald *et al.*, 2015**).

Chapitre 02 :

*Métabolites primaires et
Secondaires des végétaux*

1. Introduction

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (**Kouchlaa et al., 2017**). L'utilisation de ces plantes médicinales est une pratique ancestrale qui occupe une place majeure au niveau de la santé mondiale (**Togola et al., 2019**). C'est ce qu'on appelle la phytothérapie.

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies. Elle utilise les feuilles, les fleurs, les racines ou la plante entière. L'utilisation se fait par ingestion interne ou application externe sous la forme de tisanes, gélules, alcoolats, teintures, d'extraits (**Létard et al., 2015**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan (**Deramchia, 2018**), car les plantes présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin, 2001 ; Deramchia, 2018**).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des composés chimiques. Parmi ces derniers nous avons d'une part des composés appelés métabolites primaires (**Merghem, 2009**), qui sont des molécules organiques, se trouvant dans toutes les cellules de l'organisme végétal pour y assurer sa survie (**Nicolas et al., 2013**). D'autre part, les plantes synthétisent aussi une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires (**Merghem, 2009**) qui sont des molécules ayant une répartition limitée et ne participe pas directement aux processus de base de la cellule végétale (**Mansour, 2017**).

2. Les métabolites primaires

Ce sont des molécules organiques qui sont principalement produits par le métabolisme oxydatif (respiration, glycolyse, ...) et la photosynthèse (**Morot – Gaudry et al., 2017**).

Ils interviennent dans les mécanismes essentiels à la vie de la plante tels que la croissance, le développement, la reproduction. On y retrouve les acides aminés, les glucides, les lipides (**Delecolle, 2017**).

2.1. Les acides aminés

Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines (**Deramchia, 2018**). Il y a près de 300 acides aminés naturels chez les végétaux, mais seulement une vingtaine sont des constituants normaux des protéines (**Bell, 2003**). Ces protéines jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les agressions extérieures et les facteurs environnementaux (telle que la sécheresse) (**Ellis et al., 2010**)

2.2. Les glucides

Les glucides sont des polyalcools portant une fonction aldéhyde ou cétone. La plupart des glucides ont une formule chimique brute de type $(\text{CH}_2\text{O})_n$ avec $n \geq 3$. Les glucides constituent une classe de composés très hétérogènes en termes de masses moléculaires et de devenir métabolique. Les principales classifications prennent en compte le degré de polymérisation (DP) des molécules (DP 1 & 2 = sucres ; DP 3 – 9 = oligosides ; DP ≥ 10 = polysides) (**champ, 2018**). Ils sont synthétisés au cours de la photosynthèse à partir du dioxyde de carbone, de l'eau et de la lumière.

Les glucides ont plusieurs rôles essentiels pour les plantes. Ils participent à la structure de l'organisme, comme élément de soutien. On retrouve ainsi la cellulose, polymère de glucose constituant des parois végétales. Les glucides également sous la forme de polymères servent de réserves énergétiques, comme l'amidon (**Bruneton, 2009**).

2.3. Les lipides

Ce sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (liposoluble) et solubles dans les solvants organiques apolaires comme benzène, chloroforme, éther... Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou chaîne grasse (**Touitou, 2005**). Les lipides ont plusieurs fonctions essentielles pour la plante. Ce sont des substances de réserve et une source d'énergie. Ils jouent un rôle fondamental comme constituant des membranes cellulaires, et également un rôle de protection en formant les cutines et les cires (**Delecolle, 2017**).

3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont en effet des composés chimiques qui ne sont pas essentiels à la constitution des plantes mais que celles-ci peuvent produire dans certains cas en réponse à des stress (hydrique par exemple) ou à des agressions (insectes, micro-organismes, herbivores) ou lors de leur reproduction (**Guillaume et Macheboeuf, 2019**). Ils se trouvent dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Deramchia, 2018**).

Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogène ou mutagènes (**Epifano et al., 2007**).

Les métabolites secondaires sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure (**Deramchia, 2018**). On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux (**Mansour, 2017**) :

- Les alcaloïdes
- Les composés terpéniques
- Les composés phénoliques

a. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotées de faibles poids moléculaire et à caractère alcalin (**Deramchia, 2018**). Ils possèdent des structures hétérocycliques et se trouvent dans environ 20% de toutes les espèces de plantes (**Zhang et Björn, 2009**).

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis ils gagnent des lieux différents, et lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications.

Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les grains (**Krief, 2004**).

Ils présentent généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (**Vercauteren, 2012**). Ils possèdent de nombreuses propriétés pour la plante jouant un rôle de défense, et sont également utilisés en médecine et en pharmacie (**Djahra, 2015**).

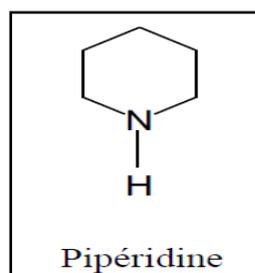
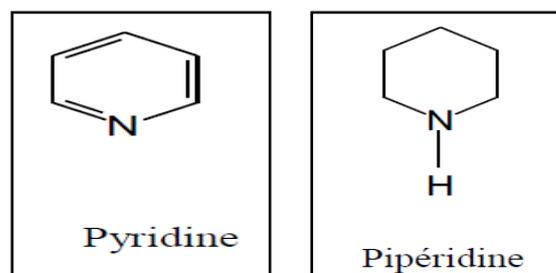


Figure 01: Structure de base des alcaloïdes

b. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent le groupe le plus répandu chez les végétaux et compte plus de 8000 structures (**Matou, 2019**). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (**Langlade, 2010**).

Ils sont caractérisés par leur structure de base constituée d'un cycle aromatique hydroxylé, le phénol. Lorsqu'ils comportent plus d'un noyau benzénique, ces composés sont qualifiés de polyphénols (El Gharras, 2009 ; Legrand, 2015).

Ils ont la particularité d'être les plus puissants antioxydants utilisés contre le stress oxydant dont le noyau phénol qui leur confère cette capacité redox (Bruneton, 2008; Dif *et al.*, 2016). En effet, leurs rôles d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, des maladies cardiovasculaires et des maladies neurodégénératives (Zekri, 2017).

Cette famille est classée en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient. On distingue les phénols simples, les flavonoïdes, les lignanes et les tanins (Boros, 2010).

➤ Les phénols simples ou acides phénoliques

Les acides phénoliques sont présents dans un certain nombre de plantes (Djenidi, 2019). Ils ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Mansour, 2017).

Les phénols simples sont des dérivés de l'acide benzoïque tels que l'acide gallique, ou de l'acide cinnamique tels que l'acide caféique (Krief, 2004).

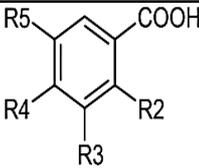
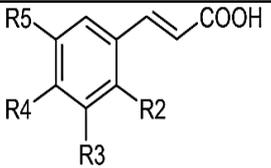
	R2	R3	R4	R5	
					
acides benzoïques					acides hydroxycinnamiques
acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H	acide p-coumarique
acide protocatéchique	H	OH	OH	H	acide caféique
acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H	acide férulique
acide gallique	H	OH	OH	OH	
acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	acide sinapique
acide salicylique	OH	H	H	H	
acide gentisique	OH	H	H	OH	

Figure 02 : Exemples d'acides phénoliques (Chira *et al.*, 2008)

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes (Eddhima, 2019). Ils représentent le principal groupe de polyphénols car ils sont les plus représentés dans l'alimentation humaine.

Ils sont constitués d'une structure commune de deux noyaux aromatiques liés par trois atomes de carbone qui forment un hétérocycle oxygéné (C6-C3-C6). D'après le profil de l'hydroxylation de l'hétérocycle oxygéné et la disposition des groupes hydroxyles, les flavonoïdes peuvent être divisés en quatre sous-groupes : les flavonols présents dans les oignons, le brocoli et le chocolat, les chalcones présents dans la pomme, les anthocyanines, que l'on trouve dans les fraises, le raisin et les flavones (Bensalem, 2018).

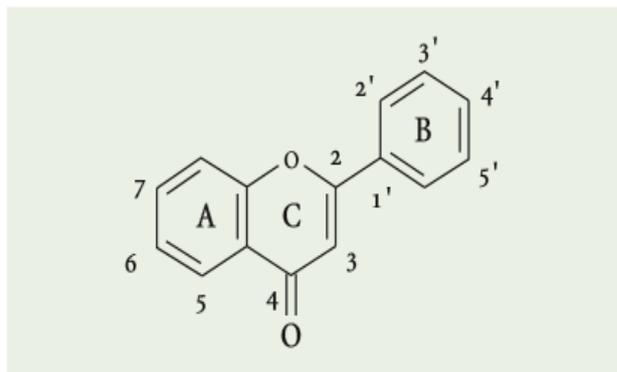


Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes (Nkhili, 2009)

Les flavonoïdes sont des puissants antioxydants et possèdent de nombreuses autres activités dont des propriétés antifongiques et antibactériennes (Ghedira, 2005).

➤ Les lignanes

Ce sont des phytonutriments largement distribués dans le règne végétal (El Gharass, 2009), sont principalement localisées dans les écorces, les tiges, les racines, et les graines (Renouard, 2011). Ils possèdent une structure de type (C6-C3)₂, composés dimères formés par le couplage de deux fragments monolignols (C6-C3) dérivés de la voie des phénylpropanoïdes (El Gharass, 2009).

Les lignanes sont trouvés dans l'huile d'olive et l'huile de sésame (Bensalem *et al.*, 2018).

➤ Les tanins

Ce sont des biopolymères polyphénoliques ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 5000 Da (**Mbakidi-Nagouabi, 2017**), capables de se lier aux protéines en solutions et de les précipiter. Il existe deux groupes principaux qui diffèrent par leur réactivité chimique et par leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Brunton, 2009 ; Legrand, 2015**).

Les tanins hydrolysables : ces tanins sont constitués de polymères de sucres (en général du D-glucose) et d'un nombre variable d'acides phénols. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique pour libérer une partie glucosidique, et une partie phénolique qui peut être soit l'acide gallique pour les gallotanins, ou l'acide ellagique pour les ellagitanins (**Brunton, 2009**).

Les tanins condensés : ces tanins ne possèdent pas de sucres, et ont une structure voisine des flavonoïdes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols ou flavan-3,4-diols. Ils sont difficilement hydrolysables (**Brunton, 2009 ; Legrand, 2015**).

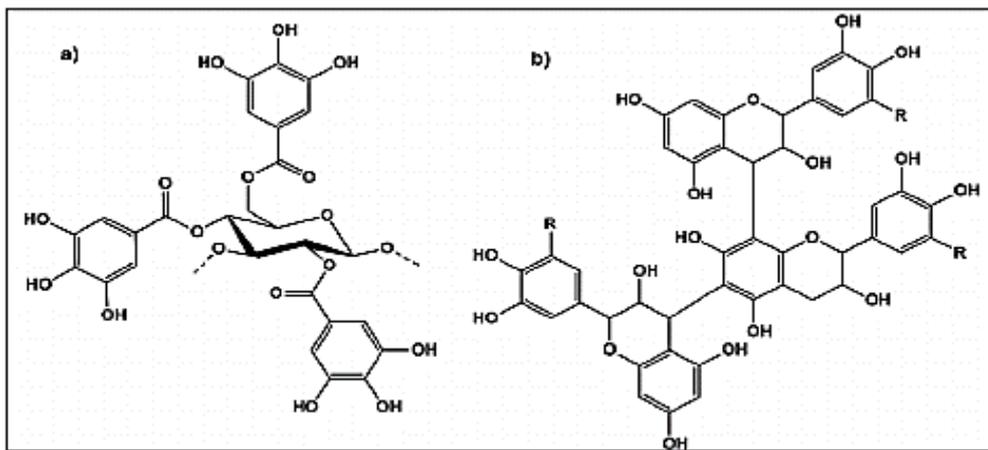


Figure 04 : structure de base des tanins (**Lochab et al., 2014**)

a) tanins hydrolysable, b) tanins condensés

c- Les composés terpéniques

Les terpènes constituent le plus grand ensemble des métabolites secondaires des végétaux, notamment les plantes supérieures (**Dehak, 2013**). Ils sont constitués d'unités isoprènes (C_5H_8) (**Mewalal et al., 2016**). En fonction du nombre d'unités d'isoprène, les

terpènes sont classés en plusieurs catégories : monoterpène (C10), sesquiterpène (C15), diterpène (C20), triterpène (C30) et tetraterpène (C40) (**Kirby et Keasling, 2009**).

Les terpènes jouent un rôle potentiel dans la défense des plantes contre les maladies fongiques (**Kaddes *et al.*, 2020**).

Chapitre 03 :
Présentation de la Plante
Étudiée

1. Généralités sur la famille des solanacées

1.1. Description botanique

La famille des solanacées est l'une des grandes familles du monde végétal (**Marchoux G. et al., 2008**), est une famille variée d'arbres, d'arbustes et d'herbes y compris, environ 106 genres et 2300 espèces sont actuellement reconnus (**Shah et al.,2013; Coelho,2017**), comprenant de nombreuses plantes toxiques et renfermant des drogues importantes (**jouzier, 2005**).

Plusieurs représentants de cette famille figurent parmi les végétaux les plus consommés : pomme de terre, tomate, aubergine, et tabac en particulier (**Goullé et al., 2004**).

Les plantes de cette famille sont bien connues comme une source naturelle des alcaloïdes tropaniques incluant le hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine (**Kartl M., Kurucu S. et Altun L., 2003**), et sont cultivés pour leurs vertus médicinales surtout en hémopathie (**Goullé et al., 2004**).

1.2. Morphologie des plantes de la famille des solanacées

Ce sont essentiellement des herbes à feuilles alternes, simples, à fleurs régulières. Les fruits sont des capsules renfermant de très nombreuses graines (**Hamliche, Merad, Azzouz, 2013**).

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

2. Généralités sur le genre *Hyoscyamus* (la jusquiame)

Ce genre comprend 15 espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces, vivant sur les talus, les falaises, les friches en Europe, en Afrique du nord et en Asie (**Goullé et al., 2004**).

Les jusquiames font partie des plantes toxiques les plus connus de la famille des solanacées (**Burrows et Tyrl, 2013**), mais elles présentent également une réserve importante de plantes médicinales.

Les espèces les plus étudiées sont *H.niger* ; *H.albus* et *H.multicus*, qui contiennent des principes actifs ainsi que des propriétés pharmacologiques similaires. Selon nombreuses pharmacopées, les molécules actives se concentrent essentiellement dans les parties aériennes des plantes fraîche ou séchées (**Baja, 2001**).

3. L'espèce *Hyoscyamus niger* (La jusquiame noire)

Hyoscyamus niger ou La jusquiame noire est une plante utilisée en médecine depuis plusieurs d'années. Il s'applique comme phytothérapie, mais peut induire une intoxication accidentellement ou intentionnellement (Alizadeh, 2014)



Figure 05: *Hyoscyamus niger* (Flesch, 2005)

3.1. Noms vernaculaires (Hammiche *et al.*, 2013)

En arabe : Bou narjuf, Bou rendjouf, Houbail, Sikran

En anglais : black Henbane

En français : Jusquiame noire, Mort aux poules, Herbe aux teigneux

3.2. Description botanique

Hyoscyamus niger est une plante herbacée (Flesch, 2005), annuelle (Hammiche *et al.*, 2013), à poils visqueux d'odeur forte distinctement désagréable (F. Flesch, 2005), et mesure de 0.6 à 1.20 m de l' hauteur (Goullé *et al.*, 2004).

La tige est robuste, dressée, creuse et subcylindrique. Elle peut être simple ou ramifiée (Gentiane Rey-Girau, 2018), et porte des feuilles vert grisâtre, molles, découpées en lobes

triangulaires aigus peuvent atteindre 20 cm de long. Elle porte au sommet des tiges des fleurs pubescentes, courtement pédonculées (Gentiane Rey-Girau, 2018), groupées d'un même côté en une courte grappe sur l'axe qui les porte, lui donnent l'aspect d'une queue de scorpion (Hammiche *et al.*, 2013). Ils ont 5 lobes, jaune pâle veinées de rouge en forme de clochettes (Iserin, 2001), mesurent de 1 à 3 cm de diamètre (Goullé *et al.*, 2004).

Le fruit est une capsule biloculaire rigide, appelé pyxide (Gentiane Rey-Girau, 2018) s'ouvrant par un petit opercule et renfermant plusieurs centaines de graines (Flesch, 2005) grises sombre très petites. (Goullé *et al.*, 2004 ; Jouzier, 2005). La racine est pivotante, velue, collante et dégage également une odeur forte (Goullé *et al.*, 2004).



Figure 06: feuille, fleur, pyxides, et graines de *Hyoscyamus niger* (Gentiane Rey-Girau, 2018)

3.3. Classification phylogénétique (Al-Snafi, 2018)

Règne	Plantae
Division	Tracheophyta
Sous division	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Hyoscyamus</i>
Espèce	<i>Hyoscyamus niger</i>

3.4. Répartition géographique

La jusquiame noire, originaire d'Asie, s'est répandue dans toute l'Europe, le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord, l'Asie centrale et occidentale. Elle pousse dans les décombres, les terrains vagues et préfère les sols sablonneux. En Algérie, bien qu'elle soit assez rare, on la trouve surtout en montagne. (**Hammiche et al., 2013**)

3.5. Utilisation traditionnelle

La jusquiame noire est utilisée à des fins médicales depuis des milliers d'années. Des textes babyloniens et des papyrus égyptiens mentionnent que cette plante, fumée, soulageait les rages de dents. Au premier siècle, la jusquiame a été recommandée contre l'insomnie, la toux, les règles trop abondantes, les ophtalmies, la goutte et diverses douleurs. Il conseille de la consommer au plus tard un an après la coupe. Au moyen âge, la jusquiame portait le nom latin de *dentaria*, un terme indiquant son usage contre les rages de dents. Elle est réputée pour son action légèrement psychotrope, et ainsi associée aux pratiques de sorcellerie (**Iserin, 2001**).

3.6. Composition chimique

En tant que membre de la famille des solanacées, la jusquiame noire est très riche en alcaloïdes à noyau tropane (alcaloïde tropaniques) (**Evans, 2002**) en particulier le Hyoscyamine et la scopolamine, qui sont présents dans toutes les parties de la plante, mais sont concentrées dans les graines et les racines (**Prance et Nesbitt, 2005 ; Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2006**). L'hyoscyamine est l'alcaloïde majoritaire mais le pourcentage de **scopolamine** est très important, représentant 25 à 40% du total (**Gentiane Rey-Girau, 2018**).

En plus de sa richesse en alcaloïdes, la jusquiame noire synthétise également des composés non alcaloïdes, y compris les stéroïdes de type withanolides, des ligandamides, des dérivés de la tyramine, les saponines, des glycosides, des lignanes, des coumarinolignanes et des flavonoïdes (**Li J. et al. 2011**).

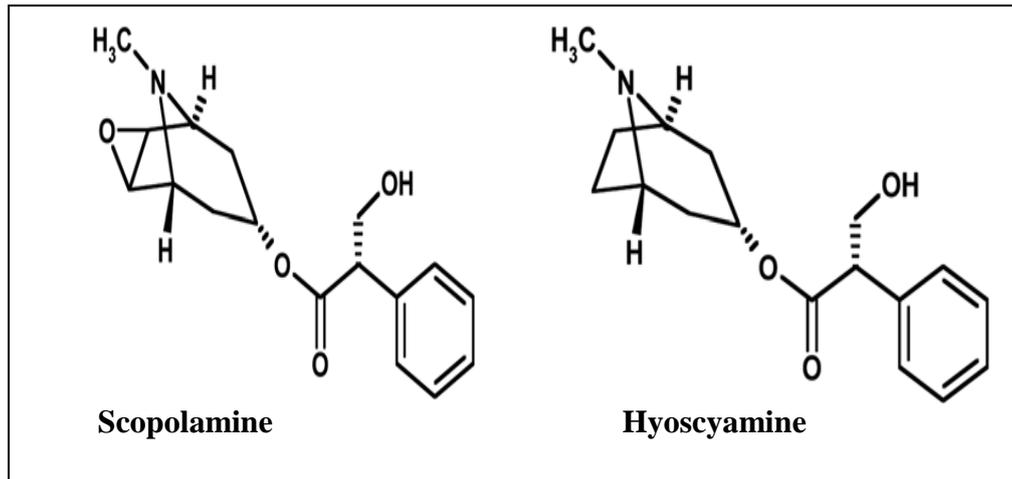


Figure 07: Structure chimique des alcaloïdes tropaniques de *Hyoscyamus niger*

(Hammiche *et al.*, 2013)

3.7. Toxicité

Hyoscyamus niger était une plante toxique en raison de sa teneur en alcaloïdes et il peut être mortel, toutes les parties de *Hyoscyamus niger* étaient toxiques, et la sécheresse ou l'ébullition ne pouvait pas détruire ses alcaloïdes.

En raison de la concentration élevée de scopolamine dans *Hyoscyamus niger*, l'ingestion d'une dose élevée entraîne une intoxication grave s'accompagne de hypertension, un arrêt respiratoire, coma et convulsions.

L'intoxication à *Hyoscyamus niger* peut induire une sécheresse de bouche, de la soif, une dysphagie, une peau chaude et rougeoyante, des nausées, des vomissements, des maux tête (Al-Snafi, 2018).

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hexanique et eau-acétonique de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger*, en utilisant les tests de réduction du fer (FRAP) et blanchissement du β -carotène.

2. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs) de *Hyoscyamus niger* (figure 05). Elle a été récoltée au mois de février 2020, à la commune de Ain-Fezza, willaya de Tlemcen.



Figure 08 : la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* (photo personnelle)

La plante a été séchée à l'ombre et à l'abri de l'humidité à température ambiante pendant quelques jours. Une fois séchée, elle a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre qu'on utilise pour préparer les extraits.

3. Préparation des extraits

3.1. Préparation de l'extrait hexanique (extraction par soxhlet)

Dix-huit gramme (18 g) de poudre de *Hyoscyamus niger* sont extraits avec 250 ml d'hexane en utilisant l'appareil soxhlet pendant 6-8h. Le contenu du ballon (solvant +matière solubilisées) est ensuite placé dans l'évaporateur rotatif à 60°C pour éliminer le solvant et obtenir l'extrait hexanique qui est conservé à 4°C.



Figure 09 : Extraction par l'appareil de soxhlet

3.2. Préparation de l'extrait eau-acétone (extraction par macération)

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.

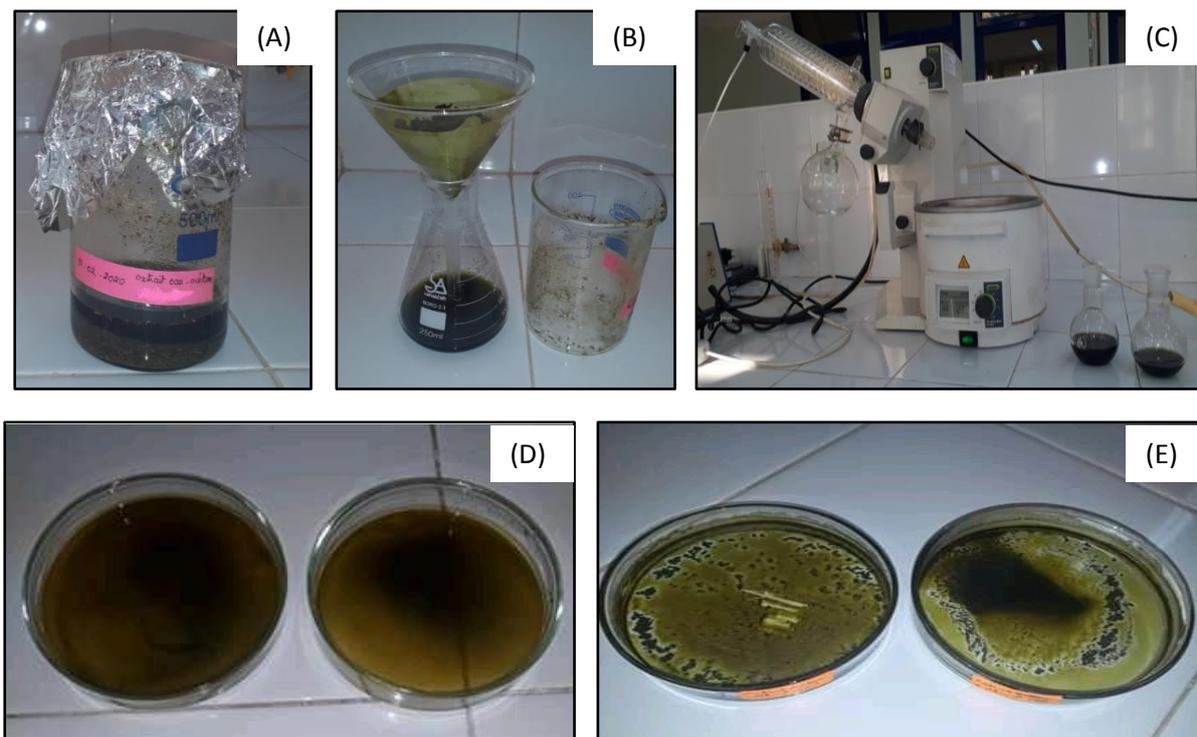


Figure 10 : les étapes de préparation de l'extrait eau-acétone

- (A) Macération, (B) Filtration, (C) Evaporation, (D) l'extrait après évaporation
(E) L'extrait après séchage dans l'étuve

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

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 / P_0) \times 100$$

Rdt (%) : Rendement en pourcentage

P₁ : poids de l'extrait sec après extraction

P₀ : poids de la poudre avant extraction.

4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Hyoscyamus niger*

L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes in vitro : FRAP, β-carotène.

4.1. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

a- principe de la méthode

Le test de FRAP évalue directement la présence des antioxydants dans différents échantillons (Khalil *et al.*, 2012).

Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydant.

(Karagozler *et al.*, 2008)

b- Mode opératoire

Le protocole utilisé est illustré dans la figure 11:

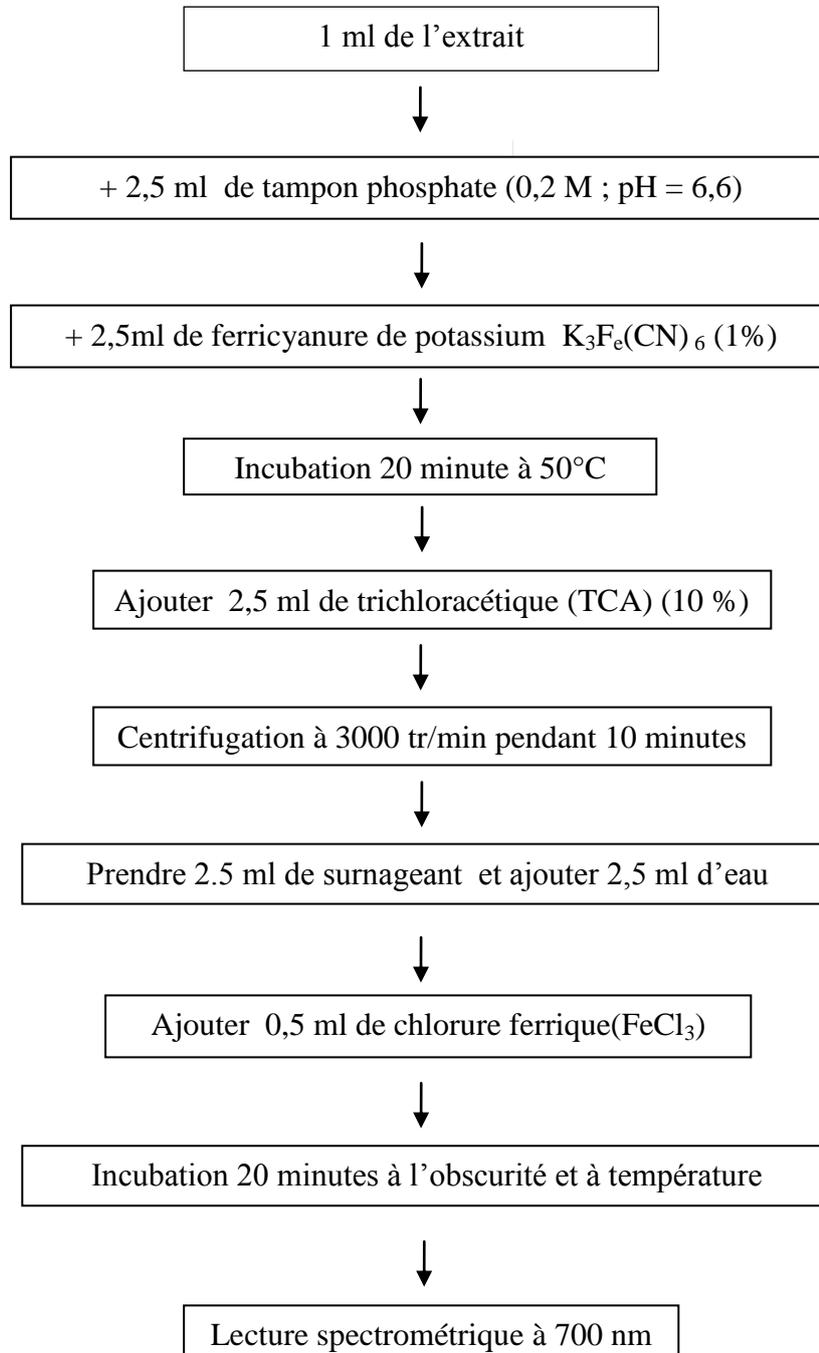


Figure 11 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur FRAP (Rohman *et al.*, 2010)

4.2. Test de blanchissement β -carotène

a- principe de la méthode

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Dans ce test la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (**Laguerre et al., 2007**).

b- mode opératoire

Une quantité de 2 mg de β -carotène est solubilisée dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans un bécher contenant préalablement 200 mg de Tween 40 et 20 mg d'acide linoléique. Cette solution est évaporée jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Après, un volume de 50 ml d'eau saturée en oxygène est ajouté.

Dans des tubes 2ml d'émulsion de β -carotène/acide linoléique sont additionnée à 100 μ l des solutions méthanoliques de l'extrait eau-acétonique, des solutions éthanolique de l'extrait hexanique ou de l'antioxydant de synthèse BHT à différentes concentrations. Les tubes sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à t = 120 min.

Le control négatif est constitué par 100 μ l d'éthanol au lieu de l'extrait où de l'antioxydant de synthèse. L'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à t = 0 min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène seulement pour le contrôle négatif. Tous les essais sont répétés trois fois.

L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β -carotène en employant la formule suivante :

$$\% = ((A_{A(120)} - A_{c(120)}) / (A_{c(0)} - A_{(120)})) \times 100$$

$A_{A(120)}$: représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

$A_{C(0)}$: représente l'absorbance du contrôle négatif à 120 min.

$A_{C(120)}$: représente l'absorbance du contrôle négatif à 0 min (**Koleva et al., 2002**)

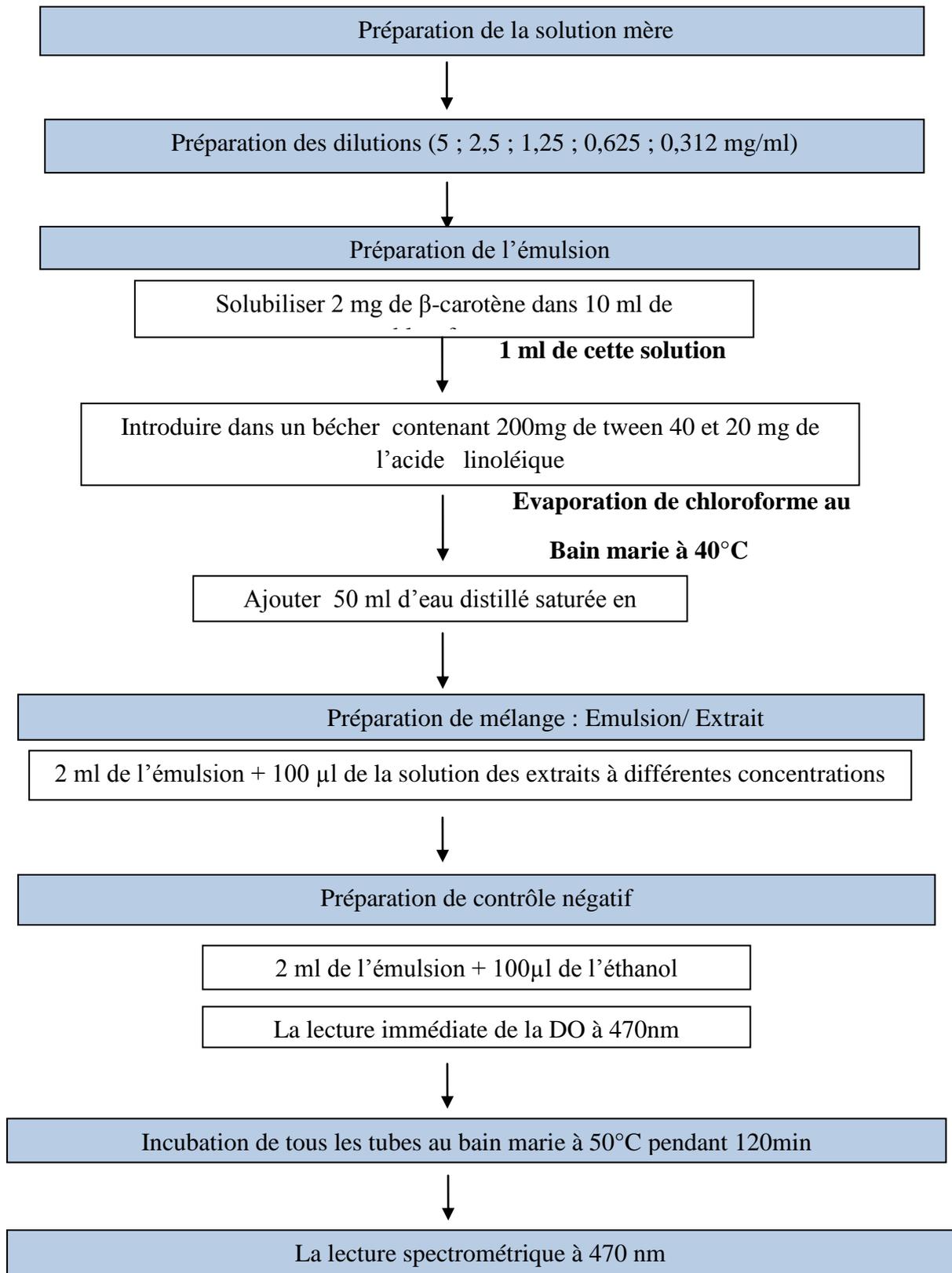


Figure 12: protocole d'évaluation de l'activité antioxydant par Test de blanchissement β -carotène.

Résultats et interprétations

1. Rendement des extraits de *Hyoscyamus niger*

La préparation des extraits de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* a été réalisée en utilisant la méthode d'extraction par Soxhlet pour l'extrait hexanique, et la méthode de macération pour l'extrait eau-acétone.

Les rendements obtenus ainsi que les caractéristiques de ces deux extraits sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger*

<i>Extraits</i>	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Rdt (%)</i>	<i>Solubilité</i>
Eau-acétone	Pâteux	Vert foncé	5,14	Méthanol
Hexanique			2,77	Ethanol

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits possèdent une couleur verte et sont récupérés sous forme de pâte avec des rendements variables. Le rendement d'extraction le plus important est observé pour l'extrait eau-acétone avec un pourcentage de 5,14 % suivi par l'extrait hexanique (2,77 %).

Concernant la solubilité, chacun de ces deux extraits est soluble dans un solvant différent de l'autre. L'extrait eau-acétone est soluble dans le méthanol alors que l'extrait hexanique est soluble dans l'éthanol.

2. Evaluation de l'activité antioxydante

2.1. Pouvoir réducteur du fer FRAP

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par la méthode de FRAP, qui est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

Les résultats obtenus sont explorés en traçant les graphes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées pour les deux extraits étudiés et la molécule de référence (l'acide ascorbique) (**figure 13**).

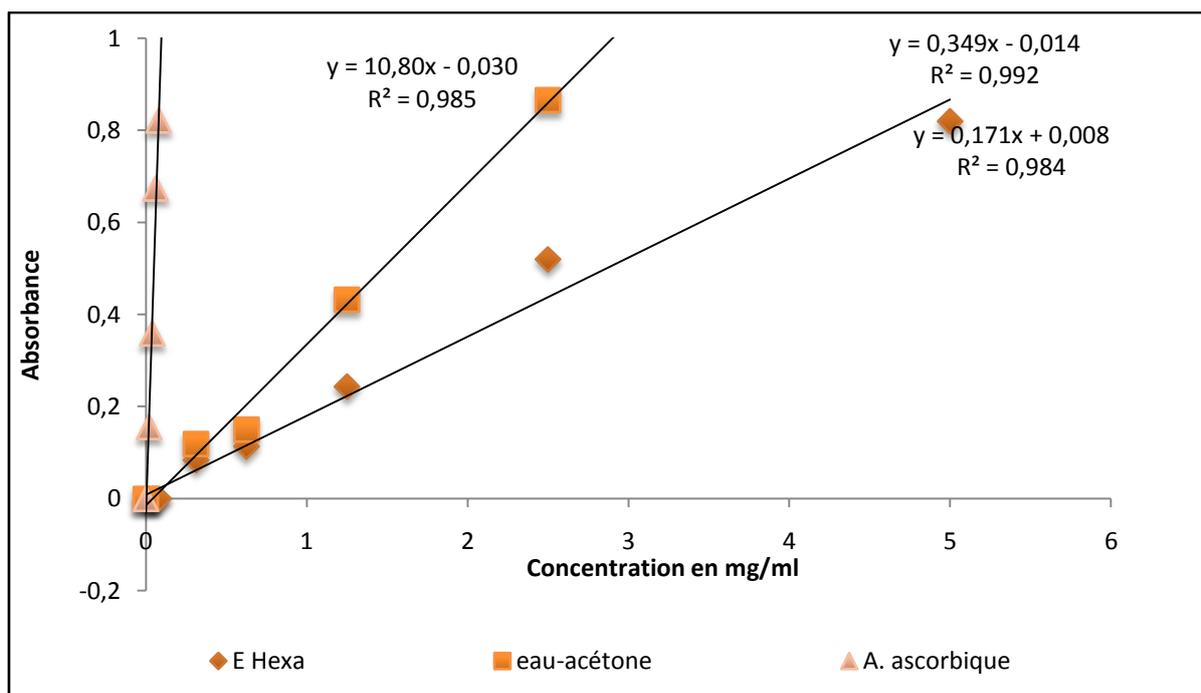


Figure 13: pouvoir réducteur du fer par les deux extraits de *Hyoscyamus niger* et l'acide ascorbique

D'après la figure 13 nous remarquons que l'augmentation du pouvoir réducteur est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits.

L'extrait eau-acétone présente un pouvoir réducteur considérable ($A=0,8$) comparé à l'extrait hexanique ($A=0,5$) à une concentration de 2,5 mg/ml, mais qui restent clairement inférieurs par rapport à l'acide ascorbique qui a donné la même densité optique (0,8) à une concentration de 0,08 mg/ml.

Donc, nous pouvons déduire que les deux extraits étudiés possèdent une capacité à réduire le fer, mais elle reste inférieure à celle de la molécule de référence.

Ces résultats sont confirmés par les valeurs d' EC_{50} qui présente la concentration qui correspond à une absorbance de (0,5). Cette concentration est calculée à partir de l'équation de la régression linéaire indiquée sur la figure précédente (figure 13).

Les valeurs sont montrées dans le tableau 4.

Tableau 4 : valeur des EC₅₀ des extraits de *Hyoscyamus niger* et l'acide ascorbique.

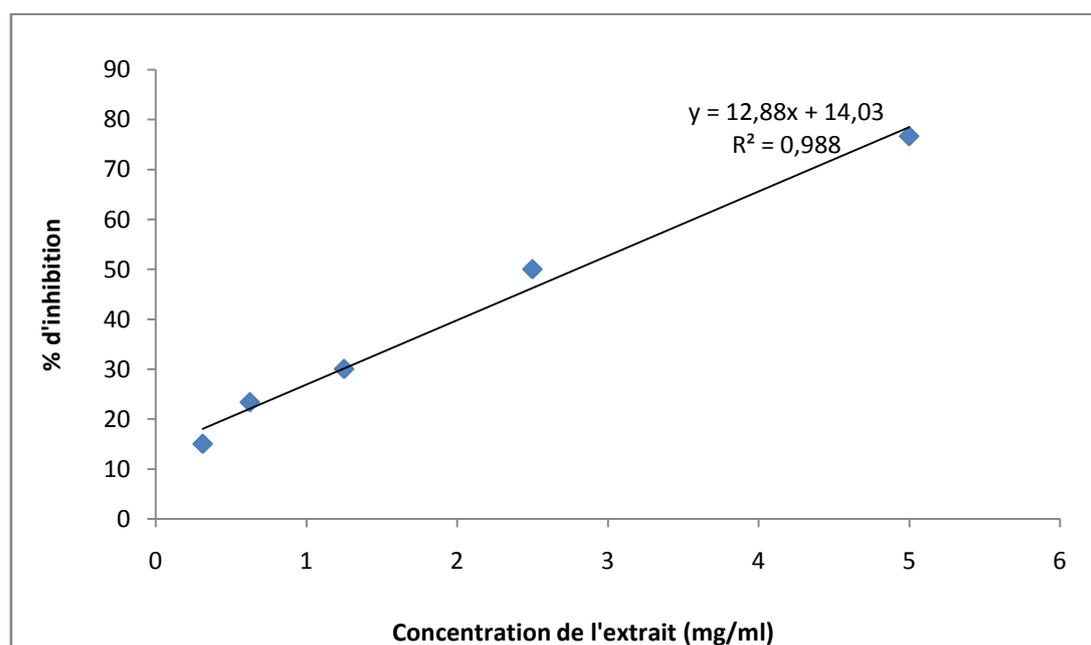
	Acide ascorbique	L'extrait eau-acétone	L'extrait hexanique
EC ₅₀ (mg/ml)	0,04	1,47	2,87

L'étude de l'activité réductrice du fer montré que l'acide ascorbique a l'EC₅₀ la plus faible (0,04 mg/ml), suivi par l'extrait eau-acétone (1,47 mg/ml).

Par contre, l'extrait hexanique présente la valeur d'EC₅₀ la plus élevée 2,87 mg/ml. Alors, cet extrait présente la faible activité. En ce qui concerne ce travail, l'extrait eau acétone montre un pouvoir réducteur meilleur que celui de l'extrait hexanique.

2.2. Test de blanchissement de β -carotène

Les figures ci-dessous regroupent les résultats obtenus après la réalisation du test d'inhibition de blanchissement de β -carotène.

**Figure 14:** Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait eau-acétone

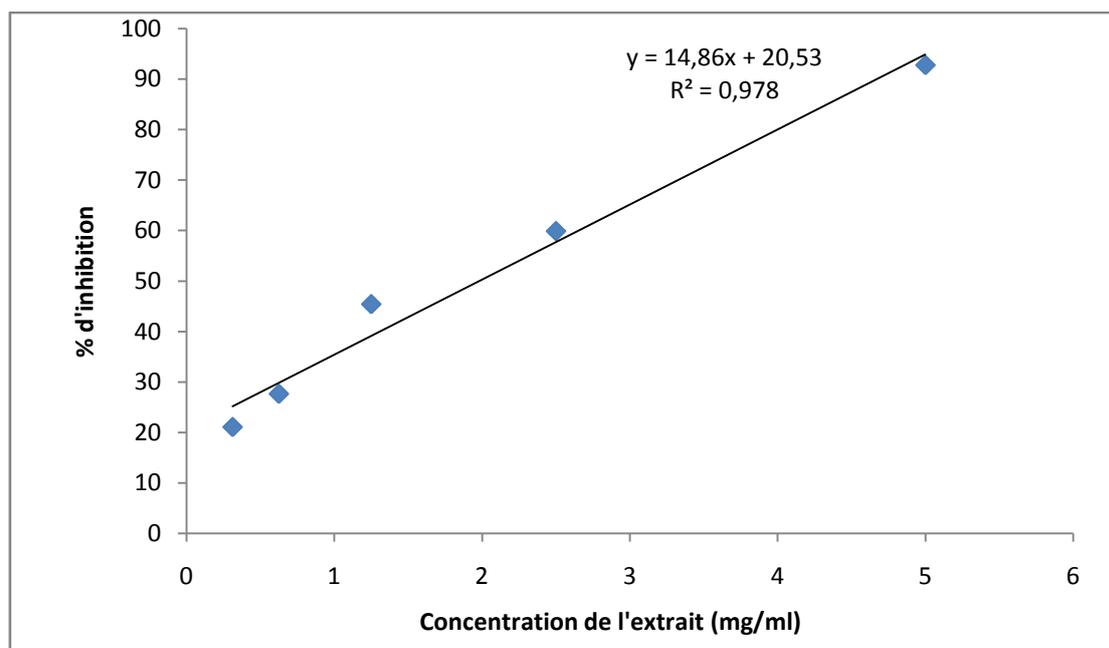


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait hexanique

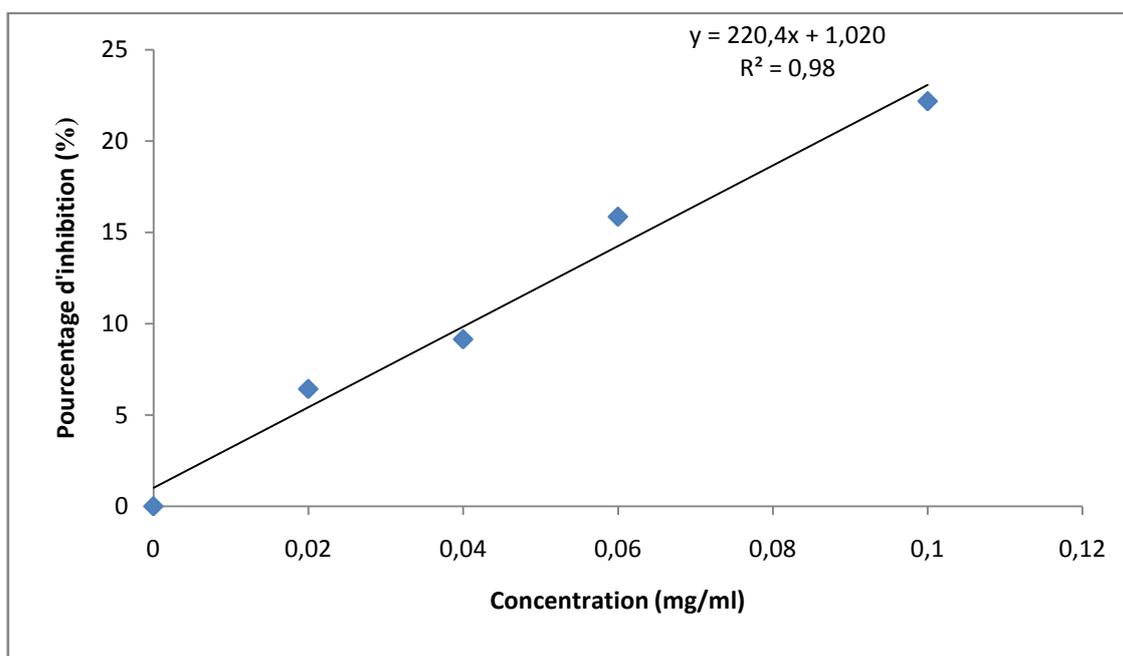


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène en fonction des différentes concentrations de BHT

Les figures 14, 15 et 16 montrent que le pourcentage d'inhibition du blanchissement de β -carotène est proportionnel à la concentration, ainsi que les deux extraits de la plante possèdent la capacité à inhiber le blanchissement de β -carotène.

À la concentration de 0,312 mg/ml, l'extrait hexanique atteint un pourcentage d'inhibition de 21 % ; à cette même concentration l'extrait eau-acétone présente un pourcentage faible par rapport au premier équivalent à 15%.

Une inhibition maximale de 91 % est exercée par l'extrait hexanique à une concentration 5 mg/ml, alors que l'extrait eau-acétone, à cette même concentration, a inhibé l'oxydation de 77 % de β -carotène.

Le BHT utilisé comme standard a montré une inhibition bien plus puissante que les extraits étudiés. Il cause une inhibition de 22 % à une concentration de 0,1 mg/ml.

Pour mieux interpréter l'activité antioxydante des extraits hexanique et eau-acétone de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* ainsi que le standard BHT, IC_{50} (concentration inhibitrice 50) est calculée. Cette dernière est définie comme la concentration d'extrait qui inhibe 50 % de blanchissement de β -carotène ; plus IC_{50} est faible plus l'antioxydant est puissant. Cette concentration est calculée à partir de l'équation de la régression linéaire indiquée sur les figures précédentes (14, 15, 16).

Tableau 5 : valeur des IC_{50} des extraits étudiés et le BHT.

	BHT	L'extrait hexanique	L'extrait eau-acétone
IC_{50} (mg/ml)	0,22	1,98	2,79

L'inhibition la plus élevée a été fournie par le BHT suivie par l'extrait hexanique et en dernier lieu l'extrait eau-acétone.

Discussion

Depuis des siècles, les plantes médicinales constituent une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés pour le traitement de diverses maladies (Mpiana *et al.*, 2009 ; Saloufou *et al.*, 2017) .

Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (tyihàk *et al.*, 2007).

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre travail qui est consacré à la recherche d'éventuels effet antioxydant des extraits, hexanique et eau-acétone de *Hyoscyamus niger*.

Dans un premier temps, l'extraction des composés actifs de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* a été faite par deux méthodes d'extraction solide-liquide : la macération et l'extraction à chaud en continu (extraction par soxlhet), pour obtenir deux extraits différents.

Nous avons d'une part l'extrait hexanique préparé par la méthode d'extraction par soxlhet. Cette dernière est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Grigonis, 2007). Le solvant d'extraction utilisé est l'hexane qui est un solvant organique apolaire dissolvant les principes dont la structure comporte surtout des chaînes ou groupements hydrophobes tels que les lipides, stérols, terpènes, cires, résine, et chlorophylle (Anton et Max Wichtl, 2003).

D'une autre part, nous avons l'extrait eau-acétone préparé par la macération qui représente la méthode la plus simple d'extraction solide-liquide. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante pour une durée déterminée (Handa, 2008).

L'eau-acétone est le mélange d'extraction utilisé pour la préparation de cet extrait. Ce sont des solvants polaires dissolvant les principes riches en groupements hydrophiles (Ben amor, 2008) comme les sucres, les protéines, les acides aminés, les polyphénols, et les alcaloïdes (Anton et Max Wichtl, 2003).

Selon les résultats obtenus, les deux extraits préparés donnent des rendements variables, dont le rendement d'extraction le plus important est observé pour l'extrait eau-acétone avec un pourcentage de (5,14%) suivi par l'extrait hexanique (2,77%).

D'après **Quy Diem Do et al., 2014**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique (dans notre cas l'acétone) peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et dans le solvant organique.

Dans notre cas, il semble que les substances solubles dans l'eau et l'acétone sont présentes en quantité importante est sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement de l'extrait eau-acétone par rapport à l'extrait hexanique.

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en évidence l'activité antioxydante des extraits, hexanique et eau-acétone de *Hyoscyamus niger* par deux méthodes : le test FRAP et le test de blanchissement de β -carotène.

Le test du pouvoir réducteur est basé sur la réaction d'oxydoréduction entre les composés présents dans l'extrait et l'ion métallique de transition (Fe^{3+}); les réductones réduisent les ions Fe^{3+} fournis par le ferricyanide à la forme ferrique (Fe^{2+}) (**Ouerghemmi et al., 2017**). Pour cette raison, nous avons déterminé la CE_{50} (EC_{50}) correspondant à la concentration de l'extrait à une absorbance égale à 0,5.

Les valeurs EC_{50} obtenus permettant de classer la capacité à réduire le fer par les extraits testés, dont l'extrait eau-acétone montre un pouvoir réducteur meilleur que celui de l'extrait hexanique ($\text{EC}_{50}= 2,87$), avec une $\text{EC}_{50}= 1,47$, mais elle reste plus faible que celle de l'acide ascorbique ($\text{EC}_{50}= 0,04$). Le pouvoir réducteur étant inversement proportionnel à la valeur de l' EC_{50} .

Le pouvoir réducteur des extraits étudié est probablement dû à la présence de groupement hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron (**Al-farsi et al., 2005**).

Hajipoor et al., 2015 ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* par deux méthodes DPPH (2,2-diphényl-1-picrylphdrazyl) et le test de réduction de fer (FRAP). Les résultats de ces tests ont montrés un meilleur pouvoir réducteur plus élevé par rapport à nos extraits avec une EC_{50} égale à 0,377 mg/ml pour le test FRAP, et d' IC_{50} égal à 0,00164 mg/ml pour le test DPPH.

Une autre étude réalisée par **Sharkawy et al., 2018** pour évaluer l'activité antioxydante par le test FRAP de l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus muticus* a révélé un pouvoir faible que notre extraits avec une $\text{EC}_{50}=12,74$ mg/ml.

Ouerghemmi et al., 2017, ont testé le pouvoir réducteur de l'extrait des graines de *Solanum sodomaeum* qui fait partie de la même famille que *Hyoscyamus niger* (la famille Solanacée). Les résultats ont montrés une activité moins faible que notre extrait eau-acétone avec une $\text{EC}_{50}=1,69$ mg/ml.

Un autre travail a été réalisé par **Güneş et al., 2014**, qui ont examiné la capacité antioxydante des extraits hexanique et aqueux de *Hyoscyamus reticulatus* par la méthode de FRAP et les résultats ont révélé que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante plus élevée que l'extrait hexanique.

Concernant le test de blanchissement de β -carotène, dans ce test la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de hydroperoxydes résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. Le β -carotène subit d'une décoloration rapide en absence d'un antioxydant, cependant la présence d'un antioxydant minimise son oxydation. Ce test mesure le potentiel des composés de la plante pour inhiber la formation d'hydroperoxydes durant l'oxydation de l'acide linoléique (**Kadri et al., 2011**).

Les résultats obtenus lors de ce travail ont révélé que l'extrait hexanique présente un meilleur pourcentage d'inhibition maximale (91%) comparé à l'extrait eau-acétone (77%).

Une étude a été réalisée par **Souri et al., 2004** pour examiner le potentiel de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus niger* à inhiber la peroxydation de l'acide linoléique, la valeur d'IC₅₀ trouvée est de 0,00064 mg/ml qui révèle une inhibition beaucoup plus importante comparée à celle de nos extraits.

Benhouda et al., 2014, ont étudié l'effet antioxydant de l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus albus* en utilisant le test de blanchissement de β -carotène. Les résultats ont montré une activité inhibitrice faible par rapport à l'activité exercée par nos extraits avec un pourcentage d'inhibition maximale de 76 % à une concentration de 0.1 mg/ml.

A la fin, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Hyoscyamus niger* présente une activité antioxydante remarquable et qui peut être due à différentes molécules présentes dans les extraits testés.

Conclusion Générale

Le travail présent a pour objectif d'évaluer les capacités antioxydantes de la partie aérienne de *Hyoscyamus niger* plante de la famille des solanacées, utilisée à des fins thérapeutique depuis des milliers d'années.

Deux extraits sont préparés à partir de la partie aérienne, l'hexanique avec un rendement de 2.77% et eau-acétone dont le rendement est de 5.14 %.

L'activité antioxydante a été examinée par deux méthodes : la réduction de fer et blanchissement de β -carotène dont les résultats obtenus pour les deux méthodes révèlent que l'activité antioxydante des deux extraits de la plante est concentration dépendante.

Les résultats du test FRAP montrent que l'extrait eau-acétone présent un pouvoir réducteur plus important ($EC_{50}= 1.47$ mg/ml) comparé à l'extrait hexanique ($EC_{50}= 2.87$ mg/ml). Alors que le test de blanchissement de β -carotène révèle que l'extrait hexanique ($IC_{50}= 1.98$ mg/ml) possède la meilleure d'inhibition par rapport à l'extrait eau-acétone ($IC_{50}= 2.79$ mg/ml).

A la lumière de ces résultats, de nombreuses perspectives peuvent être proposées :

- ✚ Utilisation d'autre technique d'extraction avec des solvants à polarités différentes.
- ✚ Réalisation d'autres tests pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant de cette plante.
- ✚ Séparation et identification des principes actifs présents dans les extraits préparés à partir de la plante par des nouvelles techniques tels que les techniques chromatographiques et spectrométriques.
- ✚ Identification de la partie (feuilles, tige, fleurs, graines, ou racines) qui présente une meilleure activité antioxydante.
- ✚ L'activité biologique des alcaloïdes tropaniques.

*Références
Bibliographiques*

- **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutase : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74, 636-643.
- **Al-Snafi, AE (2018).** Importance thérapeutique des espèces de *Hyoscyamus* cultivées en Irak (*Hyoscyamus albus*, *Hyoscyamus niger* et *Hyoscyamus reticulatus*) –une revue. *IOSR journal of pharmacy*, 8(6), 18-32.
- **Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Barron M, Shahidi F. (2005).** Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *J. Agric. Food Chem*, 53, 7592-7599
- **Alizadeh A, Moshiri M, Alizadeh J, Balali-Mood M. (2014).** Black henbane and its toxicity – a descriptive review. *Avicenna J Phytomed. Epub ahead of print.*
- **Anton, Max Wichtl R. (2003).** Plantes thérapeutiques, Tradition, Pratique officinale, Science et Thérapeutique. *Ed Tec et Doc*, 32-33.
- **Aref, M., Heded, M. (2014).** Contribution À L'étude Phytochimique, Les Activités Biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) D'une Plante Médicinale *Cleome Arabica* L (Région D'oued Souf). Mémoire De Master En Biochimie Appliquée, Université ECHAHID HAMMA LAKHDAR -El Oued.
- **Baja, Y. P. S. (2001).** *Transgenic Crops III*: Springer.
- **Bal, W., Protas, A.M., Kasprzak, K.S. (2011).** Genotoxicity of metal ions: chemical insights. *Met. Ions Life. Sci*, 8, 319–373.
- **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22, 266-72.
- **Belkheiri, N. (2010).** Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat en Chimie-Biologie-Santé, Université TOULOUSE III - Paul Sabatier.
- **Bell, E.A. (2003).** Nonprotein amino acids of plants: significance in medicine, nutrition, and agriculture. *Journal of agricultural and Food chemistry*, 51(10), 2854-2865.

- **Ben amor, B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC). (thèse en génie des procédés industriels), Université de la Rochelle.
- **Benhouda A, Yahia M, Benhouda D, Bousnane NE, Benbia S, Hannachi NE & Ghecham A. (2014).** Antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of *Hyoscyamus albus* L. and *Umbilicus rupestris* L. leaves. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(1), 4-17.
- **Bensalem, J., Lafenetre, P., & Pallet, V. (2018).** Polyphénols extraits de petits fruits et déclin cognitif lié à l'âge : résultats de l'étude Neurophenols.
- **Berbak, S., Haddad, N., Lanseur, Z., Theibot, P., Curis, E., Desaulle, D & Lerouet, D. (2018).** Evaluation du stress oxydant après une ischémie cérébrale chez le rat.
- **Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5(1), 9-19.
- **Bonnefont-Rousselot, D. (2014).** Obésité et stress oxydant. *obésité*, 9(1), 8-13.
- **Bouchair, F. (2015).** Modélisation de nouveaux inhibiteurs sélectifs de l'oxyde nitrique Synthase. (chimie théorique), Université MANTOURI de constantine.
- **Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felingera, A. (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*.1217, 7972–7980.
- **Bruneton J. (2008).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier Tech & Doc.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- **Burrows, G. E., & Tyrl, R. J. (2013).** Toxic Plants of North America: Wiley Blackwell.
- **Champ, M. (2018).** Les glucides : classification et dénomination diverses. *Médecine des maladies métaboliques*, 12(5), 400-404.

- **Chiha, F. (2016).** Stress oxydant : influence d'une complémentation nutritionnelle en antioxydants et adaptation à l'exercice physique. *Revue sciences humaines*, Vol B, 52-63.
- **Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C., & Teissédre, P.L. (2008).** Les polyphénols du rasin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- **Claudine, R. (2014).** Alimentation santé Alimentation plaisir une question d'équilibre: Alimentation plaisir une question d'équilibre, Fernand Lanore, France.
- **Coelho, C.P., Gomes, D.C., Guilherme, F.A.G., Souza., L.F. (2017).** Reproductive Biology Of Endemic *Solanum Melissarum* Bohs (Solanaceae) And Updating Of Its Current Geographic Distribution As The Basis For Its Conservation In The Brazilian Cerrado. *Braz. J. Biol*, 77(4), 809-819.
- **Daddouh, F. (2016).** L'effet combiné de la vitamine C (acide ascorbique) et de la vitamine E (α -tocophérol) contre la toxicité du nickel chez les souris (*Mus musculus*). (thèse de biologie), Université BADJI-MOKHTAR, Annaba.
- **Davies, K.J.2000.** Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50, 279–89.
- **Dehak, K. (2013).** Méthodes d'extractions et de séparation des substances naturelles (Doctorat de chimie : Analyse physiochimiques et réactivité des espèces moléculaires), Université KASDI MERBAH Ouargla.
- **Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux Libres Et Stress Oxydant (Aspects Biologiques Et Pathologiques). Tac & Doc.
- **Defraigne, J.O., & pincemail, J. (2008).** stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- **Delecolle, J. (2017).** Approche metabolomique pour une caractérisation plus fine d'extraits de plante d'intérêt pour la santé humaine. (Thèse en biologie), Université de Strasbourg.
- **Derai, E. (2016).** Effet de la combinaison de la vitamine C et la vitamine E sur le métabolisme et la distribution du zinc chez des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc. (thèse de Biochimie Appliquée), Université BADJI MOKHTAR –Annaba.

- **Deramchia, N. (2018).** Activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extraits brutes de *Tymelaea Hirsuta*. (Thèse de doctorat en science), Université ABDELHAMID IBN BADIS de Mostaghanem.
- **Dif, M. M., Benyahia, M., Benali, F. T., Rahmani, M., & Bouazza, S. (2016).** Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. *Phytothérapie*, 1-6.
- **Djahra A-B. (2015).** Cours phytochimie. Université El oued.
- **Djenidi, H. (2019).** Activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale consommée dans les régions de Biskra et Stif (Doctoral dissertation).
- **Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.
- **Donald, M.W, Douglas, A. Skoog, (2015).** Chimie analytique. De Boeck Supérieur, 522.
- **Durand, K. (2018).** Diabètes et stress oxydant.
- **Eddhima, Z. (2019).** Les radicaux libres : Effets, Mécanisme et Approches thérapeutiques. (Thèse de médecine), Université MOHAMMED V de Rabate.
- **El Gharras, H. (2009).** Polyphenols : food sources, properties and applications - a review. *International Journal of food science & Technology*, 44(12), 2512-2518.
- **Ellis, M., Egelund, J., Schultz, C. J., et Bacic, A. (2010).** Arabinogalactan-proteins: key regulators at the cell surface. *Plant physiology*, 153(2), 403–419.
- **Elsharkawy E. R., Abdelaziz E., Abdallah E. M. & Ahmed M. H. Ali, 2018.** Antioxidant, antimicrobial and antifeedant activity of phenolic compounds accumulated in *Hyoscyamus muticus l.* 17(10), 311- 321.
- **Epifano, F., Genovese, s., Menghini, L., & Curini, M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68 : 939-953.
- **Evans, W. C. (2002).** *Pharmacognosy* (16 ed.): saunders Elsevier.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.

- **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *In Annales pharmaceutiques francaises.* 64(6), 390-396. Elsevier Masson.
- **Flesch, F. (2005).** Intoxications d'origine végétale-Plant poisoning. 532–546 , Elsevier.
- **Gardès-Albert, M., Bennefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- **Gardès-Albert, M., Jore, D. (2005).** « Aspects physiochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène ». Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, 1-23.
- **Gauché, E., Hausswirth, C. (2006).** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice.
- **Gazengel, J.M., Orecchioni. A.M. (2013).** Le préparateur pharmacie. ISBN 978-2-7430-1371-4, 1255. Lavoisier, paris.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169.
- **Goullé, J. P., Pépin, G., Dumestre-Toulet, V., & Lacroix, C. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *In Annales de toxicologie analytique* ,16(1), 22-35).EDP Sciences.
- **Grigonis, P.R., Venskutonis, B., Sivik, M., Sandahl,D. et Eskilsson, C.S. (2005).** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloëodorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3), 223-233.
- **Guillaume, S., & Macheboeuf, D. (2019).** Extraction de composés phénoliques végétaux susceptibles de limiter les émissions de méthane chez les ruminants. *In Extraction et Gestion des connaissances.*
- **Güneş E, Zengin G, Uysal A, Aktümsek A & Durak Y. (2014).** A study on antioxidant and antimicrobial properties of hexane and water extracts from *Hyoscyamus reticulatus*. *SUFEFD*, 39, 21-29.
- **Hajipoor K, Sani AM and Mohammad A. (2015).** *In vitro* antioxidant activity and phenolic profile of *Hyoscyamus niger*. *IJBPAS*, 4(7), 4882-4890.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.

- **Hammiche V, Merad R et Azzouz M. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. ISBN: 978-2-8178-0374-6 © Springer-Verlag Paris.
- **Handa, S.S. (2008).** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologies, for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy , 21-54.
- **Hartmann, A., Niess, A.M. 2000.** Oxidative DNA damage in exercise. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Amsterdam: Elsevier. p. 195–217.
- **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 2831-2846.
- **Hassan, S., Bilal, N., Naqvi, S., Md Ashraf, G., Souhail, N., Sharma, S., Banu, N (2011).** Multivitamin-mineral and vitamins (E + C) supplementation modulate chronic unpredictable stress-induced oxidative damage in brain and heart of mice. *Biol. Trace. Elem. Res*, 142(3), 589-97.
- **Hebi, M., Eddouks, M. 2015.** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. Lavoisier SAS.
- **Herzi, N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation, INPT).
- **Hool. L.C. (2006).** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, 33, 146-151.
- **Iserin, P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse 10-335.
- **Kaddes, A., Marie-Laure Fauconnier, Sassi, K., Berhal, A., Nasraoui, B., M. Haïssam Jijakli, M. (2020).** Efficacité des Composés Organiques Volatils fongiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 24, 81-98.
- **Kadri A., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak1M., Gdoura R.(2011).** Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 10(19), 3908-3914.
- **Karagozler A., Erdag B., Calmaz Emek Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chem*, 111, 400-407.

- **Kartl M, Kurucu S & Altun L. (2003).** Quantitative analysis of 1-Hyoscyamine in *Hyoscyamus reticulates* L. by GC-MS. *Turk Journal of Chemistry.* 27, 565-569.
- **Khalil M.I., Moniruz zaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam MA., Islam MN., Sulaiman SA., Gan SH. (2012).** Physico-chemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 17, 11199–11215.
- **Kirby, J. and Keasling, J.D. (2009).** Biosynthesis of plant isoprenoids: perspectives for microbial engineering. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 60, 335-355.
- **Koleva, I. I., van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., & Evstatieva, L. N. (2002).** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical analysis*, 13(1), 8-17.
- **Kouchlaa, A., Talbaoui, A., El drissi, A.E.Y., Bouyahya, A., Lahser, S. A., Kahouadji, A., & Tijane, M. (2017).** Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytiques invitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 1-6.
- **Krief, S. (2004).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pantroglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. (Doctoral dissertation).
- **Labioud, R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. (Thèse de doctorat en biochimie appliquée), Université d'Annaba, 29-30.
- **Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. (2007).** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progression in Lipid Research*, 46 (5), 244- 82.
- **Langlade, V. (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica dioica* L. (Thèse de docteur en pharmacie) , Université de Nantes , France.
- **Laurent, B. (2011).** Rôle de la Synthase inductible du monoxyde d'azote dans les maladies proinflammatoires et la résistance à l'insuline associée à l'obésité. Paris-Est Créteil ,121.
- **Legrand, G. (2015).** Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée : approches biochimique et moléculaire. Lille 1.

- **Létard, J.C., Costil, V., & Dalbiès, P. (2015).** Phytothérapie-principes généraux. *HEGEL*.
- **Li, J., Shi, J., Yu, X. W., & Sun JK, Q. M. (2011).** Chemical and pharmacological researches On *Hyoscyamus niger*. *Chinese Herb Med*, 3, 117-126.
- **Lohab, B., Shukla, S., & Varna, I. K. (2014).** Naturally occurring phenolic sources: monomers and polymers. *Rsc Advances*, 4(42), 21712-21752.
- **Lone AA., Shaiq A., Ganai SA., Ahanger R A ., Bhat HA ., Bhat T A ., Wani IA. (2013).** Free radicals and antioxidants : Myths, facts and mysteries. *Afr. J. Pure. Appl. Chem*, 7, 91-113.
- **Matou, M. (2019).** Composition et propriétés biologiques d'extrait de *Phyllanthus amarus* Sehumacher et thonnonng (1827) utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles. (Thèse de doctorat en Aspect moléculaire et cellulaire de la biologie), Université des Antilles, Guadeloupe.
- **Marchoux G, Gognalons P et Gébré sélassié K. (2008).** Virus des solanacées Du génome viral à la protection des cultures. *ÉDITIONS QUAE*. 846.
- **Mbakidi-Ngouaby, H. (2017).** Métabolites de pseudotsuga menziesii : approche métabolomique et role dans la résistance (Doctoral dissertation).
- **Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A. (2013).** Étude De L'activité Antioxydante Et Antibactérienne Des Extraits D'un Ensemble Des Parties De La Fleur Du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal*, 14, 49-60.
- **Medjdoub, H. (2013).** Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* coss. (thèse de biologie), université ABOU BEKR BELKAID.
- **Merghem, R. (2009).** Eléments De Biochimie Végétales. Paris: Lavoisier, 23 – 158.
- **Mewalal, R., Rai, D.K., Kainer, D., Chen, F., Külheim, C., Peter, G.F. and Tuskan, G.A. (2016).** Plant-derived terpenes: A feedstock for specialty biofuels. *Trends Biotechnol*.
- **Meybeck, M., Della massa, j. P., Simon, V., Grasset, E., & Torres, L. (2016).** Etude de la distribution atmosphérique de composés organiques volatils aromatiques: benzène, toluène, xylènes (BTX) et du dioxyde d'azote sur l'agglomération toulousaine. 2268-3798.

- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **Morot-Gaudry, J.-F., Moreau, F., Prat, R., Maurel, C., et Sentenac, H. (2017).** *Biologie végétale : Nutrition et métabolisme - 3e éd.* Dunod
- **Mpiana PT, Balanganayi EK, Kanangila AB, Kalonda EM, Ngbolua KN, Tshibangu DST, Atibu EK, Lumbu JBS. 2009.** Activité antidrépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 3(3), 551-560.
- **Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2006.** Dictionary of Chinese Materia Medica. Book 1. *Shanghai Scientific and Technical Publishers*, Shanghai, 322.
- **Nicolas, S., Paul, André, C., Denis, T., Frédéric, M. (2013).** Interactions-plantes, Ed.Quae, France, 218.
- **Nkhili, Z. (2009).** *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant.* (Thèse en co-tutelle), Université d'Avignon et des pays de vaucluse.
- **Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., Douadi, K. (2016).** Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*.
- **Ouerghemmi I., Bettaieb rebey I., Harbaoui H., Hammami M., Ksouri R., Saidani Tounsi M. (2017).** Etude de la composition phénolique et des potentialités antioxydantes des extraits de fruits de *Solanum sodomaeum* au cours de deux stades de maturation, 46(3), 2517-2526.
- **Oueslati, K. (2017).** Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. (Thèse de doctorat en sciences des aliments), Université CLERMONT AUVERGNE.
- **Prance GT., Nesbitt M., (2005).** The Cultural History of Plants. Taylor and Francis Routledge: New York, 194.
- **Renouard, S. (2011).** Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (*Linum usitatissimum* et *Linum flavum*) et amélioration de l'extraction des lignanes. Orléans.

- **REY-GIRAU Gentiane, (2018).** Contribution a l'étude chimique et toxicologique de solanacées responsables d'appels au centre antipoison et de toxicovigilance de Toulouse. (Thèse en pharmacie), Université TOULOUSE III PAUL SABATIER.
- **Rohman A., Riyanto S., Yuniarti N., Saputra W.R., Utami R. et Mulatsih W. (2010).** Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* L.). *International Food Research Journal*, 17, 97-106.
- **Saloufou KI, Boyode PB, Simalou O, Eloh K, Melila M, Kpegba K, Novidzro KM, Gaslonde T, Michel S. (2017).** Identification de deux phytostérols biologiquement actifs de l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus sur* (Moraceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 11(5), 2510-2520.
- **Schweiggert, R.M., Mezger, D., Schimpf, F., Steingass, C.B., and Carle, R. (2012).** Influence of chromoplast morphology on carotenoid bioaccessibility of carrot, mango, papaya, and tomato. *Food Chem*, 135, 2736–2742
- **Shah, V.V., Patrekar, P.V., Shah, N.D. (2013).** Medicinal Plants From Solanaceae Family. *Research J. Pharm. And Tech.* 6(2),143-151.
- **Souri E., Gholamreza A., Dehmobed-Sharifabadi A.c, Atefeh N., Farsam H. (2004).** Antioxidative Activity of Sixty Plants from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* , 3, 55-59.
- **Sriwichai, W. (2016).** Déterminants de la bioaccessibilité des caroténoïdes et tocophérols de légumes feuilles : comparaison variétale et influence du procédé. (Thèse de doctorat en Sciences des aliments et Nutrition), Université de Montpellier.
- **Suarez, G. (2018).** La mesure directe de marqueurs du stress oxydant dans l'air expiré.
- **Therond, P. (2006).** Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéine, ADN) par le stress oxydant. In *Annales pharmaceutiques francaises* , 64(6), 383-389. Elsevier Masson.
- **Thibaut, G. (2016).** *La phytothérapie dynamique principe et applications.* (Doctoral dissertation), Université TOULOUSE III.
- **Thomas, D. (2016).** Les antioxydants de nos jours : définition et applications. (Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie), Université de Limoges, 29-174.

- **Tsao R. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Guelph Food Research Centre, Agriculture et Agri-Food Canada. Nutriments*, 2, 1231-1246.
- **Togola, I., Konaré, M., A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sango, R., & Dembélé, D. (2019).** Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali.
- **Touitou, P.Y. (2005).** Biochimie : structure des glucides et lipides. Faculté de médecine.
- **Tyihák E., Móricz Á M and Ott P.G. (2007).** Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography. *Phytochemistry. CRC Press.*
- **Vercauteren, J. (2012).** *Cours de pharmacognosie.*
- **Wilson, A., & Salamantian, L. (2003).** Les radicaux libres : Une question d'équilibre. *DESS IST. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines*, 1-35.
- **Yoshikawa, T., Yamamoto, Y. et Naito, Y. (2000).** Free radicals in chemistry. *Biology and Medicine*, Ed. Oica International, Londres.
- **Zazzo, J.F. (2002).** Stress oxydant au cours des états inflammatoires aigus et des états d'agression : implications pour la pratique clinique. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 268-274.
- **Zekri, N. (2017).** Étude phytochimique et Activités Biologiques des Huiles Essentielles et des Extraits des *M. pulegium* L. *M. suaveolens* (Ehrh.) et *M. spicata* (L.) du Moyen-Atlas Marocain. (Thèse de Doctorat en chimie de l'environnement), Université MOHAMMED V, Faculté des sciences Robot, p9.
- **Zhang, W., B lars Olof Björn (2009).** The affect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia FITOTE-01795*, p 12.

